

Ім'я користувача:
Сімонова Оксана

ID перевірки:
1006607150

Дата перевірки:
22.02.2021 10:36:50 EET

Тип перевірки:
Doc vs Internet

Дата звіту:
22.02.2021 10:39:25 EET

ID користувача:
100002768

Назва документа: Методичні_рек. Карантинна лаб. експертиза

Кількість сторінок: 102 Кількість слів: 24017 Кількість символів: 186560 Розмір файлу: 13.31 MB ID файлу: 1006799484

27.5% Схожість

Найбільша схожість: 9% з Інтернет-джерелом (https://fitolabif.com.ua/wp-content/uploads/2020/07/DSTU_3355-96_vidbi..)

27.5% Джерела з Інтернету

58

Сторінка 104

Пошук збігів з Бібліотекою не проводився

0% Цитат

Вилучення цитат вимкнене

Вилучення списку бібліографічних посилань вимкнене

0% Вилучень

Немає вилучених джерел

Модифікації

Виявлено модифікації тексту. Детальна інформація доступна в онлайн-звіті.

Замінені символи

30

Тема заняття:
«Перелік регульованих шкідливих організмів.
Правила техніки безпеки під час огляду підкарантинних
рослинних вантажоматеріалів» (2 години)

Мета заняття: ознайомитись із «Переліком регульованих шкідливих організмів», правилами техніки безпеки під час огляду підкарантинних рослинних вантажоматеріалів.

План:

1. Перелік регульованих шкідливих організмів.
2. Систематичне положення регульованих шкідливих організмів.
3. Правила техніки безпеки під час огляду підкарантинних рослинних вантажоматеріалів.

Теоретичні передумови:

– рослинна продукція – необроблений рослинний матеріал, включаючи зерно, а також продукти після його переробки в такому натуральному чи переробленому стані, що може спричинити розповсюдження карантинних об'єктів;

– карантинний об'єкт – вид шкідника, бур'яну, збудника хвороби рослини, який відсутній або частково (нешироко) поширений на території країни й офіційно контролюється, становить потенційну загрозу значних пошкоджень рослин чи рослинної продукції в разі занесення чи самостійного проникнення;

- підкарантинний матеріал – рослинна продукція, пакувальний матеріал, тара, шкіра і шерсть тварин, ґрунт і органічні добрива, транспортні засоби, які переміщуються з однієї країни чи зони в іншу або призначені для цього і можуть бути переносниками карантинних об'єктів та мають єдиний фітосанітарний сертифікат;

- фітосанітарний сертифікат – офіційний документ, який засвідчує фітосанітарний стан підкарантинного матеріалу відповідно до фітосанітарних правил;

- рослинне вкладення – рослинна продукція в поштових відправленнях, ручній поклажі і багажу пасажирів, яка підлягає карантинному огляду;

- карантинний огляд – процедура встановлення карантинного стану імпортованих та вітчизняних підкарантинних матеріалів;

- первинний карантинний огляд – встановлення карантинного стану імпортованих і транзитних підкарантинних матеріалів у пункті входу на ПКР, чи в пунктах їх відвантаження;

- вторинний карантинний огляд – огляд імпортованих і вітчизняних із зон особливого режиму карантинного стану підкарантинних матеріалів у пунктах їх призначення;

- пункт входу – аеропорт, морський порт, прикордонний пункт, офіційно призначені дня імпорту вантажів і пасажирських проходів;

- партія підкарантинного матеріалу – кількість однорідного матеріалу, призначеного для одночасного приймання чи відвантаження, який перевозиться на одному транспортному засобі чи зберігається в одному силосі, відсіку складу і посвідчений одним документом;
- виїмка – визначена нормативною документацією кількість підкарантинного матеріалу, взята за один прийом від однієї партії або певної її частини;
- об'єднана проба – сукупність всіх виїмок, взятих від однієї партії або певної її частини підкарантинного матеріалу;
- середня проба – визначена нормативною документацією частина об'єднаної проби підкарантинного матеріалу, яка формується для проведення експертизи;
- експертиза – дослідження середньої проби підкарантинного матеріалу для встановлення наявності і видового складу карантинних та інших шкідливих об'єктів;
- зразок-документ – види карантинних об'єктів (комах, паразитичних нематод, насіння бур'янів та ін.), мікропрепарати шкідників і збудників хвороб, пошкоджені шкідниками чи уражені хворобами частини рослин, відібрані в процесі огляду та експертизи, які засвідчують карантинний стан матеріалу (продукції);
- затримка підкарантинного матеріалу – утримання вантажу підкарантинного матеріалу під офіційною охороною чи обмеження в пересуванні з фітосанітарних причин на період знезараження;
- знезараження – офіційно санкціонована процедура знищення або вилучення живих карантинних чи інших шкідливих об'єктів (або переведення їх в нежиттєздатний стан);
- заборона – фітосанітарне розпорядження (припис), яким забороняється ввезення чи перевезення підкарантинних вантажів та карантинних об'єктів;
- вхід підкарантинних матеріалів – прохід (переїзд) підкарантинних матеріалів через пункт входу даної території;
- вхід карантинного об'єкта – прохід (проникнення) карантинного об'єкта через пункт входу чи інше місце на територію, де він відсутній чи частково поширений і офіційно контролюється.

Класифікація рослинної продукції

за складом, фізичними властивостями і призначенням:

- насінневий матеріал – насіння різних рослин, призначене для висівання;
- зерно та зернопродукти – зерно злакових і бобових культур, насіння олійних та інших культур і продукти їх переробки: борошно, висівки, дерть, крупи та ін., призначені для споживання чи технічної переробки;
- садивний матеріал – саджанці, живці, відводки, коренеплоди, бульби, цибулини, кореневища та ін., призначені для садіння, щеплення, розмноження;

- зрізані квіти, гілки, листя – живі частини рослин, призначені для складання букетів;
- свіжі фрукти й овочі – плоди плодових, ягідних, цитрусових, тропічних, горіхоплідних, овочевих, коренеплідних культур і винограду, призначені для споживання або переробки;
- сухофрукти і спеції – цілі або різані плоди й овочі (яблука, груші, чорнослив, курага, ізюм, фініки, інжир та ін.), спеції та прянощі (запашний перець, гвоздика, кориця, хмелі-сунелі та ін.) та лікарські рослини у висушеному стані;
- рослинно-волокнисті матеріали – бавовна, волокна льону, конопель, джуту та ін. після первинної обробки стебел (куделя) за способом транспортування або зберігання:
- насипна – при перевезенні в трюмах, танках морських суден, в залізничних вагонах, автомашинах або зберіганні в силосах, відсіках, буртах, в складах і зерносховищах;
 - упакована – в мішки, торбинки, ящики, пакети, зв'язки та ін.;
 - вкладена – в поштові посилки, ручну поклажу, багаж, продовольчі запаси екіпажів та пасажирів усіх видів транспорту.

Лабораторна експертиза підкарантинних матеріалів включає:

- проведення аналізів з метою виявлення шкідників, збудників хвороб рослин, насіння небезпечних бур'янів. Вона складається з етапів: ентомологічного, мікологічного, бактеріологічного, фітогельмінтологічного, вірусологічного, гербологічного;
- визначення видової приналежності виявлених шкідливих організмів;
- висновок спеціалістів лабораторії про потенційну небезпеку шкідливих організмів та запровадження фітосанітарних заходів.

Навчальне обладнання:

навчальні посібники, інструкції з техніки безпеки, фотографії шкідливих організмів.

Інструктаж з техніки безпеки: студенти повинні дотримуватись правил безпечного поводження на робочому місці.

Питання та завдання для проведення попереднього контролю знань:

1. Дайте визначення поняття «карантинний організм».
2. Які етапи карантинної лабораторної експертизи Ви знаєте?
3. З якою метою проводиться карантинна лабораторна експертиза?
4. За якими критеріями класифікують рослинну продукцію?

Завдання 1

Ознайомитись із «Переліком регульованих шкідливих організмів»

ПЕРЕЛІК

регульованих шкідливих організмів

Наказ Міністерства аграрної політики України від 29.11.2006 р. № 716

(у редакції наказу Міністерства аграрної політики
та продовольства України від 16.07.2019 р. № 397)

Зареєстровано в Міністерстві юстиції України 08.08.2019 р. за № 879/33850

А-1

Карантинні організми, відсутні в Україні

Кліщі

1. *Aculops fuchsiae* Keifer - галовий кліщ фуксії
2. *Oligonychus perditus* Pritchard & Baker - ялівцевий кліщ

Комахи

1. *Acleris gloverana* Wals. - західна чорноголова
листокрутка-брунькоїд
2. *Acleris variana* Fern. - східна чорноголова листокрутка-
брунькоїд
3. *Aeolesthes sarta* Sols. - узбецький вусач
4. *Agrilus anxius* Gory - вузькозлатка березова бронзова
5. *Agrilus planipennis* Fairmaire - вузькозлатка ясенева смарагдова
6. *Aleurocanthus spiniferus* Quaint. - шипувата чорна білокрилка
7. *Aleurocanthus woglumi* Ashby - чорна цитрусова білокрилка
8. *Amauromyza maculosa* Mall. - хризантемний листяний мінер
9. *Anoplophora chinensis* Forst. - вусач китайський
10. *Anoplophora glabripennis* Motsh. - азіатський вусач
11. *Anthonomus bisignifer* Schen. - суничний квіткоїд
12. *Anthonomus signatus* Say - суничний брунькоїд
13. *Bactrocera dorsalis* Hend. - східна фруктова муха
14. *Bactrocera zonata* Saund. - персикова фруктова муха
15. *Bemisia tabaci* Gen. - тютюнова білокрилка
16. *Cacoecimorpha pronubana* Hubn. - гвоздична листокрутка
17. *Callosobruchus chinensis* Linn. - китайський зерноїд
18. *Callosobruchus maculatus* Fabr. - чотирьохплямистий зерноїд
19. *Carposina sasakii* Matsum. - персикова плодожерка
20. *Caryedon gonagra* Fabr. - арахісовий зерноїд
21. *Ceratitis capitata* Wied. - середземноморська плодова
муха
22. *Ceratitis cosyra* Walk. - мангова фруктова муха

23. *Ceratitis rosa* Karch. - натальська фруктова муха
24. *Choristoneura conflictana* Walk. - велика тополева листокрутка
25. *Choristoneura fumiferana* Clem. - ялинова листокрутка
26. *Choristoneura occidentalis* Freem. - східна ялинова листокрутка
27. *Choristoneura rosaceana* Har. - скошенополоса листокрутка
28. *Conotrachelus nenuphar* Herb. - плодовий довгоносик
29. *Cydia inopinata* Heinrich. - маньчжурська плодожерка
30. *Cydia packardi* Zell. - вишнева плодожерка
31. *Cydia prunivora* Wals. - сливова американська плодожерка
32. *Dendrolimus sibiricus* Tschetv. - сибірський шовкопряд
33. *Diabrotica barberi* Smith & Lawr. - північний кукурудзяний жук
34. *Diabrotica speciosa* Germ. - діабротика особлива
35. *Diabrotica undecimpunctata* Man. - південний кукурудзяний жук
36. *Dinoderus bifoveolatus* Woll. - каптурник багатодіний
37. *Dryocosmus kuriphilus* Yas. - азіатський каштановий галовий пильщик
38. *Epitrix cucumeris* Har. - гарбузова блішка
39. *Epitrix papa* Orlova-Bienkowskaja - картопляна блішка
40. *Epitrix subcrinita* Le Conte - західна картопляна блішка
41. *Epitrix tuberis* Gent. - картопляна блішка
42. *Halyomorpha halys* Stal. - жовто-бурий мармуровий клоп
43. *Ips hauseri* Reit. - киргизький гірський короїд
44. *Ips subelongatus* Motsch. - великий модриновий короїд
45. *Keiferia lycopersicella* Wals. - томатна міль-мінер
46. *Lepidosaphes ussuriensis* Bork. - уссурійська комоподібна щитівка
47. *Liriomyza huidobrensis* Blanc. - південний американський мінер
48. *Liriomyza sativae* Blanc. - овочевий листяний мінер
49. *Liriomyza trifolii* Burg. - конюшинний або хризантемний мінер
50. *Maconellicoccus hirsutus* Green - жорстковолосий червець
51. *Malacosoma americanum* Fabr. - східно-американський похідний шовкопряд
52. *Malacosoma disstria* Hub. - лісовий похідний шовкопряд
53. *Malacosoma parallella* Staud. - гірський кільчастий шовкопряд
54. *Margarodes vitis* Philippi - виноградний червець
55. *Melanotus communis* Gyll. - ковалик загальний
56. *Monochamus alternatus* Hope - вусач мінливий
57. *Monochamus carolinensis* Oliv. - вусач каролінський
58. *Monochamus marmorator* Kirb. - вусач мармуровий

59. <i>Monochamus mutator</i> Le Conte	- вусач змінний
60. <i>Monochamus nitens</i> Bat.	- вусач сяючий
61. <i>Monochamus notatus</i> Drury	- вусач помічений
62. <i>Monochamus obtusus</i> Cas.	- вусач тупий
63. <i>Monochamus scutellatus</i> Say	- вусач щитовий
64. <i>Monochamus titillator</i> Fabr.	- вусач дрібний
65. <i>Naupactus leucoloma</i> Boh.	- білокаймистий жук
66. <i>Numonia pyrivorella</i> Mats.	- грушева вогнівка
67. <i>Opogona sacchari</i> Boj.	- бананова міль
68. <i>Pissodes nemorensis</i> Germ.	- смолівка кедрова
69. <i>Pissodes strobi</i> Peck.	- смолівка веймутової сосни
70. <i>Pissodes terminalis</i> Hop.	- смолівка верхівок сосни
71. <i>Popillia japonica</i> Newm.	- японський жук
72. <i>Premnotrypes latithorax</i> Pier.	- широкогрудий андійський картопляний довгоносик
73. <i>Premnotrypes suturicallus</i> Kusch.	- мозолистий картопляний ДОВГОНОСИК
74. <i>Premnotrypes vorax</i> Hust.	- ненажерливий картопляний ДОВГОНОСИК
75. <i>Rhagoletis cingulata</i> Loew.	- східна вишнева муха
76. <i>Rhagoletis fausta</i> Osten Sacken.	- темнокрила вишнева муха
77. <i>Rhagoletis indifferens</i> Cur.	- західна вишнева муха
78. <i>Rhagoletis mendax</i> Curran.	- чорнична плодова муха
79. <i>Rhagoletis pomonella</i> Walsh.	- яблунова муха
80. <i>Rhizococcus hibisci</i> Kaw. & Tak.	- кореневий червець
81. <i>Saperda candida</i> Fabr.	- скрипун яблуневий КРУГЛОГОЛОВИЙ
82. <i>Scirtothrips aurantii</i> Faure.	- південноафриканський цитрусовий трипс
83. <i>Scirtothrips citri</i> Moul.	- північний каліфорнійський цитрусовий трипс
84. <i>Scirtothrips dorsalis</i> Hood.	- чилійський жовтий чайний трипс
85. <i>Scolytus morawitzi</i> Sem.	- заболонник Моравіца
86. <i>Sinoxylon conigerum</i> Gers.	- каптурник зубчастий
87. <i>Sirex ermak</i> Sem	- чорно-блакитний рогохвіст
88. <i>Spodoptera eridania</i> Cram.	- південна совка
89. <i>Spodoptera frugiperda</i> Smith	- кукурудзяна листяна совка
90. <i>Spodoptera littoralis</i> Boisd.	- єгипетська бавовникова совка
91. <i>Spodoptera litura</i> Fabr.	- азіатська бавовникова совка
92. <i>Tecia solanivora</i> Pov.	- гватемальська картопляна міль

93. *Tetropium gracilicorne* Reit. - тонковусий вусач
94. *Thrips palmi* Karn. - трипс Пальмі
95. *Toxoptera citricida* Kirk. - тропічна цитрусова попелиця
96. *Trogoderma granarium* Ev. - капровий жук
97. *Unaspis citri* Comst. - апельсинова щитівка
98. *Xylotrechus altaicus* Geb. - алтайський модриновий вусач
99. *Xylotrechus namanganensis* Heyd. - наманганський вусач
100. *Zabrotes subfasciatus* Boh. - бразильська бобова зернівка

Хвороби рослин

Грибні хвороби

1. *Apiosporina morbosa* (Schweinitz) von Arx - чорний рак гілок
2. *Ceratocystis fagacearum* (Bretz) Hunt - вілт (в'янення) дубу
3. *Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halsted f.sp. *platani* Walter - рак, синява деревини платану
4. *Chrysomyxa arctostaphyli* Dietel - жовта іржа відьмініх мітел
ЯЛИНИ
5. *Cronartium coleosporioides* J.C. Arthur - ріжкоподібна іржа
6. *Cronartium comandrae* Peck - іржа командри
7. *Cronartium comptoniae* J.C. Arthur - стовпчаста іржа сосни
8. *Cronartium fusiforme* Hed. & Hunt ex Cum. - веретеноподібна іржа
9. *Cronartium himalayense* Bagchee - пухироподібна іржа сосни
10. *Cronartium kamtschaticum* Jorstad - іржа японської білої сосни
11. *Cronartium quercuum* (Berkeley) Miyabe ex Shirai - ріжкоподібна іржа букових
12. *Didymella ligulicola* (K. F. Baker, Dimock & L.H. Davis) von Arx. - аскохітоз хризантем
13. *Endocronartium harknessii* (J.P. Moore) Y. Hiratsuka - західна галоподібна іржа
14. *Gymnosporangium asiaticum* Miyabe ex Yamada - іржа груші і ялівцю
15. *Gymnosporangium clavipes* (Cooke & Peck) Cooke & Peck - бурувата іржа айви
16. *Gymnosporangium globosum* (Farlow) Farlow - іржа американського глоду
17. *Gymnosporangium juniperi-virginianae* Schwein - іржа яблуні і кедру
18. *Gymnosporangium yamadae* Miyabe ex Yamada - іржа яблуні і ялівцю

19. *Melampsora farlowii* (J.C. Arthur) J.J. Davis - іржа тсуґи
20. *Melampsora medusae* Thymen - іржа тополі
21. *Monilinia fructicola* (Winter) Honey - плодова гниль
22. *Mycosphaerella dearnessii* M.E. Barr - коричневий плямистий опік хвої
23. *Mycosphaerella gibsonii* H.C. Evans - коричневий опік хвої сосни
24. *Mycosphaerella laricis-leptolepidis* K. Ito, K. Sato & M. Ota - септоріоз хвої японської
МОДРИНИ
25. *Mycosphaerella populorum* G.E. Thompson - септоріоз, плямистість листя,
рак, опік тополі
26. *Ophiostoma wageneri* (Goheen & Cobb) Harrington - почорніння коріння
27. *Phialophora cinerescens* (Wollenweber) van Beyma - фіалофорне в'янення гвоздики
28. *Phellinus weirii* (Murrill) R.L. Gilbertson - жовта кільцева гниль
29. *Phoma andigena* Turkensteen - чорний опік, фомозна
плямистість листя картоплі
30. *Phyllosticta solitaria* Ellis & Everhart - плямистість яблуні
31. *Phymatotrichopsis omnivora* (Duggar) Hennebert - техаська коренева гниль
32. *Phytophthora fragariae* Hickman - фітофтороз коренів суниці
33. *Puccinia horiana* P. Hennings - біла іржа хризантем
34. *Stenocarpella macrospora* (Earle) Sutton - диплодіоз кукурудзи
35. *Stenocarpella maydis* (Berkeley) Sutton - диплодіоз кукурудзи
36. *Thecaphora solani* (Thirumulachar & O'Brien) Mordue - сажка картоплі
37. *Tilletia indica* Mitra - індійська сажка пшениці

Бактеріальні хвороби

1. *Acidovorax citrulli* (Schaad et al.) - бактеріальна плямистість
гарбузових
2. *Burkholderia caryophylli* (Burkholder) Yabuuchi et al. - бактеріальний вілт гвоздики
3. *Erwinia stewartii* (Smith) Dye., *Pantoea stewartii*, *Xanthomonas stewartii* Dowson - бактеріальне в'янення кукурудзи
4. *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi - бура гниль картоплі
5. *Xanthomonas campestris* pv. *hyacinthi* (Wakker) Dowson. - жовта хвороба гіацинтів

6. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Ishyama) Swings et al. - бактеріальний опік рису
7. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (Fang et al.) Swings et al. - бактеріальна строкатість рису
8. *Xylella fastidiosa* Wells et al. - бактеріоз винограду (хвороба Пірса)
9. *Xylophilus ampelinus* (Panagopoulos) Willems et al. - бактеріальне в'янення винограду

Вірусні хвороби

1. Cherry little cherry closterovirus (non-European) - кластеровірус дрібноплідності вишні (черешні)
2. Cherry rasp leaf nepovirus - неповірус рашпілеподібності листя черешні
3. *Chrysanthemum stem necrosis tospovirus* - тосповірус некрозу стовбура хризантем
4. *Chrysanthemum stunt pospoviroid* - віроїд уповільнення росту хризантем
5. *Impatiens necrotic spot tospovirus* - тосповірус некротичної плямистості
6. Peach rosette mosaic nepovirus - мозаїка розеток персика
7. Potato Andean mottle comovirus - комовірус андійської плямистості картоплі
8. Potato black ringspot nepovirus - вірусна чорна кільцева плямистість картоплі
9. Potato yellow dwarf nucleorhabdovirus - рабдовірус жовтої карликовості картоплі
10. Potato yellow vein crinivirus - вірус пожовтіння жилок листя картоплі
11. Raspberry ringspot nepovirus - неповірус кільцевої плямистості малини
12. Strawberry latent C virus - латентна С-вірусна хвороба суниці
13. Tobacco ringspot nepovirus - неповірус кільцевої плямистості тютюну
14. Tomato ringspot nepovirus - неповірус кільцевої плямистості томатів

Нематоди

1. *Aphelenchoides besseyi* Christie - рисова нематода
2. *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner and Buhner) Nickle - соснова стовбурова нематода
3. *Globodera pallida* (Stone) Behrens - бліда картопляна нематода

4. *Heterodera glycines* Ichinohe - соєва нематода
5. *Meloidogyne chitwoodi* Golden, O'Bannon, Santo & Finley - колумбійська галова нематода
6. *Meloidogyne enterolobii* Yang & Eisenback - ентолобіумова галова нематода
7. *Meloidogyne fallax* Karssen - несправжня колумбійська нематода
8. *Nacobbus aberrans* (Thorne) Thorne & Allen - несправжня галова нематода
9. *Radopholus similis* (Cobb) Thorne - бананова свердлова нематода

Бур'яни

1. *Ambrosia psilostachya* D.C. - амброзія багаторічна
2. *Ambrosia trifida* L. - амброзія трироздільна
3. *Bidens pilosa* L. - череда волосиста
4. *Bidens bipinnata* L. - череда двічіпірчаста
5. *Helianthus californicus* D.C. - соняшник каліфорнійський
6. *Helianthus ciliaris* D.C. - соняшник війчастий
7. *Ipomea hederaseae* L. - іпомея пліщеподібна
8. *Ipomea lacunosa* L. - іпомея ямчаста
9. *Iva axillaris* Pursh. - бузинник пазушний
10. *Polygonum pensylvanicum* L. - гірчак пенсільванський
11. *Raimania laciniata* Hill. - райманія розсічена
12. *Solanum carolinense* L. - паслін каролінський
13. *Solanum elaeagnifolium* Cav. - паслін лінійнолистий
14. *Solanum triflorum* Nutt. - паслін тріквітковий
15. *Striga* spp. - стриґи.

A-2

Карантинні організми, обмежено поширені в Україні

Комахи

1. *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte - західний кукурудзяний жук
2. *Frankliniella occidentalis* Perg. - західний квітковий трипс
3. *Hyphantria cunea* Drury - американський білий метелик
4. *Phthorimaea operculella* Zell. - картопляна міль
5. *Tuta absoluta* Meyr. - південноамериканська томатна міль

Хвороби рослин

Грибні хвороби

1. *Mycosphaerella linicola* Naumov - пасмо льону

2. *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival - рак картоплі

Бактеріальні хвороби

1. *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow - бактеріальний опік плодівих

Вірусні хвороби

1. Beet necrotic yellow vein furovirus - вірусне некротичне пожовтіння жилоч цукрового буряку (ризоманія)
2. Plum pox potyvirus - потівірус шарки сливи (віспа)

Нематооди

1. *Globodera rostochiensis* (Wollenweber) Behrens - золотиста картопляна нематода

Бур'яни

1. *Acroptilon repens* L. - гірчак повзучий (степовий)
2. *Ambrosia artemisiifolia* L. - амброзія полинолиста
3. *Cenchrus longispinus* Fernald - ценхрус довгоголковий
4. *Cuscuta* spp. - повітиці
5. *Sorghum halepense* (L.) Pers. - сорго алепське (гумай)
6. *Solanum rostratum* Dunal. - паслін колючий.

Регульовані некарантинні шкідливі організми

Комахи

1. *Lopholeucaspis japonica* Cock. - японська паличкоподібна щитівка
2. *Quadraspidiotus perniciosus* Comst. - каліфорнійська щитівка
3. *Viteus vitifolii* Fitch. - виноградна філоксера

Хвороби рослин

Бактеріальні хвороби

1. *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicum* (Spieckermann & Kotthoff) - кільцева гниль картоплі
2. *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (Smith) Vauterin et al. - бактеріальна плямистість листя кісточкових
3. *Xanthomonas vesicatoria* (ex Doidge) Vauterin et al. - чорна бактеріальна плямистість пасльонових

Вірусні хвороби

4. Potato spindle tuber pospiviroid - віроїд веретеноподібності бульб картоплі
5. Tomato spotted wilt tospovirus - вірус плямистості томату (вілт)

Нематооди

1. Ditylenchus destructor Thorne - стеблова нематода картоплі
2. Ditylenchus dipsaci Filipjev - стеблова нематода

Бур'яни

1. Ailanthus altissima (Mill.) Swingle - айлант найвищий (китайський ясен).

Завдання 2**Провести аналіз систематичного положення регульованих шкідливих організмів**

Проаналізувати систематичне положення шкідливих об'єктів із «Переліку регульованих шкідливих організмів»: ряди комах (прямокрилі, рівнокрилі, напівтвердокрилі, торчочокрилі, твердокрилі, лускокрилі, двокрилі, перетинчастокрилі), відділи хвороб (аскомікоти, базидіомікоти, хітридіомікоти, зигомікоти, оомікоти), класи бур'янів (однодольні, дводольні), заповнити таблиці.

Таблиця 1

Систематичне положення комах із «Переліку регульованих шкідливих організмів»

№ з/п	Назва виду	Назва ряду
-------	------------	------------

Таблиця 2

Систематичне положення хвороб із «Переліку регульованих шкідливих організмів»

№ з/п	Назва виду	Назва відділу
-------	------------	---------------

Таблиця 3

Систематичне положення бур'янів із «Переліку регульованих шкідливих організмів»

№ з/п	Назва виду	Назва класу
-------	------------	-------------

Завдання 3

Ознайомитись із правилами техніки безпеки під час огляду підкарантинних рослинних вантажоматеріалів

Роботи з відбору виїмок, складання проб, виділення середньої проби, огляду та експертизи підкарантинних матеріалів повинні виконуватись з використанням спецодягу, засобів індивідуального захисту і дотриманням усіх вимог «Інструкції з техніки безпеки під час огляду підкарантинних рослинних вантажоматеріалів».

Під час проведення ентомологічної, мікологічної, бактеріологічної, гербологічної експертизи рослинного підкарантинного матеріалу необхідно використовувати спецодяг, засоби індивідуального захисту.

Необхідно дотримуватися правил безпеки при роботі з матеріалами, хімічними реактивами та обладнанням згідно відповідних інструкцій.

Електрообладнання (холодильники, термостати, сушильні шафи тощо) повинно бути заземлено, роботи з ним виконуються відповідно до діючих інструкцій з техніки безпеки.

Роботи з рентгенодіагностики повинні виконуватись особами, які пройшли спеціальне навчання і мають допуск відповідних органів санітарного контролю.

Роботи з хімічними сполуками (розчини солей, фотореактиви тощо) і особливо леткими наркотичними речовинами (ефір медичний, хлороформ та ін.) проводяться у витяжній шафі чи в добре вентильованому приміщенні відповідно до чинних інструкцій з техніки безпеки під час роботи з ними.

Контрольні питання:

1. Які групи шкідливих організмів входять до «Переліку регульованих шкідливих організмів»?
2. На які частини поділяється «Перелік регульованих шкідливих організмів»?
3. Яких правил техніки безпеки необхідно дотримуватись під час огляду підкарантинних рослинних вантажоматеріалів?
4. Правила техніки безпеки при роботі з лабораторним обладнанням, реактивами.

Критерії оцінювання:

нарахування балів (до 2) здійснюється диференційовано в результаті відповіді на контрольні питання за підсумками виконання практичних завдань.

Рекомендована література

Базова

1. Сикало О. О., Мовчан О. М., Устінов І. Д. Карантинні шкідливі організми. Ч. 2. Київ, 2005. 5–10 с.
2. Руководство по досмотру и экспертизе растительных и других подкарантинных материалов / под ред. А. А. Варшалович. М., 1972. 175 с.

3. Станкевич С. В. Методи експертизи підкарантинних матеріалів: навч. посібник. Харків, 2017. 55–59 с.

4. Ілюстрований довідник регульованих шкідливих організмів в Україні / Башинська О. В., Константінова Н. А., Пилипенко Л. А. та ін. К.: Урожай, 2009. 249 с.

Допоміжна

1. Методическое руководство по лабораторной экспертизе растительных материалов и почвы / под ред. Т. И. Роговая. М., 1960. 78–80 с.

Тема заняття:

16

«Методи відбору проб у процесі карантинного огляду та експертизи» (2 години)

Мета заняття: ознайомитись із методами відбору об'єднаної та середньої проби в процесі карантинного огляду та експертизи, порядком оформлення супровідних документів відібраних проб, провести відбір середньої проби представленої рослинної сільськогосподарської продукції.

План:

1. Правила складання об'єднаної проби.
2. Правила виділення середніх проб.
3. Порядок проведення карантинної експертизи середньої проби.
4. Проведення відбору середньої проби рослинної сільськогосподарської продукції.

Теоретичні передумови:

Залежно від класифікаційних угруповань рослинної продукції відбір виїмок у необхідній для об'єднаної проби кількості проводять державні інспектори ПКР (пункту карантину рослин) в пункті входу вантажу до його митного оформлення під час первинного огляду та державні інспектори або власники підкарантинної продукції в місцях її зберігання, переробки чи інших місцях під час вторинного огляду, за схемою (рис. 1).

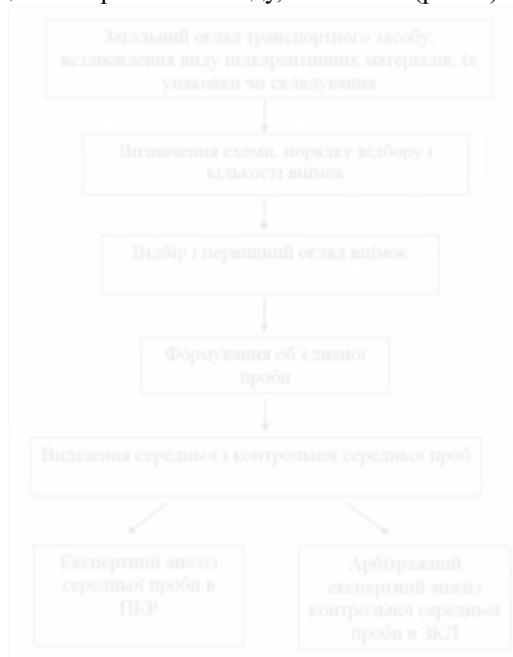


Рис. 1. Схема відбору та аналізу проб підкарантинних матеріалів

Навчальне обладнання: дерев'яні планки зі скошеним ребром, клейонка, папір, пакети, пробірки, насіння та зерно різних сільськогосподарських культур, крупа, бінокляр, лупа, ваги, навчальні посібники, фотографії шкідливих організмів.

Інструктаж з техніки безпеки: студенти повинні дотримуватись правил безпечного поведіння на робочому місці.

Питання та завдання для проведення попереднього контролю знань:

1. Яка існує класифікація рослинної продукції?
2. Як проводять відбір проб насінневого матеріалу, що перевозиться чи зберігається упакованим?
3. За якою методикою проводять відбір проб насінневого матеріалу, що перевозиться чи зберігається насипом?
4. Як відбирають проби зерна і зернопродуктів, садивного матеріалу, зрізаних квітів, свіжих фруктів та овочів?

Завдання 1

Ознайомитись із правилами складання об'єднаної проби

Кожну виїмку партії рослинної продукції відбирають в окремий мішечок, пакет, банку і безпосередньо під час взяття оцінюють на однорідність матеріалу.

У разі однорідності підкарантинного матеріалу виїмки по черзі висипають на чисту гладеньку поверхню (брзент, клейонку, плівку, папір, фанеру та ін.), переглядають і вибирають у пробірки або целофанові (плівкові) мішечки виявлених шкідників (живих і мертвих), насіння бур'янів, уражені хворобами чи пошкоджені шкідниками зернини, плоди, живці та ін. Потім усі виїмки об'єднують в одну пробу, з якої виділяють дві рівноцінні за розмірами середні проби, з яких одна підлягає експертному аналізу на ПКР, а друга – контрольна, для арбітражної експертизи в обласній фітосанітарній лабораторії. До проби додають заповнену етикетку (табл. 1) та відібраних в пробірки або мішечки під час огляду виїмок шкідників, насіння бур'янів, хворі та пошкоджені зернини, плоди, рослини та ін. для карантинної експертизи в лабораторії.

У разі виявлення неоднорідності підкарантинного матеріалу під час взяття виїмок партію його поділяють на однорідні частини, відповідно до яких об'єднують виїмки в окремі проби. Якщо неоднорідність матеріалу в партії виявлено після відбору виїмок, то відбір проводять заново, уважно оглядаючи мішки для поділу партії на однорідні частини.

Таблиця 1

Етикетка до проби, відібраної для карантинної експертизи

1. Країна походження рослинного матеріалу, дата надходження на пункт

(вказати назву)

2. Маса партії _____

3. Кількість місць у партії _____

4. Сільськогосподарська продукція _____

5. Пункт та організація призначення _____

6. Маса (чиста) проби _____

7. Дата і місце відбору проби _____

Пробу для експертизи відібрав _____

(посада, прізвище, ім'я, по батькові)

9. Додаткові відомості _____

« ____ » _____ р.

Підпис _____

Завдання 2**Ознайомитись із правилами виділення середніх проб**

Із об'єднаної проби виділяють дві середні проби розміром, зазначеним для кожного виду продукції в табл. 2.

Таблиця 2

Розмір середніх проб рослинної сільськогосподарської продукції у процесі карантинного огляду та експертизи

Назва сільськогосподарської продукції	Розмір середньої проби
1. Зернові (насіння і зерно)	
Кукурудза: у зерні	1500 г
у качанах	25 шт.
Пшениця, жито, ячмінь, овес, рис	1000 г
Просо, чумиза, гречка	500 г
Могар, сорго, просо африканське	250 г
2. Бобові (насіння і зерно)	
Боби кінські	2000 г
Горох, квасоля, нут, сочевиця, чина, маш, соя, арахіс	1000 г
3. Трави злакові і бобові (насіння)	
Вика, люпин, пелюшка, еспарцет	1000 г
Буркун, конюшина, люцерна, серадела, перелет, суданська трава	250 г

Назва сільськогосподарської продукції	Розмір середньої проби
Стоколос, чина лісова	100 г
Грястиця збірна, житняк, костриця, райграс, тимофіївка	150 г
Польовиця, тонконіг	30 г
4. Овочево-баштанні культури та кормові коренеплоди (насіння)	
Буряки столові, цукрові і кормові	800 г
Кавуни, кабачки, патисони, гарбузи	500 г
Огірки, дині	250 г
Артишок, шпинат, цибуля-чорнушка	100 г
Цибуля-сівок, часник	1500 г
Кріп, петрушка, селера, пастернак, ревінь, щавель, кмин, морква, помідори, капуста, редька, редиска, салат та ін.	30 г
5. Квіткові культури (насіння)	
Люпин, настурція, горошок запашний, аспарагус, гарбузи фігурні, пальма	500 г
Крупнонасінні – нагідки, немофіла, цикламен, жоржини однорічні	50 г
Середньонасінні – айстра, чорнобривці, агератум, алісум, гвоздика, геліотроп, кларкія	15 г
Дрібнонасінні – петунія, бегонія, лобелія, тютюн запашний, портулак	1 г
Матеріал для букетів	
Квіти, гілки, листя зрізані	15 шт.
6. Деревні та чагарникові породи (насіння)	
Крупнонасінні – абрикос, слива, алича, дуб, граб, кедр	1000 г
Середньонасінні – яблуня, груша, айва, горобина, жимолость, бересклет, клен, сосна, ялина	100 г
Дрібнонасінні – тополя, смородина, шовковиця, туя, береза	20 г
Садивний матеріал	
Саджанці, відводки, живці	15 шт.
Цибулини, бульби, бульбоцибулини, кореневища	25-30 шт.
7. Олійні, технічні культури (насіння)	
Рицина, арахіс-боби	1500 г
Соняшник, бавовник, какао-боби, кофе-зерно	1000 г
Коноплі, льон, сафлор	500 г
Бамія, канатник	200 г
Гірчиця, кунжут, лялеманція, перила, ріпак, рижій	100 г
Гваюла, кендир	40 г

Назва сільськогосподарської продукції	Розмір середньої проби
Хміль, цикорій	50 г
Мак, тютюн	20 г
8. Свіжі фрукти й овочі	
Цитрусові й тропічні крупноплідні – ананаси, грейпфрути, гранати, кокосові горіхи, банани	15 шт.
Крупноплідні – айва, груші, яблука, персики, нектарини, абрикоси, сливи	15 шт.
Середньоплідні – апельсини, лимони, хурма, ківі, мандарини, фейхоа, інжир	50 шт.
Дрібноплідні – абрикоси, алича, сливи, черешні, вишні, кизил, ягоди (суниці, полуниці, смородина, агрус та ін.)	2500 г
Виноград	15 грон
Волоські горіхи, фундук, ліщина, мигдаль	1000 г
Баклажани, помідори, перець, огірки	125 шт.
Баштанні – кавуни, дині, кабачки, гарбузи	25 шт.
Коренеплоди – картопля, морква та ін.	30 шт.
9. Продукти запасу (продовольчі, фуражні)	
Крупи – рисові, гречані, пшеничні, перлові, вівсяні, пшоно, макаронні вироби та ін.	1500 г
Борошно	1000 г
Дерть, висівки, комбікорм	1500 г
Сухофрукти та сушені овочі	1500 г
Спеції, прянощі (перець чорний, кориця, імбир, хмелі-сунелі та ін.), лікарські рослини сушені	500 г
10. Інші матеріали	
Рослинно-волокнисті матеріали – бавовна-сирець, волокна (куделя) льону, конопель та ін.	1000 г
Змітки зі складів і транспортних засобів, з картоплі і коренеплодів, ґрунт, біогумус, органічні добрива	100 см ³ (г)

Середні проби сипких матеріалів (зерно, зернопродукти, ґрунт та ін.) виділяють із об'єднаної проби, висипавши її на стіл і рівномірно розгорнувши у формі квадрата.

За допомогою двох спеціальних дерев'яних планок зі скошеним ребром матеріал перемішують, захоплюючи його з двох боків і одночасно зсипаючи на середину. Після декількох перемішувань утворений валик захоплюють планками з протилежних кінців і зсипають матеріал до середини. Таким чином, пробу перемішують тричі, після чого знову вирівнюють у формі

квадрата і за допомогою планок по діагоналях ділять на чотири трикутники. Два протилежні трикутники зерна чи іншого матеріалу вилучають, а ті, що залишилися, збирають до купи, вирівнюють і знову ділять на чотири трикутники, з яких два підуть для наступного поділу, а два вилучають.

Поділ ведуть доти, доки не буде отримано два трикутники матеріалу масою, необхідною для середньої проби (табл. 2) кожен. Один з них становитиме середню пробу для експертного аналізу в лабораторії ППКР, а другий – контрольну середню пробу для можливої арбітражної експертизи в обласній фітосанітарній лабораторії.

Середні проби плодів, овочів, садивного матеріалу і зрізаних квітів складають з підозрілих на ураження хворобами та пошкоджених шкідниками екземплярів. При цьому розмір середньої проби не повинен бути меншим від зазначеного в табл. 2.

У середні проби картоплі, цибулин, коренеплодів включають і ґрунт, що обсіпався з них під час виділення середньої проби, який аналізують разом із спеціально відібраною пробною ґрунту згідно з методикою відбору проб садивного матеріалу.

Залишки об'єднаної проби після виділення середньої проби повертають у партію рослинної продукції, звідки вона була взята.

Карантинну експертизу однієї середньої проби провадять державні інспектори безпосередньо на ПКР у пункті первинного огляду продукції. Контрольну пробу в щільно упакованій тарі у випадку виявлення зараження підкарантинними об'єктами разом із зразком-документом і етикеткою направляють у відповідну обласну фітосанітарну лабораторію для арбітражної експертизи.

Результати експертизи в місці її проведення оформляються відповідним протоколом (табл. 3) і складається акт фітосанітарного контролю матеріалів (табл. 4).

Таблиця 3

Форма протоколу експертизи

Штамп місця прибуття
й експертизи (ПКР)

ПРОТОКОЛ ЕКСПЕРТИЗИ № _____

підкарантинного матеріалу від « _____ » _____ р.

№ супровідного документа	Дата надходження	Назва матеріалу, кількість проб	Походження і звідки прибув матеріал	Пункт призначення

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРТИЗИ

Виявлено об'єкти:

1. Ентомологічні _____
2. Фітопатологічні _____
3. Бактерологічні _____
4. Гельмінтологічні _____
5. Ботанічні _____
6. Вірусні _____

Дата і пункт відправлення матеріалу після експертизи _____

Зав. лабораторії _____
(Особистий підпис) (Розшифрування підпису)

Експерти _____
(Особистий підпис) (Розшифрування підпису)

Таблиця 4

Форма акта фітосанітарного контролю матеріалів, транспортних засобів та відбору проб для карантинної експертизи**МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ ТА ПРОДОВОЛЬСТВА
УКРАЇНИ**Головне управління Держпродспоживслужби в
Херсонській області
Управління фітосанітарної безпеки

АКТ № _____

фітосанітарного контролю матеріалів, транспортних засобів та відбору проб для карантинної експертизи

від _____ р.

Мною, державним інспектором з карантину рослин _____ на підставі Закону України «Про карантин рослин» проведено огляд підкарантинних матеріалів і транспортних засобів та відбір проб для карантинної експертизи.

Назва продукції _____

За товаротранспортною накладною _____

(вказати номер, дату)

Маса партії _____

Кількість місць _____

Країна походження _____

Карантинний дозвіл на імпорт або транзит № _____ від _____

Фітосанітарний сертифікат № _____ від _____

виданий на адресу _____

Місце зберігання _____

Для карантинної експертизи відібрано такі проби: _____

у кількості _____ шт., масою _____ кг.

У ґрунті, тарі, транспорті, продуктах харчування виявлено карантинні та інші живі шкідливі організми _____

Встановлено такі заходи _____

Термін проведення заходів _____

Акт складено в присутності власника (представника) підкарантинних матеріалів (транспортної організації) _____

Державний інспектор

Представник

Завдання 3

24

Ознайомитись із порядком проведення карантинної експертизи середньої проби

Карантинну експертизу однієї середньої проби провадять державні інспектори безпосередньо на ПКР і пунктах первинного огляду підкарантинної продукції. Контрольну середню пробу в щільно упакованій тарі тримають у холодильнику.

Під час огляду виїмок та експертного візуального аналізу середньої проби інспектор карантину рослин вибирає всіх наявних шкідників, уражені хворобами насінини, плоди, частини рослин та ін. в тару, що щільно закривається чи в консервувальні рідини, встановлює їх стан (живі чи мертві) і видуవు принадлежність.

За результатами експертизи оформляється протокол у формі журнального запису і (чи) окремого документа (табл. 3) і складається акт фітосанітарного контролю-матеріалів (табл. 4).

У разі відсутності зараженості карантинними об'єктами акт фітосанітарного контролю видається власникові чи транспортному агентувантажу, чи на супровідних документах проставляється спеціальний штамп дозволу входу підкарантинних матеріалів на територію країни або у певну її зону.

У разі виявлення зараженості вантажу (підкарантинного матеріалу) живими карантинними чи іншими шкідливими об'єктами здійснюється затримка вантажу на час, необхідний для знезараження доступними засобами чи оформлення повернення вантажу відправнику, про що негайно повідомляється Головне управління Держпродспоживслужби області.

Виявлені в процесі огляду проб та експертизи середньої проби шкідники, зерна бур'янів, уражені хворобами або пошкоджені рослинні органи чи цілі рослини, виготовлені з них мікропрепарати та інше, залиті консервувальними рідинами чи оброблені в інший спосіб, мітять і зберігають як зразок-документ.

Середня проба, в разі виявлення зараженості її карантинними об'єктами, знищується, а контрольна середня проба разом з етикеткою (табл. 1) і зразком-документом доставляється в обласну фітосанітарну лабораторію для арбітражного підтвердження фахівцями карантинного зараження матеріалів.

Середні проби від партій насіння, зерна і продуктів його переробки, інших сипких рослинних матеріалів (сухофрукти, лікарські, спеції, рослинно-волоконисті та ін.), у яких були виявлені карантинні об'єкти, знезаражують і знищують. Зразки-документи карантинних об'єктів у законсервованому нежиттєздатному стані зберігають як колекційний матеріал.

Середні проби від партій насіння, продовольчої та зернофуражної продукції, у яких карантинних об'єктів не виявлено, повертають у партію рослинної продукції, звідки вони були взяті.

Середні проби від продукції, яка швидко псується (плоди, ягоди, овочі, картопля та ін.) і зберіганню не підлягає, у разі виявлення в них карантинних

об'єктів знищуються, а зразки-документи від них зберігаються в законсервованому стані як колекційний матеріал.

Середні проби від партій садивного матеріалу і зрізаних квітів у разі виявлення карантинних об'єктів знищуються, а в разі не виявлення карантинних об'єктів – повертаються в партію вантажу, а в сумнівних випадках – передаються в карантинні розсадники для вирощування і нагляду (спостережень) протягом трьох років.

Зразки-документи повинні зберігатись в окремих добре вентильованих кімнатах у спеціальних шафах для колекцій.

Завдання 4

Провести відбір середньої проби рослинної сільськогосподарської продукції

Провести відбір середньої проби рослинної сільськогосподарської продукції (зерна та насіння різних культур, крупи), оформити етикетку, провести її пакування згідно методики.

Контрольні питання:

1. За якою методикою проводять складання об'єднаної проби та виділення середніх проб?
2. Яких правил слід дотримуватись при відборі середньої проби?
3. Яких правил слід дотримуватись під час пакування та оформлення етикетки середньої проби?
4. Які документи оформляють за результатами карантинної експертизи середньої проби?

Критерії оцінювання:

нарахування балів (до 2) здійснюється диференційовано в результаті відповіді на контрольні питання за підсумками виконання практичних завдань.

Рекомендована література

Базова

1. Сикало О. О., Мовчан О. М., Устінов І. Д. Карантинні шкідливі організми. Ч. 2. Київ, 2005. 5–10 с.
2. Руководство по досмотру и экспертизе растительных и других подкарантинных материалов / под ред. А. А. Варшалович. М., 1972. 175 с.
3. Станкевич С. В. Методи експертизи підкарантинних матеріалів: навч. посібник. Харків, 2017. 55–59 с.
4. Ілюстрований довідник регульованих шкідливих організмів в Україні / Башинська О. В., Константінова Н. А., Пилипенко Л. А. та ін. К.: Урожай, 2009. 249 с.

Допоміжна

1. Методическое руководство по лабораторной экспертизе растительных материалов и почвы / под ред. Т. И. Роговая. М., 1960. 78–80 с.

Тема заняття:

«Методи ентомологічної експертизи» (2 години)

27

Мета заняття: ознайомитись із правилами і вимогами відбору, фіксації зразків, методами ентомологічної експертизи, провести ентомологічну експертизу представленого зразка.

План:

1. Правила і вимоги відбору, фіксації зразків, проведення ентомологічної експертизи.
2. Характеристика методів ентомологічної експертизи.
3. Ентомологічна експертиза представленого зразка.

Теоретичні передумови:

Комахи (*Insecta*) – найчисельніший на Землі клас безхребетних членистоногих тварин. За кількістю видів комахи переважають всі інші групи тварин разом узяті. Всього відомо близько 2 млн. видів з широкою екологічною валентністю, значною адаптивністю, здатністю займати різноманітні екологічні ніші. Висока життєздатність комах зумовлена їх значною плідністю, спрощеною організацією.

Комахи – це переважно мешканці суходолу з чітким поділом їх тіла на голову, груди, черевце, ноги в кількості трьох пар розташовані на грудному відділі. Дихання здійснюється за допомогою трахейної системи або всією поверхнею тіла (шкіряне). В останньому випадку комахи мешкають за вологих умов середовища (грунт, гниль тощо). Вищі комахи з розвинутою трахейною системою з міцними покривами тіла можуть мешкати в сухих середовищах. Індивідуальний розвиток комах або онтогенез поділяють на два періоди – розвиток усередині яйця (ембріональний) і розвиток після виводження з яйця (постембріональний).

Мета ентомологічної експертизи – виявити зараженість зразків карантинними чи іншими небезпечними шкідниками. З впевненістю не можна діагностувати зараженість матеріалу за пошкодженнями, тому слід намагатися знайти самого шкідника.

Принципи ентомологічної експертизи:

- ознайомлення з документацією походження рослинного матеріалу з метою визначення ймовірного його зараження карантинними шкідниками;
- встановлення ознак зараження певними стадіями шкідника рослинної продукції;
- врахування пори року та кліматичних особливостей країни-імпортера, походження рослинного вантажу з метою визначення можливої стадії розвитку в період його надходження;
- огляд підкарантинних рослинних матеріалів та пакувального матеріалу і тари.

Експертиза повинна проводитись таким чином, щоб не допустити пропусків неперевереного матеріалу та виключити випадкове зараження чи забруднення зразків. Вкрай неможливим при цьому є плутанина з етикетками або змішування насіння, живців чи інших матеріалів із різних зразків. Наприклад, насінину, яка випадково випала із пакета на підлогу не можна

класти назад у пакет, якщо немає повної впевненості, що вона з цього зразка. Її слід розрізати, перевірити, чи вона не заражена всередині шкідником, і знищити.

Навчальне обладнання: кювети, лоточки-підноси, аркуші білого щільного паперу, скальпель, шпатель, неглянцевий папір, препарувальні голки, бінокляр, лупа, набір ґрунтових сит з отворами різного діаметра, посуд з прямими стінками, розчин солі (570-730 г NaNO_3 на 1 л води при $+15^\circ\text{C}$), 30% кухонної солі, 50% розчин NaNO_3 , термостат, чашки Петрі, фільтрувальний папір, ексикатори зі зволоженням, рослинні зразки, насіння, навчальні посібники, фотографії шкідливих організмів.

Інструктаж з техніки безпеки: студенти повинні дотримуватись правил безпечного поводження на робочому місці.

Питання та завдання для проведення попереднього контролю знань:

1. Які групи шкідливих організмів входять до «Переліку регульованих шкідливих організмів»?
2. Яких правил техніки безпеки необхідно дотримуватись під час огляду підкарантинних рослинних вантажоматеріалів?
3. Правила техніки безпеки при роботі з лабораторним обладнанням, реактивами.
4. З якою метою проводиться ентомологічна експертиза?

Завдання 1

Ознайомитись із правилами і вимогами відбору, фіксації зразків, проведення ентомологічної експертизи

1. Не залишати без догляду розпаковані рослини та висипане для експертизи насіння.
2. Почату експертизу кожного зразка слід закінчувати до перерви в роботі.
3. Не відкривати одразу декілька посилок чи зразків, які надійшли одночасно.
4. Всі матеріали зберігати в спеціально відведеному місці, ящики із живими рослинами – у прохолодному місці, підтримуючи вологість пакувального матеріалу.

Усі виявлені в процесі ентомологічного, фітопатологічного та інших видів аналізів карантинні і некарантинні організми одразу вміщують в окремі пробірки, відповідно фіксують. Укладають усередину кожної пробірки етикетку, написану тушшю на тонкому пергаментному папері.

Якщо зібраний матеріал вдалося визначити одразу, то його наукову назву (видову та родову) записують на такій же другій етикетці і вкладають у ту ж саму пробірку. При встановленні лише роду, до якого належить організм,

пишуть назву роду і після нього ставлять «sp» (вид не визначено). У випадках, коли види шкідників, збудників хвороб чи бур'янів неможливо визначити точніше, ніж до роду, в протоколі експертизи вказують, що виявлені організми належать до некарантинного виду. На кожний шкідливий організм складають одразу картку.

Виявлених під час експертизи карантинних шкідливих організмів та інших видів комах, паразитичних нематод, мікропрепарати збудників грибних і бактеріальних хвороб рослин, насіння та плоди бур'янів, а також частини рослин, пошкоджених шкідниками, з ознаками хвороб та вражених нематодами, зберігають у лабораторії чи на пункті у зафіксованому вигляді, як зразки-документи, що підтверджують звітні дані. На увесь цей матеріал пишуть етикетки, він систематизується.

Навіть досвідчений систематик не зможе зробити висновок щодо організму, який неправильно зафіксований.

Дорослих комах заморюють ефіром або дихлоретаном. Далі висипають на листок паперу і розкладають за рядами та родинами. Особин, яких треба визначати більш детально, вміщують у скляні пробірки з етикеткою, її вкладають таким чином, щоб можна було прочитати не виймаючи. Бажано також у цю пробірку вкласти зразок пошкодження, відділивши його від комах ватним тампоном. Пробірку закривають ватним тампоном.

Великою помилкою є пакування соковитих плодів та листків у поліетиленовий пакет, де вони швидко псуються, разом з ними псується і етикетка. Труднощі для експерта виникають у випадках, коли таких ніжних комах, як галиці та щитівки пересилають прямо у клеєвих пастках. Основою ентомологічних клеїв є поліізобутилен, який розм'якшує хітиновий покрив комах. Після цього дістати об'єкт із пастки, не пошкодивши його, практично неможливо. Тому слід дотримуватися правил фіксації та пересилки карантинних об'єктів.

Зразки кори з колоніями щитівок та листки з колоніями личинок білокрилок розкладають на шари вати товщиною 0,5-1,0 см. Вату з комахами вміщують у складений вдвоє листок білого паперу, на внутрішній стороні якого записують відомості про місце та час збору рослин-господарів. Ці зразки також можна зберігати в пакетиках для зберігання насіння.

Галиць, дорослих білокрилок, трипсів зберігають у 96%-ному спирті. Але краще використовувати рідину Коніке (п'ять частин гліцерину, дві частини льодяної оцтової кислоти і три частини води).

Гусениць, личинок та лялечок жуків перед фіксацією вміщують на 2-3 хв. у крутий кип'яток або обварюють. Це необхідно для того, щоб личинки не потемніли надалі при фіксації. На короткий час зберігати личинок і гусениць можна, фіксуючи їх після обварювання, у розчині кухонної солі. Для більш надійної фіксації використовують 70%-ий спирт.

Уражені грибними хворобами частини рослини гербаризують. Зразок повинен складатися не менше, ніж з 10 екземплярів уражених рослин. На нього пишуть етикетку, вказуючи культуру, сорт, місце збору, дату і ким

зібраний. Зразок обгортають декількома шарами паперу і направляють у лабораторію. Забороняється їх пересилати в поліетиленових пакетах.

У соковитих плодів, ягід уражені ділянки з обов'язковим захватом здорових тканин вирізають та висушують між листками паперу. Плоди, їх частини, бульби, коробочки можна також фіксувати в 70%-ому спирті або в 4-5%-ому водному розчині формаліну з додаванням кристаликів мідного купоросу.

Заражені плоди кісточкових культур фіксують спочатку протягом трьох-чотирьох годин у розчині мідного купоросу (4 г на 1 л дистильованої води), а потім витягують, промивають водою і вміщують у 40%-ий розчин формаліну (з розрахунку 25 мл на 1 л дистильованої води) протягом трьох-чотирьох днів.

Живці для аналізу зрізають з чотирьох сторін дерева довжиною 20-25 см. Верхні та нижні зрізи парафінують, на кожному коробку підписують етикетку.

Свіжі плоди завертають у пергаментний папір і, підписавши, направляють в лабораторію. Будь-який матеріал, що надходить в карантинну лабораторію на експертизу, ще до реєстрації повинен перевірятися ентомологом. Усі матеріали рослинного і тваринного походження реєструються у журналі. На кожен посилку, бандероль, зразок складають протокол експертизи.

Після ентомологічного аналізу весь матеріал разом з протоколом передають спеціалістам – фітопатологу, бактеріологу, фітогельмінтологу, гербологу.

Заповнені протоколи з результатами усіх видів аналізів передаються завідувачу карантинної лабораторії, який робить висновок про такі заходи: направити матеріал на знезараження; дозволити його видачу отримувачу з умовою висівання чи висаджування в інтродукційно-карантинному розсаднику чи карантинній оранжереї; випустити для використання за призначенням без карантинних обмежень.

Завдання 2

Ознайомитись із характеристикою методів ентомологічної експертизи

Ознайомитись з основними методами ентомологічної експертизи, необхідними матеріалами та обладнанням, порядком і правилами їх проведення. Провести порівняльний аналіз основних методів за формою таблиці 1.

Таблиця 1

Методи ентомологічної експертизи

Методи ентомологічної експертизи	Матеріали та обладнання	Методика проведення
Перегляд насіння	Фотокувети, лоточки-підноси, аркуші білого щільного паперу, скальпель, шпатель	Перегляд упаковки, тари; обережно розкрити пакунок, насіння висипати на стіл чи листок білого паперу і поступово переміщувати зерна шпателем. Пошкоджені насінини та виявлених комах складати до різних пробірок, закрити їх, зробити етикетку
Виявлення живих личинок жуків	Неглянцевий папір, препарувальні голки, біокуляр, лупа	Рівномірним шаром (1-2 см) розсипати насіння і залишити на 3-5 хв., потім зсипати назад до пакета. Личинки деяких видів залишаються на папері. Огляд паперу під біокуляром чи лупою
Просіювання насіння	Набір ґрунтових сит з отворами різного діаметра	У верхніх фракціях залишаються комахи крупніші за насіння, в середні потрапляють дрібні комахи, а в нижні – екскременти, фрагменти комах (вусики, ноги), кліщі. Не рекомендується застосовувати при підозрі на зараження капровим жуком чи споріднених з ним видів або за потреби збереження цілих екземплярів
Метод флотації	Посуд з прямими стінками; чиста вода для дрібного насіння; для виявлення ДОВГОНОСИКІВ, зернової молі – розчин солі (570-730 г NaNO_3 на 1 л води при $+15^\circ\text{C}$); для дрібних бобових культур на виявлення зернівок – 30% кухонної солі; для зернобобових середнього розміру – 50% розчин NaNO_3	Зразок опускають у воду чи розчин солі, яка налита в посуд з прямими стінками, перемішують, знімають все, що плаває на поверхні і розкладають для просушування на фільтрувальний папір, складений в декілька шарів. Рідину зливають. Насіння, що опало на дно, промивають декілька хвилин чистою водою і розкладають для просушування. Під час сушіння воно повинно знаходитися не менше доби, бути захищеним від випадковостей. У пакет зсипають лише повністю висушене насіння. У насінні, що сплило, виявляють

Методи ентомологічної експертизи	Матеріали та обладнання	Методика проведення
		шкідника, встановлюють стадію розвитку та вид
Метод рентгенографії	Рентгенапарат типу "РЕИС-И" (робота при напрузі 7-9 кВт, сила струму 10 МА, відстань до плівки 90 см), методика ВНДІКР	Насіння розкласти в один шар у плоскі коробочки з дном із пергаментного паперу, під які підкладена незасвічена рентген плівка в конверт-касеті
Макролюмінесцентний метод	Аналітична ртутно-кварцева лампа типу ЛЮМ або Л-84 з лампою ПРК-4, світлофільтром УФС-3, освітлювачем ОІ-18 з набором світлофільтрів разом з бінокляром	Приклеєні до поверхні насіння яйця деяких комах, воскові виділення червчиків яскраво люмінесціюють в фільтрованих ультрафіолетових променях і легко виявляються при малому ступені зараження зразків
Біологічний метод	Термостат із заданою температурою, чашки Петрі, фільтрувальний папір, ексикатори із зволоженням	У випадках виявлення передімагінальних стадій (яйцекладки борошнистих червців, личинки в плодах чи пагонах, лялечки зерноїдів, пупарії мух, німфи трипсів та ін.), за якими не можна точно встановити видову належність. Виникає потреба довести їх до стадії, на якій це визначення можливе, або дочекатися чергової линьки личинок, щоб за мікроознаками скинутої шкірки встановити вид

Завдання 3

Провести ентомологічну експертизу представленого зразка

Обрати та обґрунтувати вибір методу ентомологічної експертизи для аналізу представленого зразка, провести аналіз згідно методики, записати одержані результати в зошит.

Контрольні питання:

1. Яких правил слід дотримуватись при відборі ентомологічних зразків?
2. Яких правил слід дотримуватись під час фіксації ентомологічних зразків?
3. Які методи ентомологічної експертизи Ви знаєте?
4. Проведіть порівняльний аналіз різних методів ентомологічної експертизи, особливостей їх застосування.

Критерії оцінювання:

нарахування балів (до 2) здійснюється диференційовано в результаті відповіді на контрольні питання за підсумками виконання практичних завдань.

Рекомендована література
Базова

1. Сикало О. О., Мовчан О. М., Устінов І. Д. Карантинні шкідливі організми. Ч. 2. Київ, 2005. 5–10 с.
2. Руководство по досмотру и экспертизе растительных и других подкарантинных материалов / под ред. А. А. Варшалович. М., 1972. 175 с.
3. Станкевич С. В. Методи експертизи підкарантинних матеріалів: навч. посібник. Харків, 2017. 55–59 с.
4. Ілюстрований довідник регульованих шкідливих організмів в Україні / Башинська О. В., Константінова Н. А., Пилипенко Л. А. та ін. К.: Урожай, 2009. 249 с.

Допоміжна

1. Методическое руководство по лабораторной экспертизе растительных материалов и почвы / под ред. Т. И. Роговая. М., 1960. 78–80 с.

Тема заняття:

«Методи ентомологічної експертизи.

Ідентифікація західного квіткового трипса *Frankliniella occidentalis* Perg. морфологічним методом» (2 години)

Мета заняття: ознайомитись із методикою проведення ентомологічної експертизи та ідентифікації морфологічним методом західного квіткового трипса *Frankliniella occidentalis* Perg. з метою встановлення фітосанітарного стану об'єктів (виробів) випробування щодо наявності або відсутності зараження.

План:

1. Ознайомлення із методикою ідентифікації західного квіткового трипса.
2. Проведення ідентифікації західного квіткового трипса.
3. Порядок оформлення документації, вимоги техніки безпеки під час ідентифікації західного квіткового трипса.

Теоретичні передумови:

Західний квітковий трипс *Frankliniella occidentalis* Perg. – багатоїдний шкідник, пошкоджує більше 250 видів рослин з понад 65 родин. Його личинки та дорослі особини живляться на плодкових культурах (абрикосі, персику, сливі, нектарині тощо); овочевих (томатах, огірках, солодкому перці, горосі); квіткових (трояндах, гвоздиках, хризантемах, герберах, гладіолусах), висмоктуючи клітинний сік рослин. Шкідник спричиняє зниження врожаю та погіршення його якості, є переносником вірусних хвороб рослин. Деякі культури, включаючи зрізані квіти, полуниці, перець і огірки, при пошкодженні їх трипсами практично повністю втрачають ринкову цінність. Ознаки пошкодження трипсом залежать від виду рослин. На трояндах, герберах з червоними квітами або на темних квітах сенполій утворюється білий наліт. У перцю й огірків на листі утворюється сріблястий наліт, листок деформується, в місцях живлення утворюються плями та шрами. Яйця, відкладені в тканини пелюсток, спричиняють ефект гусячої шкіри на квітах орхідей, яйцекладка на плодах винограду призводить до розтріскування шкірки плоду з наступним його ураженням грибами.

Західний квітковий трипс – комаха розміром до 2 мм, з видовженим струнким тілом. Крила облямовані торочкою з 14-19 щетинками. Вусики мають 8 члеників. Задній край восьмого тергіту – із зубчастим гребінцем. Передній край передньогрудей – із щетинками, з яких дві довші за інші. Колір трипса коливається від блідо-жовтого до темно-коричневого, залежно від температури повітря і вологості. Личинка першого віку білого кольору, довжина тіла – 0,50-0,65 мм, личинка другого віку – золотисто-жовта, довжиною 1,2-1,3 мм.

Зимує імаго в ґрунті, личинки – в бутонах і квітках. Самка трипса відкладає яйця в паренхіму листя, квітів і плодів – 20-40 шт. (максимально 95). В умовах вологого клімату теплиць яйця часто гинуть. У теплицях, оранжереях трипс розмножується протягом року, дає 12-15 поколінь. Імаго та личинки легко переносяться вітром, на одязі персоналу.

Початком поширення західного квіткового трипсу вважається 1983 р., коли шкідника виявили в Нідерландах. Він широко розповсюджений в

Америці і зустрічається в таких країнах Європи як Італія, Іспанія, Англія, Німеччина, Чехія, Румунія, Польща, Угорщина. На території України зареєстровано поодинокі вогнища шкідника в закритому ґрунті.

Проводиться комплекс агротехнічних та хімічних заходів боротьби із трипсом. Завозиться він головним чином зі зрізаними й укоріненими в горщиках квітами, на плодах томатів, які постачаються літаками та авторефрижераторами з Голландії та Польщі. Потрапивши разом з квітами до помешкань і офісів, західний квітковий трипс може оселитися на кімнатних рослинах, розмножитися і розповсюдитись. Тому необхідно здійснювати постійний карантинний контроль приватних і державних тепличних господарств, куди завозиться імпортна розсада овочів, квітів та інший садивний матеріал. З карантинних заходів головним є фітосанітарний контроль імпортного зрізу квітів та горщикових культур як основних розповсюджувачів шкідника. Трипси ведуть прихований спосіб життя, для них характерний високий ступінь резистентності.

Навчальне обладнання:

мікроскоп стереоскопічний, діапазон 0,6-4,0х та 0,65-5,0х, мікроскоп біологічний, діапазон 4-100х, ентомологічні голки, препарувальні голки, пінцети, акварельні кисті, піпетки, предметні скельця 76x26x1 мм, покривні скельця 18x18 мм, предметні скельця з виїмкою в центрі 76x26x1 мм, годинникові скельця Ø 50 мм, фільтрувальний папір Ø 90 мм, скляні або пластикові пробірки, вага, садки ентомологічні (скляні банки різної ємності), ентомологічні ящики, бокси для вертикального зберігання мікропрепаратів, бокси для горизонтального зберігання мікропрепаратів, розчин Фора, розчин Берлезе, розчин Хойера, спирт етиловий (C₂H₅OH) 96%, 80%, 70% або його замітники, розчин гліцерину та 70% етилового спирту або його замітника (1:2), розчин гліцерину і дистильованої води (1:1), дистильована вода (H₂O).

Інструктаж з техніки безпеки: студенти повинні дотримуватись правил безпечного поводження на робочому місці.

Питання та завдання для проведення попереднього контролю знань:

1. Які методи ентомологічної експертизи Ви знаєте?
2. Систематичне положення західного квіткового трипса.
3. Як проявляється пошкодження рослин західним квітковим трипсом?
4. Які заходи боротьби із західним квітковим трипсом Ви знаєте?

Завдання 1

Ознайомитись з методикою ідентифікації західного квіткового трипса

Frankliniella occidentalis Perg.

Об'єкти випробування

Ентомологічній експертизі підлягають рослини, продукти рослинного походження, пакувальний матеріал, ґрунт та будь-які інші організми, об'єкти або матеріали, здатні переносити чи поширювати західного квіткового трипса

Frankliniella occidentalis Perg., а також ентомологічні шкідливі організми (комахи та кліщі) в усіх стадіях розвитку.

Схема методики



Опис методики

Дана методика випробування ґрунтується на відповідному стандарті ЄОКЗР серії РМ 7 «Діагностичні протоколи для регульованих шкідливих організмів» – РМ 7/11 (1) *Frankliniella occidentalis*.

Підготовка до тестування

Ентомологічна експертиза проводиться згідно вимог, наведених в РІ Е.001 «Вимоги щодо проведення ентомологічної експертизи».

Обрати необхідний метод виявлення ентомологічних шкідливих організмів і діяти згідно з відповідною інструкцією.

Процес тестування

1. Встановлення фітосанітарного стану об'єктів (виробів) випробування щодо наявності або відсутності зараження ентомологічними шкідливими організмами проводять згідно інструкції РІ Е.0XX «Макроскопічний метод виявлення ентомологічних шкідливих організмів».

Рослини, продукти рослинного походження, пакувальний матеріал, ґрунт та будь-які інші організми, об'єкти або матеріали, здатні переносити чи поширювати ентомологічні шкідливі організми, а також ентомологічні шкідливі організми (комахи та кліщі) в усіх стадіях розвитку візуально оглядають, продивляються під стереомікроскопом чи бінокуляром.

2. При відсутності ентомологічних шкідливих організмів експерт робить відповідний запис в ОПФ 5.10.006 «Протоколі тестувань з ентомології».

3. В разі виявлення ентомологічних шкідливих організмів, їх відбирають в окремі пробірки або в чашки Петрі.

4. Якщо шкідники знаходяться в таких стадіях розвитку, коли їх ідентифікувати до виду не можливо, тоді (яйця, личинки, німфи, лялечки, пупарії) вирощують до необхідних для визначення стадій відповідно до інструкцій РІ Е.0XX «Дорощування ентомологічних шкідливих організмів».

5. Ентомологічні організми в живому стані, придатні до подальшої ідентифікації, фіксуються згідно РІ Е.0XX «Фіксація ентомологічних шкідливих організмів».

Фіксованих шкідників оглядають під стереомікроскопом та визначають до таксономічних одиниць (ряд, родину, рід, якщо можливо вид) за макроознаками. При діагностиці виявлених організмів використовуються офіційні видання визначників, референтний та колекційний матеріал.

6. Якщо вид не ідентифіковано, то з фіксованого шкідника або окремих його частин виготовляють тимчасовий та/або постійний мікропрепарат згідно інструкції РІ Е.0XX «Виготовлення мікропрепаратів шкідників ряду *Thysanoptera*». Мікропрепарати досліджують під мікроскопом, ідентифікують, використовуючи визначники, референтний та колекційний матеріал.

7. Ідентифікація личинок *Frankliniella occidentalis* Perg.

7.1. Довжина личинок I-го віку становить 0,65-1,20 мм, II-го віку – 1,49-1,79 мм. Личинки жовтувато-білі. Вусик складається із шести члеників.

7.2. Основні морфологічні ознаки для ідентифікації личинок *Frankliniella occidentalis* Perg.*:

- кожен сегмент черевця з 5 поперечними рядами невеликих овальних пластинок; на тергіті черевця пластинки з мікротрихіями;
 - кінець X сегменту черевця затемнений;
 - гребінець, що складається з 16-18 клиновидних відростків (зубців), розміщених як на дорсальному, так і на вентральному боці заднього краю IX черевного сегмента; дорсальні (спинні) відростки довші за вентральні; найдовший зубовидний відросток добре розвинений, у два чи більше разів довший за ширину між дорсальними щетинками D1;
 - голова з блідо-сірою областю позаду дорсальної щетинки D4.
- * Представлені характерні ознаки можуть бути використані лише для того, щоб відрізнити личинок *F. occidentalis* від інших видів *Frankliniella*, поширених в Європі.

8. Ідентифікація імаго *Frankliniella occidentalis* Perg.

8.1. Підряд *Terebrantia*:

- передні крила (якщо вони присутні), часто з нечіткими, повздовжніми жилками, опушеними щетинками, а іноді і з поперечними жилками;
- поверхня крила покрита мікротрихіями;
- самки з пилкоподібним яйцекладом;
- X черевний сегмент, як правило, конічний, нетрубчастий.

8.2. Родина *Thripidae*:

- VIII абдомінальний (черевний) стерніт не розвинений;
- X тергіт черевця, як правило, без пари трихоботрій (сенсорні щетинки виходять із спеціалізованих основ; див. рис. 3С), якщо вони присутні, то дуже маленькі;
- яйцеклад самки добре розвинений, вигнутий вниз від тіла;
- вусики, як правило, 7- або 8-членикові, рідко 6- або 9-членикові;
- сенсорні конуси III і IV члеників вусиків у вигляді вилочки або простого одинарного конуса.

8.3. Підродина *Thripidae*:

- голова і черевце, як правило, не мають густої сітчастої структури, іноді з легкою сітчастою структурою;
- III і IV членики вусиків, як правило, з мікротрихіями;
- останній членик рідко витягнутий в кінці;
- перша (передня, основна) жилка переднього крила не зливається з костальною (крайньою).

8.4. Рід *Frankliniella*:

- вусики 8-членикові, за винятком трьох видів (рис. 9);
- III і IV членики вусиків з роздвоєним сенсорним конусом (вилкоподібна сенсила);
- передньоспинка, як правило, з двома парами довгих щетинок на передньому краї і двома парами довгих задньокутових щетинок, а також ще парою дещо менших щетинок (рм) посередині задніх дрібних щетинок;
- перша (передня, основна) жилка переднього крила, як правило, з повним рядом щетинок;

– ктенідії VIII тергіта черевця розташовуються поблизу передньобоків дихалець;

– стерніти черевця без додаткових щетинок;

– імаго самців з маленькими, поперечними, овальними залозистими зонами на кожному з III по VI або по VII стернітах.

8.5. Вид *Frankliniella occidentalis* Perg.

– очні щетинки III (міжочні щетинки, io) в положенні 2 (рис. 1C), приблизно в два рази довші за відстань між їх основами (рис. 1A/a, 1B);

– великі постокулярні (задньоочні) щетинки (S4) дуже довгі, часто майже такої самої довжини, як очні щетинки III (міжочні щетинки) (рис. 1A/a, 1B);

– передньокутові (aa) та передньокрайні (am) щетинки передньоспинки майже однакових розмірів; між передньокрайніми щетинками є дві пари дрібних щетинок (S1 і S2) (рис. 1A/a, 1B);

– задньоспинка самок, як правило, з колоколовидними сенсілами, які розташовані поблизу заднього краю (рис. 6B);

– на першій (передній, основній) жилці переднього крила 14-21 (найчастіше 16-17) рівномірно розташованих щетинок (рис. 10);

– щетинка b1 IX тергіта дещо коротша ніж щетинки b2 і b3;

– гребінець на VIII тергіті черевця імаго самки добре розвинений, повний, приблизно з 10-14 довгими гострими зубцями, які проходять по всій ширині тергіта (рис. 8);

– з III по VII стерніти самців з невеликими поперечними овальними залозистими областями (рис. 7B).

9. Порівняння з аналогічними видами.

9.1. Подібні роди:

Рід *Iridothrips* відрізняється від роду *Frankliniella* формою сенсорних конусів на III і IV члениках вусиків – прості в *Iridothrips*, роздвоєні – у *Frankliniella*.

Рід *Kakothrips* можна відрізнити від роду *Frankliniella* за наступними ознаками:

– в *Kakothrips* щетинки S1 на передньому і задньому краї передньоспинки (рис. 2E) завжди довші за щетинки S2;

– наявність у *Kakothrips* невеликого апікального зубця на лапці I (відсутній у *Frankliniella*);

– вусики темні, лише III і V членики дещо блідніші.

9.2. Подібні види.

9.2.1. Місцеві і синантропні види.

Ключ Vierbergen (1995) дозволяє ідентифікувати види роду *Frankliniella*, які присутні в європейських країнах (табл. 1), у тому числі, зокрема, *F. intonsa* (рис. 2C) і *F. schultzei* (рис. 2B), а також *F. fusca* Hinds (рис. 2D і 3A), *F. nigriventris* Uzel, *F. pallida* Uzel (рис. 2A) і *F. tenuicornis* Uzel.

9.2.2. Неєвропейські види.

Frankliniella panamensis Hood – довжина мікротрихій гребінця на VIII тергіті самок 15-17 мкм (*F. occidentalis* – 10-13 мкм).

Frankliniella tritici Fitch.:

– ніжка III членика вусика має потовщення у вигляді кільця (рис. 2F.) (у *F. occidentalis* – відсутнє);

– передньокутові (aa) щетинки передньоспинки помітно довші за передньокрайні (am) щетинки (у *F. occidentalis* по довжині ці щетинки майже однакові); між передньокрайніми (am) щетинками присутня одна пара дрібних щетинок (для *F. occidentalis* – дві пари щетинок є основною ознакою, але вона може змінюватися (рис. 6A);

– очні щетинки III (міжочні щетинки) приблизно в два рази довші за великі постокуюлярні (задньоочні) щетинки (S4) (у *F. occidentalis* довжина цих щетинок однакова (рис. 5);

– гребінець на VIII тергіті черевця самок посередині відсутній (рис. 3B), але з незначною кількістю добре розвинених мікротрихій по боках (латерально) (у самок *F. occidentalis* гребінець добре розвинений, повний) (рис. 8).

10. В разі виявлення *F. occidentalis* Perg. фахівець робить запис в протоколі тестування (ОПФ Е.00Х) та заповнює протокол ідентифікації (ОПФ Е.00Х «Протокол ідентифікації *Frankliniella occidentalis* Perg. – західного квіткового трипса»), де вказує вид, характерні морфологічні ознаки ряду, родини, роду, виду, додатково фіксує його кількість, стан, стадію розвитку і надає висновок у протоколі фітосанітарної експертизи ОПФ 5.10.001 (чи протоколі повторної фітосанітарної (арбітражної) експертизи ОПФ 5.10.002).

11. Згідно ПСУ 5.8.001 «Поводження з виробами випробування» виявлені під час випробувань ентомологічні шкідливі організми, зберігаються як зразки-документи у нежиттєздатному стані: регульовані шкідливі організми – 6 місяців, інші шкідливі організми – 14 днів, а потім переводяться в колекційний матеріал (за необхідності) або видаляються як поточне сміття.

12. Після виконання тестування зразки об'єктів регулювання, в яких виявлено нерегульований шкідливий організм, повертають, а зразки в яких виявлено регульований шкідливий організм знищують згідно ПСУ 5.8.001.

Завдання 2**Провести ідентифікацію західного квіткового трипса *Frankliniella occidentalis* Perg.**

Провести обстеження представлених рослинних зразків на наявність західного квіткового трипса *Frankliniella occidentalis* Perg., аналіз виявлених комах і постійних ентомологічних зразків згідно методики з використанням ключа (табл. 1) та ідентифікаційних схем (рис. 1-10).

Завдання 3**Ознайомитись з порядком оформлення документації, вимогами техніки безпеки під час ідентифікації західного квіткового трипса *Frankliniella occidentalis* Perg.**

Підтвердженням наявності або відсутності ентомологічних шкідливих організмів у виробах випробування має слугувати протокол тестування з ентомології, підписаний фахівцем з ентомології або іншою уповноваженою особою, яка проводила тестування.

Доказом карантинного статусу виявлених ентомологічних шкідливих організмів має слугувати зразок-документ та протокол ідентифікації з ентомології, підписаний фахівцем з ентомології або іншою уповноваженою особою, яка проводила ідентифікацію.

Відповідальність за виявлення та ідентифікацію ентомологічних шкідливих організмів несе фахівець, який проводив ентомологічну експертизу. Відповідальність за дотримання вимог даної методики покладається на головного фахівця з ентомології. Контроль за виконанням вимог даної методики покладається на завідувача відділу.

Під час проведення тестувань необхідно використовувати спецодяг, при необхідності – засоби індивідуального захисту. Потрібно дотримуватися правил охорони праці з тими чи іншими матеріалами, згідно відповідних інструкцій.

Роботи з хімічними сполуками, сільськогосподарською продукцією, обробленою отрутохімікатами необхідно проводити у витяжній шафі чи добре провітрюваному приміщенні.

Контрольні питання:

1. Опишіть загальну схему методики ідентифікації західного квіткового трипса.
2. Які об'єкти підлягають обстеженню на наявність західного квітового трипса?
3. Які особливості та правила ідентифікації личинок західного квітового трипса?
4. Як провести ідентифікацію західного квітового трипса на стадії імаго?

Критерії оцінювання:

нарахування балів (до 2) здійснюється диференційовано в результаті відповіді на контрольні питання за підсумками виконання практичних завдань

Рекомендована література Базова

1. Сикало О. О., Мовчан О. М., Устінов І. Д. Карантинні шкідливі організми. Ч. 2. Київ, 2005. 5–10 с.
2. Руководство по досмотру и экспертизе растительных и других подкарантинных материалов / под ред. А. А. Варшалович. М., 1972. 175 с.
3. Станкевич С. В. Методи експертизи підкарантинних матеріалів: навч. посібник. Харків, 2017. 55–59 с.

4. Ілюстрований довідник регульованих шкідливих організмів в Україні / Башинська О. В., Константінова Н. А., Пилипенко Л. А. та ін. К.: Урожай, 2009. 249 с.

Допоміжна

1. Методическое руководство по лабораторной экспертизе растительных материалов и почвы / под ред. Т. И. Роговая. М., 1960. 78–80 с.

2. Ахатов А. К. Вредители тепличных и оранжерейных растений. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2004. 307 с.

ДОДАТКИ

Таблиця 1

Ключ для визначення місцевих та синантропних видів роду *Frankliniella* (самці та самки) (Vierbergen, 1995; з деяким правками)

43

1. Короткокрилі або безкрилі (з редукованими крилами).	2
Крила добре розвинені	3
2. Прості очі слабо розвинуті або зовсім відсутні; метанотум (задньоспинка) з широкими поперечними смугами; задній край VIII тергіта черевця з дуже слабо розвинутим гребінцем (з невеликою кількістю зубців), розташованих лише латерально (по боках). Самки: довжина крайніх передньокрайніх щетинок задньоспинки менша ніж 50 μm ; тіло від блідого до темно-коричневого коліру; проміжні форми з темними плямами, що варіюють; крила від недорозвинених до цілком розвинених. Самці: залозиста область на III-VII стернітах черевця досить широка; 2/5-1/2 ширини стерніту; тіло як правило дещо затемнене	<i>Frankliniella fusca</i>
Прості очі присутні; задньоспинка переважно без широких поперечних смуг; задній край VIII тергіта черевця з добре розвинутим гребінцем. Самки довжина крайніх передньокрайніх щетинок задньоспинки більше ніж 50 μm ; тіло темне. Самці: залозисті області на III-VII стернітах черевця близько 1/3 ширини стерніта	<i>Frankliniella nigriventris</i>
3. Довжина великих постокуюлярних щетинок (S4) більш ніж в три рази перевищує довжину інших постокуюлярних щетинок. (рис. 1B і 2B); розташування щетинок між простими очима як на рисунку в позиції 1 (рис. 1C)	4
Довжина великих постокуюлярних щетинок (S4) менше, ніж в три рази перевищує довжину інших постокуюлярних щетинок (рис. 2C, 2D); розташування щетинок між простими очима як на рисунку в позиції 2 (рис. 1C)	5
4. Розташування щетинок між простими очима в позиції 2; пори задньоспинки присутні або (іноді) відсутні; задній край VIII тергіта черевця з добре розвинутим гребінцем. Самки: пори задньоспинки, як правило, присутні; колір варіює (рис. 4), зазвичай тіло затемнене, з блюцеподібними ще більш темними плямами на II-VII тергітах черевця (форми з проміжним забарвленням). Самці: залозисті області на III-VII стернітах черевця маленькі, овальні, близько чверті ширини стерніту; пори задньоспинки присутні або відсутні; тіло бліде. Розташування щетинок між простими очима в позиції 1 (рис. 2B); пори задньоспинки відсутні; задній край VIII тергіта	<i>Frankliniella occidentalis</i>

<p>черевця з ледве помітним гребінцем, який розвинутий лише латерально (по бокам). Самки: пори задньоспинки відсутні; колір тіла від блідого до темного; бліді форми з затемненими задніми краями II-VII тергітів черевця. Самці: залозисті області на III-VII стернітах черевця широкі, займають більше половини ширини стерніту; тіло найчастіше бліде.....</p>	<p><i>Frankliniella schultzei</i></p>
<p>5. Довжина передньокрайніх щетинок передньоспинки приблизно 3/4 довжини передньокутових щетинок передньоспинки; розташування щетинок між простими очима в позиції 2; задній край VIII тергіта черевця з добре розвинутим гребінцем; самки темного забарвлення.</p>	<p>6</p>
<p>6. Пори задньоспинки відсутні. Самки: задній край VIII тергіта з добре розвинутим гребінцем; задня жилка переднього крила з більш ніж 13 щетинками; тіло темне. Самці: залозисті області на III-VII стернітах черевця широкі, приблизно 1/3 ширини стерніта; тіло блідне або повністю темне (= forma <i>maritima</i> Priesner, зустрічається тільки в прибережних областях)</p>	<p><i>Frankliniella intonsa</i> <i>Frankliniella nigriventris</i></p>
<p>7. Розташування щетинок між простими очима в позиції 2 (рис. 1С). Самки: тіло майже повністю бліде; довжина III членика вусика 50 μm або менша; задній край VIII тергіта з добре розвинутим гребінцем; пори задньоспинки присутні; задня жилка переднього крила з 13 або меншою кількістю щетинок. Самці: залозисті області займають 1/3 ширини черевця III-VII стернітів; пори задньоспинки присутні або відсутні; тіло бліде.</p>	<p><i>Frankliniella pallida</i></p>
<p>Розташування щетинок між простими очима в позиції 1. Самки: тіло повністю темне; довжина III членика вусика 53 μm або більше.</p>	<p>8</p>
<p>8. Самки*</p>	<p>9</p>
<p>Самці*</p>	<p>10</p>
<p>9. Пори задньоспинки відсутні; задній край VII тергіта черевця</p>	

з добре розвинутим гребінцем; задня жилка передніх крил з 13-18 щетинками.	<i>Frankliniella tenuicornis</i>
Пори задньоспинки присутні; задній край VII тергіта черевця з дуже слабким гребінцем, розвинутим лише латерально, тоб то по боках (Рис. 3А); задня жилка передніх крил з 12-14 щетинками.	<i>Frankliniella fusca</i>
10. Залозисті області II-VII стернітов черевця маленькі, приблизно 1/3 ширини стерніта; тіло бліде	<i>Frankliniella tenuicornis</i>
Залозисті області II-VII стернітов черевця досить широкі, приблизно 1/2 ширини стерніта; тіло зазвичай злегка затемнене	<i>Frankliniella fusca</i>

* Основні відмінності між самцями і самками:

Самки: тіло валькувате, більш-менш темне; X сегмент черевця конічний, загострений на вершині; з виразним пиловидним яйцекладом на нижньому боці черевця (рис. 3D).

Самці: тіло вузьке, зазвичай дрібніші і світліші; X сегмент черевця на вершині округлий, без яйцеклада (рис. 3Е); вентральна сторона черевця на III-VI сегментах зазвичай зі світлими, більш-менш овальними залозистими областями, більш блідими ніж стерніти.

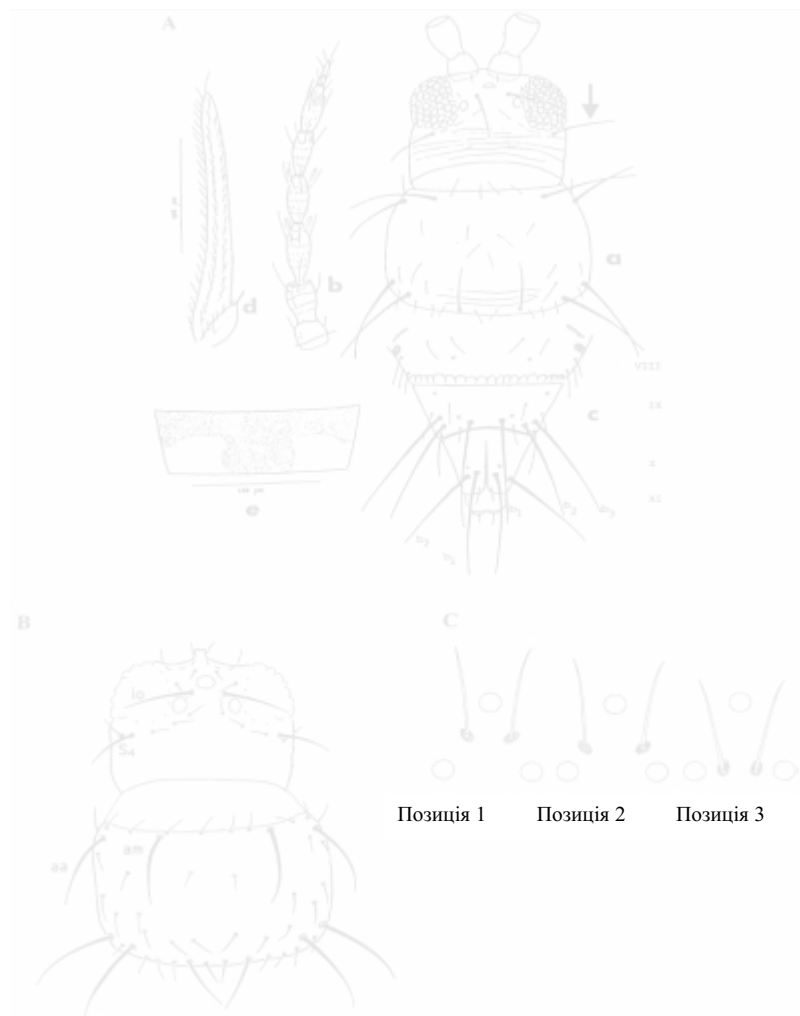


Рис. 1. *F. occidentalis* (A) За Bournier & Bournier (1987)
 (a) голова та передньоспинка (стрілкою вказано велику посткокулярну (задньоочну) щетинку S₄); (b) правий вусик; (c) останні сегменти черевця (VIII–XI); (d) праве крило (зверху і знизу бахрома (торочка) не зарисована); (e) забарвлення тергіта черевця літньої форми. Масштаб рисунків d і e відрізняється від a, b і c. (B) Голова і передньоспинка (за Strassen, 1986). (io) міжочні щетинки = очні щетинки III; (S₄) велика задньоочна щетинка; (aa) передньокутові щетинки передньоспинки; (am) передньокрайні щетинки передньоспинки. (C) За Vierbergen, 1995. Позиції 1, 2, 3 міжочних щетинок.

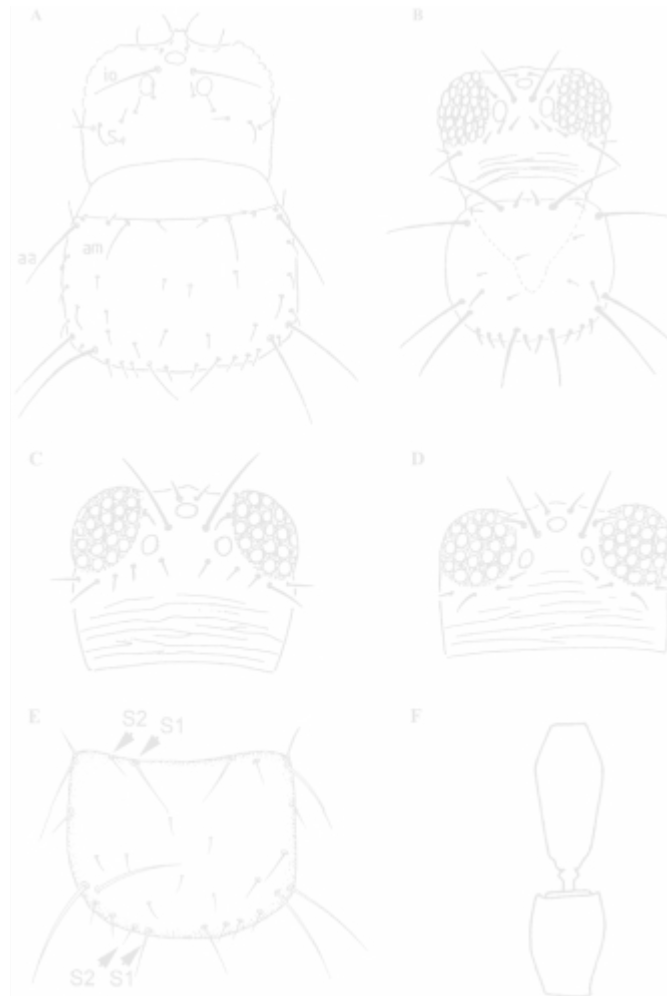


Рис. 2. (A) *F. pallida*: голова та передньоспинка. (io) міжочні щетинки = очні щетинки III; (S₄) велика постокулярна (задньоочна) щетинка; (aa) передньокутові щетинки передньоспинки; (am) передньокрайні щетинки передньоспинки; (B) *F. schultzei*: голова та передньоспинка; (C) *F. intonsa*: голова; (D) *F. fusca*: голова; (E) *Kakothrips robustus*: передньоспинка; (F) *Frankliniella tritici*: II і III членики вусика. (A) за Strassen (1986); (B–D), (F) за Palmer et al. (1989); (E) за Moritz (1994).

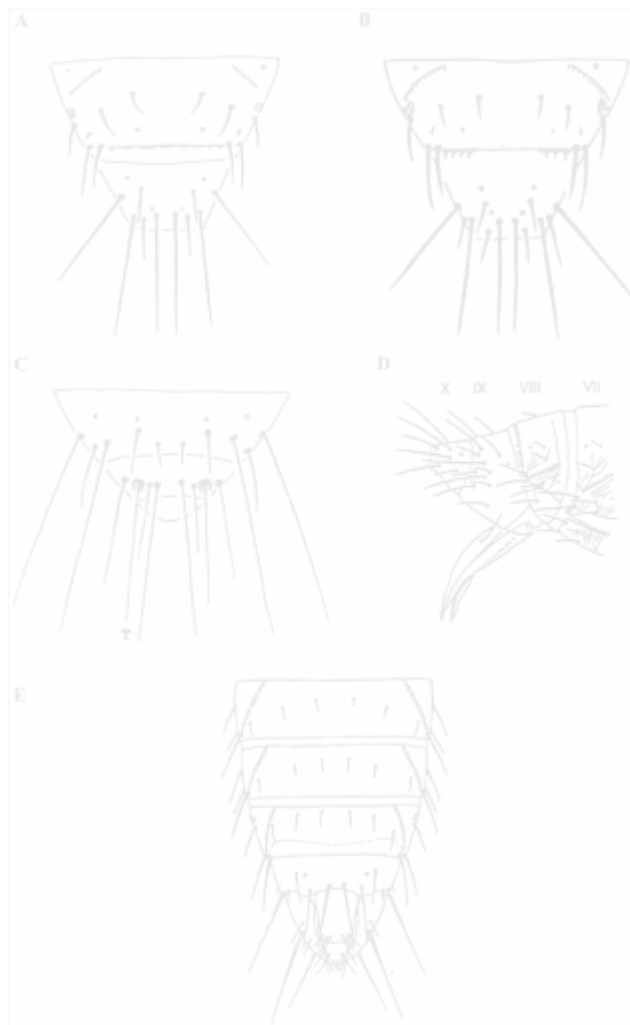


Рис. 3. (A) *F. fusca*: VIII–IX тергіти черевця; (B) *F. tritici*: VIII–IX тергіти черевця; (C) *Merothrips* sp. – IX і X тергіти з трихоботріями (Т); (D) трипс жіночої статі – VII–X тергіти з виразним яйцекладом – вид збоку; (E) трипс чоловічої статі – VI–X тергіти, вид зі спинного боку. (A–C) за Palmer et al. (1989); (D–E) за Zawirska (1994).

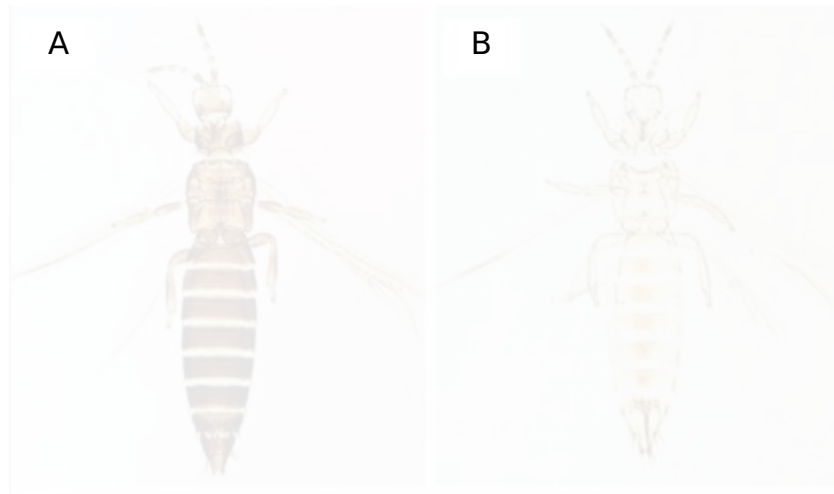


Рис. 4. Імаго *Frankliniella occidentalis* Perg. (самка)
А – темна форма, В – світла форма.



Рис. 5. *F. occidentalis* Perg.: розміщення міжочних щетинок (іо) та заочна щетинка (S4) що виступає за край голови.



Рис. 6. *F. occidentalis* Perg.: А – мікрохети на передньоспинці, В – задньоспинка з колоколовидними сенсілами.

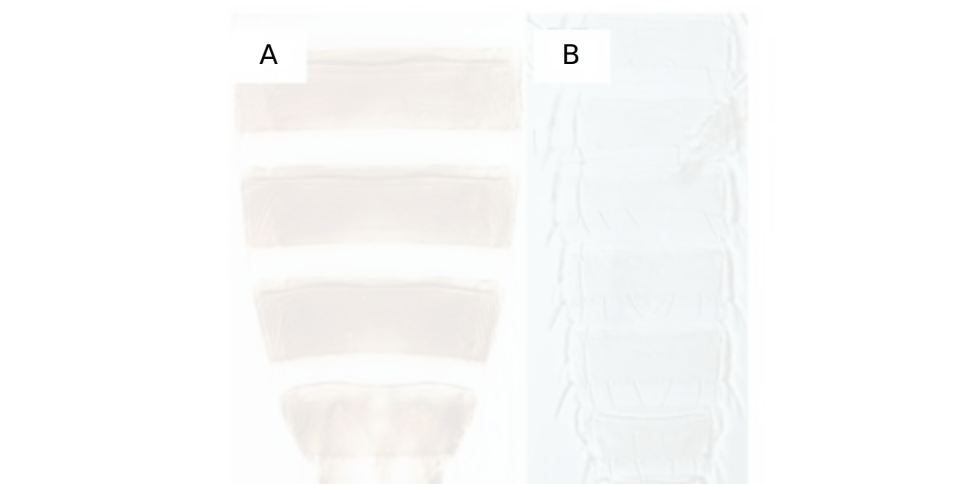


Рис. 7. *F. occidentalis* Perg.: А – тергіти черевця самки, В – стерніти черевця самця.



Рис. 8. *F. occidentalis* Perg.: VIII тергіт черевця з гребінцем.



Рис. 9. Вусик *F. occidentalis* Perg.



Рис. 10. Крило *F. occidentalis* Perg.

Тема заняття:
«Ентомологічна експертиза зерна та продуктів його переробки» (2 години)

Мета заняття: ознайомитись із методами ентомологічної експертизи зерна та продуктів його переробки, провести ентомологічну експертизу представлених зразків.

План:

1. Порядок підготовки проб для проведення ентомологічної експертизи зерна та продуктів його переробки.
2. Візуальний метод ентомологічної експертизи зерна та продуктів його переробки, проведення аналізу представлених зразків.
3. Флотаційний метод ентомологічної експертизи зерна та продуктів його переробки, проведення аналізу представлених зразків.
4. Форми звітності за результатами ентомологічної експертизи зерна та продуктів його переробки.
5. Карантинні і потенційно шкідливі види комах зерна та продуктів його переробки при зберіганні.

Теоретичні передумови:

Мета ентомологічної експертизи зерна та продуктів його переробки – виявити зараженість зразків карантинними чи іншими небезпечними шкідниками. З впевненістю не можна діагностувати зараженість матеріалу за пошкодженнями, тому слід намагатися знайти самого шкідника.

Принципи ентомологічної експертизи зерна та продуктів його переробки: ознайомлення з документацією походження рослинного матеріалу з метою визначення ймовірного його зараження карантинними шкідниками; встановлення ознак зараження певними стадіями шкідника рослинної продукції; врахування пори року та кліматичних особливостей країни-імпортера, походження рослинного вантажу з метою визначення можливої стадії розвитку в період його надходження; огляд підкарантинних рослинних матеріалів та пакувального матеріалу і тари.

Експертиза повинна проводитись таким чином, щоб не допустити пропусків неперевіреного матеріалу та виключити випадкове зараження чи забруднення зразків. Вкрай неможливим при цьому є плутанина з етикетками або змішування насіння із різних зразків. Наприклад, насінину, яка випадково випала із пакета на підлогу не можна класти назад у пакет, якщо немає повної впевненості, що вона з цього зразка. Її слід розрізати, перевірити, чи вона не заражена всередині шкідником, і знищити.

Навчальне обладнання: ваги лабораторні, комплект лабораторних сит з круглими отворами діаметром 1,0; 1,5 і 2,5 мм та решітного полотна (№ 56) з розміром отворів 0,56 мм та діаметром обруча 30 см; пристрій механізований для просіювання зерна та насіння; дошка для аналізу чи лотки, кювети,

ексгаустер (рис. 1); лупи; бінокулярний мікроскоп; термометр з похибкою вимірювання $\pm 1^{\circ}\text{C}$; пробірки, чашки Петрі, шпатель, совочок, пінцети, скальпель, голки препарувальні, щіточка, папір білий неглянцевий (ворсистий, фільтрувальний); скло розміром 20×30 см; шафа сушильна, стакани хімічні, ситечко з металевою чи капроною сіткою, натрій хлористий, натрій азотнокислий або калій азотнокислий.



- 1 – скляні трубки;
- 2 – гумова трубка;
- 3 – гумова пробка;
- 4 – кільце із лейкопластиру або ізоляційної стрічки для кріплення краю циліндра;
- 5 – ковпачок із шовкової чи капронової сітки;
- 6 – скляний циліндр.

Рис. 1. Ексгаустер

Інструктаж з техніки безпеки: студенти повинні дотримуватись правил безпечного поводження на робочому місці.

Питання та завдання для проведення попереднього контролю знань:

1. Які групи шкідливих організмів входять до «Переліку регульованих шкідливих організмів»?
2. Яких правил техніки безпеки необхідно дотримуватись під час огляду підкарантинних рослинних вантажоматеріалів?
3. Правила техніки безпеки при роботі з лабораторним обладнанням, реактивами.
4. З якою метою проводиться ентомологічна експертиза?

Завдання 1

Ознайомитись із порядком підготовки проб для проведення ентомологічної експертизи зерна та продуктів його переробки

Ентомологічній експертизі піддається середня проба, виділена з об'єднаної проби підкарантинного матеріалу, відібраної відповідно до методик відбору проб.

У ППКР середня проба аналізується відразу після виділення чи доставляється в карантинну лабораторію в щільній упаковці, яка не допускає розповзання із неї комах і кліщів, не пізніше, як через три доби від моменту

взяття. До аналізу середня проба повинна зберігатися в холодильнику чи прохолодному приміщенні не довше трьох діб.

Безпосередньо перед експертизою для активізації комах та кліщів і полегшення їх виявлення середню пробу витримують протягом 10-20 хв. у термостаті або приміщенні за температури від 20 до 25°C.

Завдання 2

Ознайомитись із візуальним методом ентомологічної експертизи зерна та продуктів його переробки, провести аналіз представлених зразків

Підготовлену до експертного аналізу середню пробу висипають на дошку для аналізу або лоток і ретельно переглядають. Виявлених при загальному огляді комах вибирають пінцетом у пробірки, а зерна чи шматочки інших продуктів з ознаками пошкодження – в окрему тару і щільно закупорюють.

Після загального огляду середню пробу висипають в комплект сит і просівають вручну протягом 1-2 хв. при 120 кругових рухах за хвилину або в механізованому пристрої згідно з інструкцією до нього.

Після просіювання схід з кожного сита окремо висипають на аналізну дошку, розрівнюють тонким шаром і розбирають шпателем, оглядаючи через лупу. Виявлених комах у будь-якій фазі розвитку вибирають у пробірки, а зерна чи інші продукти з явними ознаками пошкодження – в окрему тару і закупорюють.

Прохід із сит при невеликій кількості висипають в чашки Петрі і переглядають через лупу або під бінокулярним мікроскопом.

Прохід із сит від борошна, висівки та інших дрібних продуктів при великій кількості аналізують в 5-ти наважках по 20 г кожна. Для цього наважки висипають на білий не глянцева папір (фільтрувальний), вирівнюють шаром висотою близько 0,5 см і злегка придавлюють склом для одержання рівної поверхні. Через 5 хв. після зняття скла оглядають поверхню проходу із сит і за наявності здутин, слідів руху шкідників виявляють їх і вибирають. Після цього прохід підкарантинних продуктів обережно зсипають в кювет чи лоток, а комах, кліщів і їх личинок, що залишилися на папері, вибирають у пробірки ексгаустером, змоченими у воді щіточкою чи препарувальною голкою.

Відібрані зерна, крупинки, шматочки іншої продукції з ознаками пошкодження розрізають скальпелем і розтини оглядають через лупу. Виявлених у них личинок, лялечок чи імаго комах виймають препарувальною голкою в пробірки для ідентифікації. Для полегшення розрізання зерен чи насінин попередньо їх можна замочити у воді на декілька годин.

Усіх виявлених і зібраних у пробірки комах із середньої проби, а також доставлених із середньою пробою раніше зібраних комах із виїмок підраховують, окремо живих і мертвих, ідентифікують за визначниками до виду, умертвляють, забезпечують етикеткою і зберігають в пробірках чи

ентомологічних коробках як зразок-документ. Якщо неможливо визначити видову належність преімагінальних фаз комах, які знаходяться в живому стані, то подальшу їх ідентифікацію провадять біологічним методом, який описано нижче.

Використані сита після кожного аналізу знезаражують промиванням киплячою водою або прогривають в сушильній шафі за температури не менше ніж 80°C протягом 10 хвилин.

Завдання 3

Ознайомитись із флотаційним методом ентомологічної експертизи зерна та продуктів його переробки, провести аналіз представлених зразків

Флотаційний метод базується на здатності комах і заражених зерен (насіння) при зануренні у розчини солей спливати, у той час коли незаражені зерна (насінини) тонуть.

Від підготовленої до експертного аналізу і переглянутої середньої проби зерна (насіння) зернових або бобових культур відбирають підряд без вибору 300 цілих зерен.

Відібрані зерна залежно від їх величини висипають в один із розчинів солей: дрібнонасінні культури (просо, сорго, сочевиця тощо) – у 30% розчин хлористого натрію (кухонної солі); середньонасінні культури (пшениця, ячмінь, жито, горох, нут, чина, квасоля та ін.) – у 50% розчин азотнокислого натрію або калію (селітри); крупнонасінні культури (кукурудза, крупна квасоля, кормові боби, арахіс та ін.) – у насичений розчин азотнокислого натрію чи калію (селітри).

Температура всіх розчинів солей повинна бути в межах від 15 до 20°C. Висипані в розчини солей зерна після збовтування осідають на дно або випливають на поверхню. Всі зерна, які випливли нагору, вибирають ситечком чи пінцетом і розкладають на фільтрувальний папір для просихання.

Після просихання зерен їх оглядають під бінокулярним мікроскопом, розтинають скальпелем, препарувальними голками виймають виявлених усередині живих чи мертвих комах і за визначниками встановлюють їх вид.

У разі виявлення преімагінальних фаз розвитку комах (личинки, лялечки) в живому стані і неможливості повної їх ідентифікації подальше визначення проводять відповідно до біологічного методу.

Результати експертизи і виявлення карантинних та інших видів комах реєструють за формами протоколів.

Завдання 4

Ознайомитись із формами звітності за результатами ентомологічної експертизи зерна та продуктів його переробки

У разі виявлення в середній пробі карантинних та інших видів комах у протоколі експертизи, який оформлюють як окремий документ чи журнальний запис (табл. 1) і зберігають в ПКР чи лабораторії, в розділі «1.Ентомологічні об'єкти» вказують їх кількість за видами, стадіями розвитку і станом (живі чи мертві). Інші розділи протоколу експертизи заповнюють відповідні експерти після проведення ними фітопатологічної, гельмінтологічної, гербологічної експертизи.

Таблиця 1

Форма протоколу експертизиШтамп місця прибуття
й експертизи (ПКР)**ПРОТОКОЛ ЕКСПЕРТИЗИ № _____**

підкарантинного матеріалу від «_____» _____ р.

№ супровідного документа	Дата надходження матеріалу	Назва матеріалу, кількість проб	Походження і звідки прибув матеріал	Пункт призначення

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРТИЗИ

Виявлено об'єкти:

1. Ентомологічні _____
2. Фітопатологічні _____
3. Бактерологічні _____
4. Гельмінтологічні _____
5. Ботанічні _____
6. Вірусні _____

Дата і пункт відправлення матеріалу після експертизи _____

Зав. лабораторії _____
(Особистий підпис) (Розшифрування підпису)Експерти _____
(Особистий підпис) (Розшифрування підпису)

На основі протоколу оформлюють свідоцтво карантинної експертизи (табл. 2), яке видається власнику продуктів запасу із зазначенням видового

складу, кількості і стану виявлених шкідників чи інших об'єктів та рекомендують заходи для знезараження партії матеріалу.

Таблиця 2

Свідоцтво карантинної експертизи

СВІДОЦТВО КАРАНТИННОЇ ЕКСПЕРТИЗИ

№ _____ від _____ р.

Назва карантинної лабораторії _____

Видано _____

На супровідний лист № ____ – від _____ р.

Назва рослинного матеріалу та кількість зразків _____

Походження _____

Від кого надійшов матеріал _____

Пункт призначення _____

РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРТИЗИ _____

Рекомендовані заходи _____

Додаткові відомості _____

МП Зав. лабораторією _____

Особистий підпис, розшифрування підпису

« ____ » _____ р.

Завдання 5

Ознайомитись із карантинними і потенційно шкідливими видами комах зерна та продуктів його переробки при зберіганні

Таблиця 3

Карантинні і потенційно шкідливі види комах продуктів запасу

Українська назва комах	Латинська назва комах	З якими продуктами розповсюджується і шкодить
Шкіроїд ангустум	<i>Trogoderma angustum</i> (Sol.)	Зерно, насіння, сухофрукти, зернопродукти, спеції та ін.
Капровий жук	<i>Trogoderma granarium</i> (Ew.)	Зерно, насіння, сухофрукти, зернопродукти, спеції та ін.
Трогодерма стернале	<i>Trogoderma sternale</i> (Jayne)	Зерно, насіння, сухофрукти, зернопродукти, спеції та ін.

Єгипетський гороховий зерноїд	<i>Bruchidius incamatus</i> (Boh.)	Насіння та зерно бобових культур
Китайська зернівка	<i>Callosobruchus chinensis</i> (L.)	Насіння та зерно бобових культур
Чотирикрапкова зернівка	<i>Callosobruchus maculatus</i> (F.)	Насіння та зерно бобових культур
Арахісова зернівка	<i>Caryedon gonagra</i> (F.)	Переважно зерно арахісу
Бразильська бобова зернівка	<i>Zabrotes subfasciatus</i> (Boh.)	Зерно бобових культур
Ширококоботний комірний довгоносик	<i>Caulophilus latus</i> (Say.)	Насіння всіх культур, зерно і зернопродукти, сухофрукти
Білокаймовий жук	<i>Pantomorus leucoloma</i> (Dejean.)	Боби арахісу
Несправжній короїд багатодіний	<i>Dinoderus bifoveolatus</i> (Woll.)	Зерно, борошно та інші зернопродукти
Насіннева (арахісова) вогнівка	<i>Paralipsa gularis</i> (Zell.)	Боби арахісу, горіхи, мигдаль, сухофрукти
Картопляна міль	<i>Phthorimaea operculella</i> (Zell.)	Бульби картоплі
Азіатський багатодіний зерноїд	<i>Callosobruchus analis</i> (F.)	Насіння та зерно бобових культур
Індійська квасолева зернівка	<i>Callosobruchus phaseoli</i> (Gyll.)	Насіння та зерно бобових культур
Трогодерма сімплекс	<i>Trogoderma simplex</i> (Yayne)	Насіння, зерно, борошно, борошняні вироби, крупи, сухофрукти
Трогодерма грасмані	<i>Trogoderma grassmani</i> (Beal)	Насіння, зерно, борошно, борошняні вироби, крупи, сухофрукти
Трогодерма орнатум	<i>Trogoderma ornatum</i> (Say.)	Насіння, зерно, борошно, борошняні вироби, крупи, сухофрукти
Трогодерма лонгісетозум	<i>Trogoderma longisetosum</i> (Chae et Lee)	Насіння, зерно, борошно, борошняні вироби, крупи, сухофрукти
Трогодерма балфінхус	<i>Trogoderma ballfinchae</i> (Beal.)	Насіння, зерно, борошно, борошняні вироби, крупи, сухофрукти
Довгоносик злаковий	<i>Listronotus bonariensis</i> (Kusch)	Насіння і зерно злакових культур (трави, овес, ячмінь)

Бавовникова міль	<i>Pectinophora gossypiella</i> (Saund)	Насіння і волокно бавовника
------------------	---	-----------------------------

Контрольні питання:

1. Яких правил слід дотримуватись при відборі ентомологічних зразків зерна та продуктів його переробки?
2. Які методи ентомологічної експертизи зерна Ви знаєте?
3. Проведіть порівняльний аналіз різних методів ентомологічної експертизи зерна та продуктів його переробки, особливостей їх застосування.
4. Які документи слід оформити за результатами ентомологічної експертизи зерна?

Критерії оцінювання:

нарахування балів (до 2) здійснюється диференційовано в результаті відповіді на контрольні питання за підсумками виконання практичних завдань.

Рекомендована література**Базова**

1. Сикало О. О., Мовчан О. М., Устінов І. Д. Карантинні шкідливі організми. Ч. 2. Київ, 2005. 5–10 с.
2. Руководство по досмотру и экспертизе растительных и других подкарантинных материалов / под ред. А. А. Варшалович. М., 1972. 175 с.
3. Станкевич С. В. Методи експертизи підкарантинних матеріалів: навч. посібник. Харків, 2017. 55–59 с.
4. Ілюстрований довідник регульованих шкідливих організмів в Україні / Башинська О. В., Константінова Н. А., Пилипенко Л. А. та ін. К.: Урожай, 2009. 249 с.

Допоміжна

1. Методическое руководство по лабораторной экспертизе растительных материалов и почвы / под ред. Т. И. Роговая. М., 1960. 78–80 с.

Тема заняття:**«Методи мікологічної експертизи» (2 години)**

Мета заняття: ознайомитись із методами мікологічної експертизи, правилами стерилізації лабораторного посуду, приготування поживних середовищ для грибів, виготовлення мікропрепаратів, виділення грибів із рослинного матеріалу, провести мікологічну експертизу представленого рослинного зразка.

План:

1. Характеристика методів мікологічної експертизи.
2. Правила стерилізації поживних середовищ та посуду.
3. Правила підготовки лабораторного посуду.
4. Правила приготування поживних середовищ для грибів.
5. Правила виготовлення мікроскопічних препаратів.
6. Правила виділення грибів із різного рослинного матеріалу.

Теоретичні передумови:

Хвороба – це процес, в основі якого лежать взаємовідносини між рослиною, хвороботворним агентом, що спричиняє хворобу, і умовами зовнішнього середовища. Умови середовища можуть суттєво змінювати характер розвитку хвороби, і в деяких випадках за несприятливих для патогена умов хвороба взагалі може не проявитися.

З розвитком фітопатології як науки змінювалося і визначення хвороби. Найбільш загальноприйняте її визначення наведено в ДСТУ 4756:2007. Хвороба рослин – порушення нормального обміну речовин клітин, органів і цілої рослини, яка виникає під впливом фітопатогена чи несприятливих умов середовища, що призводить до зменшення її продуктивності. Хвора рослина являє собою своєрідну біологічну систему, в рамках якої проходить ріст і розвиток двох організмів – рослини і патогена, що співіснують на основі особливої взаємодії і регулюються умовами зовнішнього середовища. Залежним від того, кому належить провідна роль у цій взаємодії, буде і кінцевий результат.

Патологічний процес умовно поділяють на період до проникнення і після проникнення патогена, хоча ці періоди не завжди можна чітко розмежувати. Період до проникнення патогена в рослину характерний лише для фітопатогенних грибів і деяких квіткових паразитів. Для бактерій, вірусів, віроїдів і фітоплазмових організмів він не є характерним, бо взаємовідносини між рослиною та цими патогенами встановлюються лише після проникнення останніх у тканини рослини-живителя.

Проростання спор гриба – це період переходу від повного спокою до інтенсивної життєдіяльності. Метаболіти рослин, інших мікроорганізмів активно впливають на проростання спор фітопатогенних грибів. Це проростання значною мірою залежить від умов навколишнього середовища, що обумовлюють швидкість протікання цього процесу, а також впливають на спосіб, в який він відбувається. Патогени можуть проникати в рослину в результаті прямого проростання (безпосередньо через кутикулу й епідерміс), через природні отвори – продири, гідатоци, сочевички тощо, а також через

поранення. Особливе місце серед таких способів займає так зване непряме зараження – зараження через квітки, проростки, кореневі волоски, бруньки тощо.

Період після проникнення патогена в рослину і його подальше поширення в її тканинах залежить від багатьох факторів, зокрема від імунологічних властивостей рослини-живителя, патогенних властивостей збудника хвороби і умов навколишнього середовища. Взаємовідносини між патогеном і рослиною-живителем обумовлюють розвиток патологічного процесу – зміну морфологічних і фізіолого-біохімічних процесів, що тісно взаємопов'язані і взаємообумовлені. Ці зміни тривають упродовж інкубаційного періоду.

За умов його закінчення вони проявляються у вигляді симптомів хвороби, а саме у порушенні росту рослин (карликовість, вкорочення міжвузлів), зміні форми всієї рослини або окремих її органів та анатомо-морфологічних змін (у вигляді різних деформацій рослин та їх окремих органів – заляльковування, утворення розеток, кучерявості, ниткоподібності і папоротеподібності листя, гіпертрофії, гіпоплазії, дегенерації й склеротинізації клітин, аномалії генеративних органів, некрозу флоєми, паренхіми, розриву епідермісу, мацерації тканин тощо).

Патофізіологічні зміни проявляються також у порушенні водного режиму, фотосинтетичної активності та вуглеводного обміну, процесу дихання рослин тощо. При цьому патологічний процес є причиною некрозу паренхіми, флоєми, ксилеми, склеротинізації окремих клітин рослин, розривів епідермісу, мацерації тканин та ін.

Хвороба може призвести до відмирання окремих органів рослини, а інколи й до загибелі цілих посівів, насаджень. Хвороби сільськогосподарських культур спричиняють значні недобори та втрати врожаю. Шкода від них може бути як відкритою, так і прихованою, знижується як кількість, так і якість врожаю. Так, у світовому масштабі ці втрати становлять понад 30 млрд. доларів, близько 16% вартості валового врожаю. Середньорічний недобір світового урожаю зернових культур становить близько 26 млн. т (цією кількістю зерна щорічно можна було б нагодувати близько 100 млн. осіб). У результаті розвитку хвороб недобір урожаю цукрових буряків в Україні щороку становить понад 900 тис. т. Середньорічні недобори і втрати врожаю картоплі лише від фітофторозу становлять в Україні 10% від валових зборів, тобто близько 1 млн. т бульб.

Своєчасні й ефективні захисні заходи проти хвороб є величезним резервом підвищення врожайності сільськогосподарських культур, збільшення валових зборів, підвищення якості вирощеної продукції. Тому знання, що стосуються взаємовідносин рослин з фітопатогенами, біоекологічних особливостей збудників хвороб, місця їх резервації і шляхів поширення інфекції, прогнозу розвитку хвороб залежно від погодних умов дають можливість своєчасно планувати та проводити ефективні заходи захисту рослин, обґрунтовувати доцільність використання організаційно-господарських, агротехнічних, фізико-механічних, хімічних та біологічних

засобів залежно від фітосанітарного стану посівів. При цьому створюється можливість вибору і використання для умов конкретного господарства районованих стійких проти хвороб сортів та гібридів сільськогосподарських культур. Створення сортів і гібридів культурних рослин, стійких проти хвороб, є найбільш радикальним, екологічно чистим і економічно вигідним методом захисту, що суттєво зменшує обсяги застосування пестицидів і сприяє оздоровленню довкілля.

Основна мета карантинної мікологічної експертизи рослинних матеріалів – виявлення хвороб рослин, збудників яких внесено до «Переліку регульованих шкідливих організмів», які мають карантинне значення в Україні, а також й інших видів, що можуть завдати значної шкоди сільському господарству у разі занесення на територію країни. Тому при мікологічній експертизі визначають усі шкідливі організми (гриби, бактерії, віруси) для вчасного здійснення відповідних заходів.

Навчальне обладнання: лупа, бінокляр, мікроскоп, піднос, білий папір, насіння, фітопатологічний гербарій, уражені плоди, чашки Петрі, фільтрувальний папір, дистильована вода, 96% розчин спирту, термостат, центрифуга, холодильник, водяна баня, пінцети, ножиці, спиртівка, вата, корок, препарувальні голки, петлі для пересівання, пробірки, колби, хімічні склянки, кристалізатори, мірні циліндри, піпетки, предметні і покривні скельця, скальпель, леза, агар, картопля, желатин, гліцерин.

Інструктаж з техніки безпеки: студенти повинні дотримуватись правил безпечного поводження на робочому місці.

Питання та завдання для проведення попереднього контролю знань:

1. Які хвороби входять до «Переліку регульованих шкідливих організмів»?
2. Яких правил техніки безпеки необхідно дотримуватись під час огляду підкарантинних рослинних вантажоматеріалів?
3. Правила техніки безпеки при роботі з лабораторним обладнанням, реактивами.
4. З якою метою проводиться мікологічна експертиза?

Завдання 1

Ознайомитись із характеристикою методів мікологічної експертизи

Ознайомитись з основними методами мікологічної експертизи, необхідними матеріалами та обладнанням, порядком і правилами їх проведення. Провести порівняльний аналіз основних методів за формою таблиці 1.

При проведенні мікологічної експертизи застосовують такі методи: макроскопічний, центрифугування, біологічний.

Для точних досліджень використовують й інші методи – люмінесцентний, серологічний.

Макроскопічний метод. Експертиза кожного рослинного матеріалу розпочинається із зовнішнього огляду. При цьому використовують лупу, бінокляр, мікроскоп.

Зразок рослинного походження висипають на піднос або листок білого паперу і розглядають під лупою. Насіння з плодоношеннями грибів (подушечками, пікнідами, перитеціями тощо) відбирають для мікроскопічного дослідження для ідентифікації збудника хвороби.

Щуплі деформовані зразки з підозрою на внутрішню інфекцію, що не проявляють зовнішніх ознак, відбирають і досліджують біологічним методом, а саме: закладаючи у вологу камеру для отримання спороношення. Якщо утворюється тільки міцелій, без спороношення, то його пересівають на поживне середовище з метою отримати чисту культуру й ідентифікувати виявлений гриб.

В окремих випадках при зовнішньому огляді можна відразу за плямистостями, виразками, розривами ідентифікувати види захворювань, наприклад: іржу, сажку та ряд інших.

Надмірне розростання тканин, патологічні зміни у різних частинах рослин (бульбах, цибулинах, насінні та ін.), на яких відсутнє спороношення грибів досліджують біологічним методом.

Макроскопічний метод (за Ковальчуком) застосовують для візуального виявлення хвороб при зовнішньому огляді рослинної продукції, продуктів їх переробки, а також сажкових утворень, спор, склероціїв у насінні. Для цього використовують лупу, бінокляр, мікроскоп.

Оглядаючи зразки рослинної продукції, зовні можна виявити плямистості, виразки, розтріскування, шорсткість, надмірне розростання тканин (пухлини), різного кольору спороношення.

Користуючись лупою або бінокляром, на ураженій поверхні вегетативних частин рослин (листочках, стеблах, насінні, коренях, квітках тощо) можна виявити плодове тіла грибів (перитеції, пікніди, подушечки тощо).

Метод центрифугування використовують у разі необхідності встановити зараження поверхні насіння спорами грибів, наприклад, сажкою, іржею та іншими.

Суть аналізу полягає в тому, що відібрані за зовнішнього огляду підозрювані зернини засипають у колбу чи пробірку, заливають водою на 1 см вище рівня насіння, струшують необхідну кількість хвилин. Воду зливають у центрифужні пробірки і центрифугують при 600 обертах за хвилину від 1 до 5 хв.

Спори осідають на дно пробірки. Надосад зливають, а з осаду роблять мікроскопічні препарати для ідентифікації виявлених грибів.

Цей метод використовують і для аналізу ґрунту на виявлення зооспоангіїв раку картоплі.

Метод центрифугування (за Ковальчуком). Ним користуються для виявлення збудників захворювань на поверхні підкарантинного матеріалу. Для аналізу із різних місць вихідного, середнього чи кількох зразків відбирають від 5 до 25 г – 200 шт. насінин з різними ознаками уражень. Відібране насіння висипають у колбу, велике (кукурудза, квасоля та ін.) – у дві колби, заливають водою по 20 мл (1 центрифужна пробірка) і струшують.

Насіння з гладенькою поверхнею (пшениця, кукурудза) струшують 5 хв.; з шорсткою (бурак) – 10 хв.; насіння льону – 1 хв.

Після струшування воду виливають у пробірки і центрифугують при 600 обертах за хвилину від 1 до 5 хв.

Надосад зливають, а з осаду однієї пробірки виготовляють 5 препаратів й ідентифікують виявлені гриби.

Термостат тримають у чистоті. Для цього його миють гарячою водою і дезінфікують формаліном: у скляну чашку наливають 40% розчин формаліну і ставлять відкритою у термостат, щільно закриваючи його на 10-12 год. Потім чашку забирають, а термостат добре провітрюють протягом (6 год.) або кожних 10 днів. Термостат миють гарячою водою з миючими розчинниками, дезінфікують 1% розчином марганцевокислого калію, потім обробляють бактерицидною лампою протягом 30 хв., або протирають 96% спиртом.

Щомісяця термостат дезінфікують. Частіше користуються бактерицидною лампою 8 годин (цей варіант більш прийнятний).

Біологічний метод застосовують для виявлення у рослинному матеріалі грибної, частіше – внутрішньої інфекції. У цьому разі створюють оптимальні умови для росту, розвитку та спороношення грибів.

Цей метод має кілька форм, з яких найчастіше використовують дослідження рослинного матеріалу з витриманням його у вологій камері або на поживному середовищі. Як вологу камеру використовують чашки Петрі зі зволженим фільтрувальним папером.

Дно кожної чашки вкривають двома кружками фільтрувального паперу. Після цього чашки закривають, загортають кожну окремо в папір і стерилізують.

Перед тим як покласти досліджуваний матеріал у чашки, фільтрувальний папір зволожують стерильною або шойно кип'яченою водою (до 30 хв. у колбі, закритій ватно-марлевым корком), для чого кришку відкривають з одного боку. Воду для зволоження беруть у такій кількості, щоб папір був рівномірно зволожений і не було надлишку води на його поверхні.

Робоче місце і все обладнання мають бути попередньо продезінфіковані. Якщо метою аналізу є виділення грибів з поверхні зразка, то його вміщують у вологу камеру без дезінфекції.

За необхідності виявлення внутрішньої інфекції зразок дезінфікують, занурюючи на 1 хв. в 96% розчин спирту, після чого обсушують між двома листками стерильного фільтрувального паперу або в 1% розчині марганцевокислого калію з подальшим промиванням у стерильній воді. Чашки Петрі з розкладеним зразком загортають у папір, в якому вони

стерилізувались. На папері пишуть етикетку (№ протоколу). Такі надписи інколи роблять не на папері, а на кришці чашки Петрі. Після цього чашки Петрі ставлять у термостат і підтримують відповідну температуру. При появі на поверхні матеріалу спороношення гриба, його ідентифікують. При появі у вологій камері лише міцелію, його пересівають на поживне середовище для отримання спороношення гриба.

Висівання на поживні середовища використовують для виявлення внутрішньої інфекції. Поживне середовище підігривають на водяній бані. Після того, як воно стає рідким, його розливають у стерильні чашки Петрі шаром 3-5 мм.

Під час переливання в чашку кришку злегка піднімають тільки з одного боку, щоб з повітрям у неї не потрапили спори інших грибів та бактерій. Обережно повертаючи чашку, розподіляють поживне середовище по дну, ставлять на горизонтальну поверхню і дають вмісту застигнути. Лише після цього на нього викладають зразок. За необхідності встановити внутрішню інфекцію зразок попередньо дезінфікують. Дезінфікують також місце і обладнання, за допомогою якого здійснюються дослідження. Під час роботи обладнання (пінцет) пропалюють на вогні спиртівки.

Для швидкого виявлення прихованої інфекції попередньо продезінфікований зразок розрізують навпіл скальпелем і розрізану поверхню кладуть на поживне середовище. Після цього чашку загортають у папір, в якому вона стерилізувалась, підписують і ставлять у термостат на відповідний час з температурою.

На 3-5-й день розвитку гриба міцелій із зразка переходить на поживне середовище і утворює колонії. Чашку Петрі повертають нижнім боком до об'єктива біокуляра при збільшеннях 10×, 8× і спостерігають за ростом колоній та початком появи спороношення. Коли утворюється дозріле спороношення, за допомогою мікроскопічного дослідження ідентифікують збудника.

Для детального вивчення та збереження збудника слід виділити чисту культуру. Для цього гриб пересівають з чашки на поживне середовище у пробірку. Пробірку з поживним середовищем тримають між великим та вказівним пальцями так, щоб вона була майже в горизонтальному положенні. Ватний корок виймають і затискають мізинцем у долоні правої руки, щоб його частина, що знаходиться всередині пробірки, не торкалась руки. Край пробірки обпалюють над полум'ям спиртівки і прожареною, трохи охолодженою, голкою переносять із чашки на поверхню поживного середовища частину міцелію зі спорами.

Край пробірки та нижню частину знову обпалюють і закривають ватним корком, попередньо обпаленим у полум'ї спиртівки.

Якщо поживне середовище в чашках Петрі засмічене іншими мікроорганізмами, гриб відділяють від них методом розливання і тільки після цього для отримання чистої культури пересівають на поживне середовище у пробірку.

Метод розливання полягає у тому, що стерильною голкою беруть з чашки Петрі частини міцелію зі спорами гриба і переносять у пробірку з розплавленим поживним середовищем, температура якого не перевищує 50°C.

Пробірку закривають корком, обертають її між долонями, щоб частинки міцелію та спори розійшлися на поживному середовищі. Потім його виливають у стерильну чашку Петрі.

Коли з'являються окремі колонії гриба, їх пересівають у пробірки на поживне середовище. Найкращим середовищем для початкових пересівів грибів є 1 % картопляно-глюкозний агар.

У разі засмічення первинного пересіву культури гриба, надалі використовують метод розливання для виділення гриба. Поживне середовище розливають у чашки Петрі і дають йому застигнути. З пробірки із засміченою культурою переносять частини міцелію та спори гриба у пробірку зі стерильною водою. Закривши пробірку корком, обертають її між долонями, щоб частини міцелію і спори розійшлися у воді. Потім краплі цієї води стерильною петлею наносять на поверхню застиглої у чашці Петрі поживного середовища.

Через кілька днів спостерігають за ростом гриба, оглядаючи чашки з нижнього боку під біокуляром. У разі появи окремих колоній їх пересівають на поживне середовище у пробірки.

Для отримання окремих колоній гриба у чашки Петрі, на тверде поживне середовище наливають на 1-2 хв. стерильну воду і швидко зливають. Вода містить невелику кількість спор. Через 2-3 дні чашки оглядають з нижнього боку під біокуляром, знаходять окремі спори, обводять ці місця тушшю і в міру утворення колоній пересівають їх у пробірки на поживне середовище.

Люмінесцентний метод полягає у тому, що рослинні тканини у синьо-фіолетових чи ультрафіолетових променях починають яскраво люмінесцювати.

Майже всі рослинні тканини під час обстеження у цих променях мають первинну люмінесценцію, що відрізняється у здорових та заражених грибом тканинах однієї рослини кольором свічення. Для детального мікроскопічного дослідження матеріал попередньо обробляють спеціальними реактивами, наприклад, флюорохромами, що викликають так звану вторинну люмінесценцію. Це дає можливість спостерігати диференційну, більш яскраву люмінесценцію окремих частин клітин (спори, міцелій).

Люмінесцентний метод використовують для аналізу ураженості насіння хворобами. Насіння, відібране для аналізу, розкладають на чорний папір, кладуть під ультрафіолетовий освітлювач і переглядають. Здорове насіння пшениці світиться синьо-блакитним або синьо-фіолетовим кольором, а насіння, уражені сажкою, залишаються темними (тьмяними). Насіння кукурудзи, уражені фузаріозом, відсвічують оранжевим або малиновим кольором, а здорове насіння сої – світло-блакитним.

Таблиця 1

Методи мікологічної експертизи

Методи мікологічної експертизи	Матеріали та обладнання	Методика проведення

Завдання 2**Ознайомитись із правилами стерилізації поживних середовищ та посуду**

Існує кілька способів стерилізації: високою температурою, текучою парою, парою під тиском та сухим жаром.

Поживні середовища для культивування грибів стерилізують текучою парою або під тиском. Стерилізація текучою парою здійснюється в апараті Коха чи автоклаві одну годину три дні підряд. Стерилізацію парою під тиском застосовують за необхідності температури понад 100°C і проводять в автоклаві під тиском від 1,0 до 1,5 атм.

Чашки Петрі та інший лабораторний посуд стерилізують сухим жаром у сушильній шафі за температури 120-130°C дві години. Перед стерилізацією кожен чашку загортають у папір. При завантаженні між посудом та стінками сушильної шафи залишають проміжки, щоб температура скрізь була однаковою. Виймають простерилізований посуд після того, як сушильна шафа охолоне.

Пінцети, скальпелі, ножиці та інші інструменти для знезараження проводять декілька разів через полум'я спиртівки, попередньо занурюючи їх у спирт.

Голки, петлі для пересівання стерилізують, також обпалюючи у полум'ї спиртівки, але попередньо у спирт не занурюють. Спочатку прогрівають металеву частину голкотримача, провівши її горизонтально в полум'ї пальника, після цього голку чи петлю тримають вертикально над полум'ям, доки дріт не досягне червоного розжарювання тричі.

Завдання 3**Ознайомитись із правилами підготовки лабораторного посуду**

Лабораторний посуд для мікологічних аналізів має бути чистим і знежиреним. Щоб перевірити, чи добре він вимитий, його слід сполоснути водою і перевернути догори дном. Із чистого посуду вода стікає, залишаючи на стінках тонку рівну водяну плівку. Якщо на склі залишаються окремі краплі – це означає, що воно забруднене.

Новий скляний посуд, а також предметні скельця перед використанням кип'ятять в 1% розчині соляної кислоти, після чого ретельно промивають водою. Посуд із рештками поживних середовищ на добу замочують у розчині каустичної соди, а потім обробляють хімічно, найчастіше використовуючи хромову суміш або марганцевокислий калій.

Для виготовлення хромової суміші на 1 л води беруть 50 г двохромового калію і 100 г технічної сірчаної кислоти. Хромову суміш заливають у посуд на 1/4 об'єму, обережно обмивають нею стінки, нахилиючи та повертаючи посуд в усі боки. Після цього повільно виливають у банку, в якій вона зберігається.

Хромову суміш можна використовувати багаторазово. Вона стає непридатною, коли змінює колір з оранжево-червоного на зелений. Користуючись нею слід дотримуватися правил техніки безпеки з хімічними препаратами. Речовина отруйна, містить у своєму складі сірчану кислоту, може спричинити опіки, псувати одяг, взуття. Місця, на які потрапляє хромову суміш слід негайно промити спочатку слабким розчином лугу (соди чи іншим), а потім водою.

Марганцевокислий калій для миття посуду застосовують у вигляді 4-5% розчину з додаванням невеликої кількості концентрованої сірчаної кислоти: на 100 мл розчину марганцевокислого калію – 3-5 мл сірчаної кислоти. Посуд цим розчином мють так само, як і хромовою сумішшю. Розчин марганцевокислого калію може залишати на стінках бурий наліт, який виводять за допомогою соляної чи щавлевої кислоти. Після цього посуд ретельно мють водою.

Працюючи з підкисленим розчином марганцевокислого калію, слід також дотримуватися правил техніки безпеки. Відпрацьований розчин виливають і повторно не використовують.

Посуд, вимитий хромовою сумішшю чи розчином марганцевокислого калію, ополіскують не менше 5-6 разів водопровідною, а потім – дистильованою водою. Після миття його висушують, розкладаючи на спеціальній дошці за кімнатної температури, або в сушильній шафі за температури 50°C.

Для миття використаних покривних і предметних скельць застосовують хромову суміш. Скельця кладуть у скляний або емальований посуд і заливають цією сумішшю на 1-2 години, після чого кілька разів змивають водою, а потім промивають під проточною водою 2-3 години. Після промивання їх заливають гарячою водою і насухо витирають м'якою ганчіркою. Дуже жирні скельця протирають очищеним бензином і промивають водою. Не можна використовувати для миття лужні розчини, бо скельця від них мутніють.

Зберігати чисті предметні скельця рекомендують у закритому ексікаторі, покривні скельця – у 96% спирті в маленькому скляному боксі, або ретельно витерті в коробочках.

Завдання 4

Ознайомитись із правилами приготування поживних середовищ для грибів

Ознайомитись із правилами приготування та компонентним складом поживних середовищ для грибів, приготувати поживне середовище.

Для виділення грибів із рослинного матеріалу та їх культивування використовують різноманітні тверді поживні середовища рослинного і синтетичного походження. Тверді середовища отримують, додаючи до них агар або желатин.

Агар – продукт переробки морських водоростей. Для виготовлення поживних середовищ беруть 2-4% розчин. Агарові середовища готують таким чином. У колбу наливають половину необхідної для виготовлення середовища кількості води. Агар нарізують дрібними шматочками і замочують у колбі з водою протягом 3-4-х годин. Після цього колбу з розчином нагрівають в апараті Коха або на водяній бані до повного розплавлення. Коли маса стає однорідною, до неї додають розчинені у воді інші складові середовища згідно з рецептом. Воду доливають до потрібного об'єму і стерилізують паром під тиском або текучою паром.

Пробірки із середовищем та колби не можна виймати з автоклава чи апарата Коха одразу після закінчення стерилізації. При швидкому охолодженні на поверхні середовища та на стінках посуду утворюються краплі води. Щоб цього уникнути, додають 2% розчин желатину.

Агарові середовища здебільшого не просвітлюють, але за необхідності користуються таким методом. Білок курячого яйця (з розрахунку на 1 л води) збивають до появи легкої піни і вливають у тепле, але негаряче середовище. Отриману суміш доводять до кипіння і варять 10 хв. Спочатку її фільтрують через марлю або вату, видаляючи згустки білка. Потім проціджують через лійку для гарячого фільтрування або в нагрітому апараті Коха через звичайний паперовий фільтр.

Желатин – продукт тваринного походження. У поживні середовища додають 10-12% його розчин.

Згідно з рецептурою у воді розчиняють складові і нагрівають до 60°C в апараті Коха, додаючи желатин. Розчин вимішують скляною паличкою до повного розчинення желатину. За необхідності желатинові середовища просвітлюють, як і агарові.

Позитивною ознакою желатинових середовищ є їх прилипання до скла та прозорість, що дає змогу спостерігати за ростом колоній. Вони розтають уже за температури 24-26°C і не застигають у разі сильного нагрівання під час приготування та при сильно кислій реакції. Тому частіше користуються агаровими. Готові поживні середовища зберігають у колбах або у пробірках.

Корки виготовляють з білої вати. Вату розкладають на столі, розрівнюють у вигляді видовженої чотирикутної смуги. Щоб отримати стрічку завширшки до 5 см, краї загинають усередину і туго скручують валик, рівний діаметру пробірки. Корок має щільно входити у пробірку на 2 см й достатньо легко вийматися. Зверху залишають не менше 1/3 його

довжини. Кінець ватного корка, який заходить у пробірку, рекомендується обгортати марлею.

Середовища розливають до їх застигання. Щоб не намочувати краї стінок посуду, скляну лійку вставляють у штатив, на її кінець одягають вузьку гумову трубку із затискачем та скляною трубкою. Лійку заповнюють поживним середовищем і, ослабляючи затискача, наливають потрібну кількість речовини. У пробірки наливають 4 мл розчину, якщо вони мають бути з косо застиглим середовищем (косячком), та 8 мл, якщо призначені для подальшого розливання в чашки Петрі. Пробірки закривають, ставлять вертикально в металеве відро і вміщують для стерилізації в автоклав чи апарат Коха. Для того, щоб під час стерилізації вони не намокли, їх у відрі зверху щільно закривають папером. Після стерилізації пробірки з середовищем, висіяним на косу, ставлять під відповідним нахилом і залишають так до повного його застигання, збільшуючи таким чином площу розвитку міцелію, що спрощує спостереження.

Пробірки з поживним середовищем використовують протягом місяця. Залишок його стерилізують повторно, оскільки можливе засмічення мікроорганізмами. Для контролю простерилізоване поживне середовище вміщують на три дні в термостат за температури 25-28°C.

Поживні середовища зберігають за кімнатної температури в спеціально виділеній шафі. Для запобігання висиханню ватні корки, якими закриті колби та пробірки, обгортають паперовими ковпачками і закріплюють гумовими кільцями. Нижче подано рецепти найпоширеніших поживних середовищ.

Картопляний агар

Склад: 200 г картоплі, 20 г агару, 1000 мл води.

Приготування: 200 г вимитої, очищеної і нарізаної дрібними шматочками картоплі заливають 500 мл води і кип'ятять 40 хв. Рідину зливають і фільтрують через папір, до неї додають 500 мл води, в якій попередньо розчиняють 20 г агару. Отриманий об'єм доводять до 1000 мл і на кінчику скальпеля додають лимонну кислоту. Після цього картопляний агар розливають у пробірки і стерилізують в автоклаві під тиском 1 атм 20 хвилин, або в апараті Коха текучою парою годину три дні підряд.

Картопляно-глюкозний агар (1% і 2%)

Готують і стерилізують, як і картопляний, лише перед розливанням у пробірки додають для стерилізації відповідно (1 чи 2%) розчин глюкози.

Сусловий агар

Цукрометром визначають кількість цукру в пивному суслі (нехмільному), розбавляючи його водою (приблизно на 50%), доводять концентрацію цукру до 5-7%. У розбавлене сусло додають 2% агару і нагривають в апараті Коха до повного його розчинення.

Після цього середовище розливають у пробірки і стерилізують так само, як картопляний агар.

Картопляний желатин

Склад: 100 г картоплі, 50 г желатину, 500 мл води.

Приготування: 100 г вимитої очищеної картоплі розрізують на дрібні шматочки, заливають 500 мл води і кип'ячать протягом 40 хв. Отриману рідину фільтрують через папір, об'єм відновлюють, додають 50 г желатину і підігривають рідину в апараті Коха, доки желатин не розплавиться. Після цього картопляний желатин розливають у пробірки і стерилізують текучою парою годину два дні підряд.

Середовище Чапека

Склад: азотнокислий натрій – 2 г; фосфорнокислий калій однозаміщений – 1 г; сірчаноокислий магній – 0,5 г; KCl – 0,5 г; FeSO₄ – 0,01 г; цукор – 30 г; агар – 20 г; вода – 1000 мл.

Приготування: сіль і цукор розчиняють у гарячій воді, розчин фільтрують через паперовий фільтр, додають 20 г агару і стерилізують в автоклаві під тиском 1 атм 15 хв. або текучою парою по годині три дні підряд.

Стерилізована картопля

Приготування: картоплю добре миють, очищають шкірку, нарізують циліндри завдовжки 4-5 см і опускають по одному в пробірку, на дно якої кладуть зволожену вату завтовшки 1,5 см. Стерилізують 30 хв. в автоклаві під тиском 1 атм або текучою парою протягом години три дні підряд.

Стебла буркуну

Приготування: стебла буркуну замочують у воді; через добу розрізують на відрізки завдовжки 5 см. У пробірки на дно кладуть вату до 1,5 см і розкладають по одному нарізаному стеблу рослини, все заливають 3 мл води. Стерилізують стебла так само, як і циліндрики картоплі.

Рис

Склад: 1 частина рисової крупи, 2 частини води.

Приготування: рисову крупу засипають в пробірку чи колбу, заливають водою і стерилізують текучою парою годину три дні підряд.

Завдання 5

Ознайомитись із правилами виготовлення мікроскопічних препаратів

Ознайомитись із правилами виготовлення мікроскопічних препаратів, приготувати мікропрепарати та провести мікроскопічне дослідження збудників хвороб у представленому рослинному матеріалі.

Тимчасові препарати. Інфекцію зі зразка вміщують у краплю води, нанесену на чисте предметне скло, і обережно накривають покривним скельцем. Вода при цьому не повинна виходити за краї покривного скла, а її залишок збирають фільтрувальним папером.

Постійні мікропрепарати. Для отримання постійного мікропрепарату його фіксують в гліцерин-желатині, який готують таким чином: у колбу кладуть 17 г желатину і заливають 100 мл води, залишаючи на кілька годин. Після цього колбу з желатином підігривають, додають 117 г чистого гліцерину і 0,1 г фенолу. Цю суміш просвітлюють, вливаючи білок одного сирого курячого яйця в невелику кількість охолодженої суміші. Сюди ж додають і

решту теплого (не гарячого) гліцерин-желатину. Скляною паличкою перемішують до однорідної суміші і нагрівають до кипіння.

Блок під час кипіння згортається, захоплюючи всю каламуть, і рідина стає зовсім прозорою. Блок відфільтровують через вату, вкладену в лійку для гарячого фільтрування. Прозорий гліцерин-желатин розливають у невеликі плоскодонні пробірки і закривають корками. Перед використанням його розріджують на водяній бані.

Досліджуваний матеріал вміщують у краплину гліцерин-желатину, нанесену на предметне скло, і обережно накривають покривним скельцем.

Постійний мікропрепарат можна приготувати й іншим чином. Для цього на сухе предметне скло наносять невеликий шматочок твердого гліцерин-желатину і обережно підігривають його над полум'ям спиртівки. Коли він стане рідким, в нього кладуть досліджуваний матеріал і накривають покривним склом. Постійний препарат також можна зробити з тимчасового.

Для кращого зберігання постійні мікропрепарати окантовують з боків покривного скла спеціальним або безбарвним лаком. На склі мікропрепарату роблять постійний напис тушшю, або приклеюють етикетку. Місце з написом підігривають над полум'ям спиртівки до появи білої пари, щоб туш добре пристала до скла. Над полум'ям належить тримати тільки частину скла з написом, інакше можна розплавити гліцерин-желатин.

Завдання 6

Ознайомитись із правилами виділення грибів із різного рослинного матеріалу

Насіння. Увесь зразок насіння тонким шаром висипають на розбірну дошку чи папір і оглядають за допомогою лупи. Все насіння, на поверхні якого є спороношення, відбирають і за мікроскопічного дослідження ідентифікують виявлені гриби. При зовнішньому огляді можуть бути знайдені на насінні різні типи спороношень. Аналіз насіння здійснюють методом центрифугування. Якщо неможливо одразу ідентифікувати гриби, то аналіз проводять біологічним методом.

Плоди. На поверхні плоду можуть бути спороношення грибів, які одразу ідентифікують шляхом мікроскопічного дослідження.

Якщо неможливо одразу ідентифікувати гриби, то аналіз здійснюють біологічним методом. Для цього плід дезінфікують 96% спиртом, розрізують скальпелем і вміщують у вологу камеру. Якщо гриби через кілька днів не утворюють спороношення, то міцелій пересівають на поживне середовище.

Підземні органи рослин. При виділенні грибів із внутрішніх тканин підземних органів рослин користуються тими самими методами, як і на плодах, тільки перед дослідженням їх ретельно відмивають водою від ґрунту.

З поверхні листків та стебел гриби виділяють так само, як і з поверхні плодів. У разі неможливості ідентифікації гриба одразу беруть невелику частину листка з плямами, опускають на 2-3 секунди в спирт, кілька разів

промивають стерильною водою. Потім на предметному склі стерильними голками розщеплюють його на дрібні шматочки і закладають у вологу камеру чи на поживне середовище. Стебла розрізують на шматочки і теж вміщують у вологу камеру чи висівають на поживне середовище.

Обладнання. Для мікологічних аналізів слід мати відповідне обладнання і спеціальну апаратуру, а саме: бінокляр, лупу, мікроскоп, центрифугу, термостат, сушильну шафу, автоклав, апарат Коха, бактерицидну лампу, холодильник та ін.

Крім того необхідний і дрібний інструментарій: бритви, скальпелі, голки, пінцети, петлі для пересівання грибів, лабораторний посуд (хімічні, центрифужні, біологічні пробірки, колби різної місткості, чашки Петрі, предметні і покривні скельця, годинникові скельця, хімічні склянки різної місткості, кристалізатори, мірні циліндри, крапельниці, піпетки, скляні лійки і палички, спиртівки, фарфорові ступки, набір ґрунтових сит, штативи для пробірок, лопаточки, кювети, вата, марля, фільтрувальний папір та ін.).

Контрольні питання:

1. Які методи мікологічної експертизи Ви знаєте?
2. Проведіть порівняльний аналіз різних методів мікологічної експертизи, особливостей їх застосування.
3. Як проводять стерилізацію лабораторного посуду?
4. Які компоненти використовують для приготування поживних середовищ?
5. Як виготовити тимчасовий та постійний мікропрепарат?

Критерії оцінювання:

нарахування балів (до 2) здійснюється диференційовано в результаті відповіді на контрольні питання за підсумками виконання практичних завдань.

Рекомендована література

Базова

1. Сикало О. О., Мовчан О. М., Устінюк І. Д. Карантинні шкідливі організми. Ч. 2. Київ, 2005. 5–10 с.
2. Руководство по досмотру и экспертизе растительных и других подкарантинных материалов / под ред. А. А. Варшалович. М., 1972. 175 с.
3. Станкевич С. В. Методи експертизи підкарантинних матеріалів: навч. посібник. Харків, 2017. 55–59 с.
4. Ілюстрований довідник регульованих шкідливих організмів в Україні / Башинська О. В., Константінова Н. А., Пилипенко Л. А. та ін. К.: Урожай, 2009. 249 с.

Допоміжна

1. Методическое руководство по лабораторной экспертизе растительных материалов и почвы / под ред. Т. И. Роговая. М., 1960. 78–80 с.

Тема заняття:

«Методи мікологічної експертизи.»

Ідентифікація *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival.» (2 години)

Мета заняття: знайомство з методикою виділення та ідентифікація зооспорангіїв *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival. (Синоніми: *Chrysophlyctis endobiotica* Schilbersky, *Synchytrium solani* Masee), проведення аналізу підземних частин (бульб, цибулин), рослинних решток та ґрунту.

План:

1. Методика ідентифікації *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival.
2. Морфологічні ознаки зимових та літніх зооспорангіїв.
3. Ідентифікування видів роду *Synchytrium* по макро- та мікроознакам.
4. Метод розпізнавання живих і мертвих зооспорангіїв.
5. Правилами підготовки та зберігання зразка.

Теоретичні передумови:

Одне з небезпечних захворювань картоплі – рак. Його збудник – грибного походження *Synchytrium endobioticum*. Вперше спалах хвороби спостерігався наприкінці минулого століття на території тодішньої Австро-Угорщини. З тих пір рак картоплі широко поширився в багатьох країнах Європи, перекинувся й на інші континенти. Хвороба особливо шкодочинна при беззмінній культурі і найчастіше це буває на присадибних ділянках, де картопля вирощується на тому самому місці багато років підряд. Щоб успішно боротися із цією хворобою картоплі, головне – вчасно виявити вогнище зараження, поки в ґрунті не нагромадилися збудники інфекції. Ознака ураження картоплі раком – поява наростів на бульбах, столонах і кореневій шийці. При сильному розвитку захворювання такі нарости можуть утворюватися й на стеблі, листах, навіть на квітках. Коріння не пошкоджується, адже збудник пошкоджує тільки молоду, що росте, тканину. Нарости – це клітини, що розростаються, навколо місця проникнення паразита. Величина наростів різна – від дрібної горошини до розміру самої бульби. Зовні нарости нагадують суцвіття кольорової капусти. Нарости раку картоплі на столонах і бульбах спочатку білого кольору, у міру старіння вони стають темно-коричневими.

Навчальне обладнання:

мікроскоп, годинник піщаний на 3-5 хв., ваги, годинник піщаний на 1-2 хв., витяжна шафа, пробірки центрифужні, піпетки на 10 мл, колби, чашки Коха або кристалізатор чи інші ємкості для промивки, скельця предметні, скельця покривні, папір фільтрувальний, сита з діаметром отворів 0,25 мм, 1 мм, шпатель, годинникове скло, фаянсова ступка та товкач, розчини, реактиви (вода, спирт (C₂H₅OH) 96%, чотирихлористий вуглець, машинна олія або розчин гліцерину, 3% розчин пероксиду водню, бензин, плазмуючий розчин (у 100 мл дистильованої води 35 г хлористого натрію), білий папір), визначники, постійні мікропрепарати.

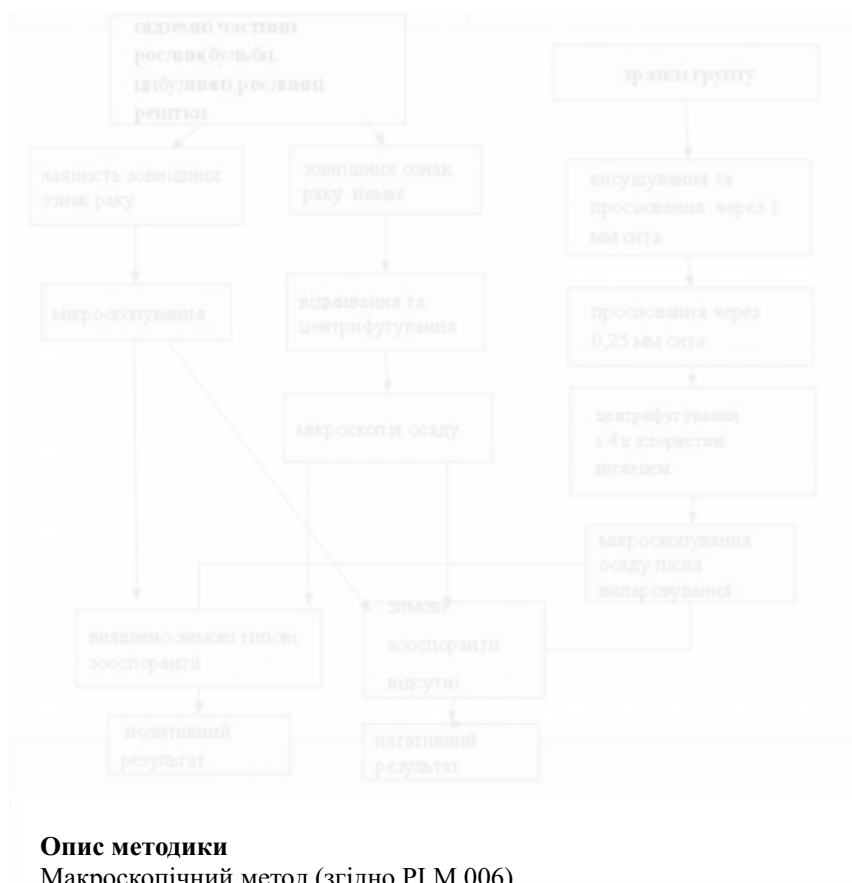
Інструктаж з техніки безпеки: студенти повинні дотримуватись правил безпечного поводження на робочому місці.

Питання та завдання для проведення попереднього контролю знань:

1. Які методи мікологічної експертизи Ви знаєте?
2. Який збудник викликає рак картоплі, його систематичне положення?
3. Як проявляється ураження раком картоплі?
4. Які заходи боротьби з раком картоплі Ви знаєте?

Завдання 1
Ознайомитись з методикою ідентифікації
***Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival.**

Схема методики



При первинному візуальному огляді бульб звертають увагу на наступні симптоми: утворення наростів на бульбах, столонах, кореневій шийці, рідко – на стеблах, листках і навіть квітках (рис. 1).



Рис.1. Симптоми ураження раку картоплі

Корені ніколи не уражуються. За зовнішнім виглядом нарости нагадують кольорову капусту. Розмір може бути різноманітний – від маленької горошини до величини, що перевищує розмір бульби. Ракові нарости розвиваються на бульбах і в сховищах. Уражені молоді бульби, стають здеформовані і ніздрюваті. У старіших уражуються тільки вічка, на яких утворюються бородавчасті нарости. Спочатку вони білі або кольору слонової кістки, та під дією світла зеленіють, внаслідок синтезу хлорофілу, потім поступово темніють і загнивають. При ураженні кореневої шийки нарости помітні на поверхні ґрунту. На стеблах вони формуються у пазухах листків та при основі стебел, а на листках з'являються на черешках та прилистках. Листки потовщуються та деформуються. На квітках спостерігається цілковита деформація тичинок, а згодом і всієї квітки.

Різнманітність появи форми наростів покладено в основу їх умовного поділу: листкова, паршоподібна (лишаєподібна) і гофрована.

Листкова форма: розвивається на вічках бульб, з яких виростають м'ясисті потворні листочки, прості або розгалужені. Бульба нагадує соснову шишку.

Паршоподібна (лишаєподібна) форма: має вигляд дрібних виразок з гіпертрофованих тканин рослини чи навколо вічок бульб картоплі і за зовнішнім виглядом нагадує порошисту паршу, збудником якої є *Spongospora subterranean* Wallr.

Гофрована форма: вся бульба нагадує хвилясто-зморшкуватий наріст з напливами і заглибленнями. Усі бруньки вічок при такій формі не здатні до розвитку. Гниль з поверхні переходить усередину бульб – і вони згнивають.

При гофрованій та лишачеподібній формах наростів: паразит перебуває в них у будь-якій стадії розвитку, що передує стадії зооспорангіїв, і за сприятливих умов продовжує нормальний цикл розвитку. Вважають, що ці форми зумовлені несприятливими умовами для розвитку гриба: нестача вологи, низька вологість повітря, висока температура ґрунту тощо.

Дослідження за методикою Дорогіна (згідно РІ.М.013)

Визначення наявності зооспорангіїв збудника раку картоплі на поверхні підземних частин рослин, рослинних рештках, ґрунті за допомогою центрифугування водного змиву. Бульби та інші частини рослини промивають у невеликій кількості води чашках Коха або кристалізаторі. Воду після промивання зливають у хімічну склянку і дають відстоятися 3-5 хв., щоб всі частинки ґрунту осіли на дно. Піпеткою зі склянки відбирають по 7-8 мл води, захопивши трохи осаду, зливають у чотири центрифужні пробірки. Пробірки вставляють у центрифугу і центрифугують протягом 5 хв. Після центрифугування із пробірки обережно зливають воду до осаду. Із осаду кожної пробірки готують п'ять препаратів, які оглядають під мікроскопом на наявність зооспорангіїв збудника раку картоплі й ідентифікують за розміром та морфологічними ознаками, звертаючи увагу на те, що грибок є внутріклітинним облігатним паразитом і не має грибниці. У циклі його розвитку є такі стадії: спочиваючі або зимові зооспорангії (рис. 2), літні зооспорангії та зооспори (табл. 1). Заповнюють протокол за формою ОПФ.М.003.



Рис. 2. Зимовий зооспорангій *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival

Дослідження за методикою Шарікова (згідно РІ.М.012)

Визначення наявності зооспорангіїв збудника раку картоплі в легких супіщаних і чорноземних ґрунтах. Зразки ґрунту доводять до повітряно-

сухого стану. Сухі зразки ґрунту подрібнюють у фаянсовій ступці, просіюють через сито з отворами 1 мм і формують середню пробу із проходу. Для цього ґрунт висипають на лист паперу, розрівнюють шаром не більше 0,5 см і роблять квадрати розміром приблизно 3 × 3 см. Від кожного квадрата шпателем відбирають ґрунт, намагаючись захопити всю поверхню шару. Середню пробу ґрунту добре перемішують і відбирають наважку в 2-5 г, розтирають у фарфоровій ступці товкачем, просіюють через сито з отворами 0,25 мм. Зооспорові збудника раку картоплі, які перебувають у стані спокою легко проходять через сито, а великі частини ґрунту затримуються на ньому. Просіяні наважки ґрунту висипають у пробірки для центрифугування, доливають 3-4 мл чотирихлористого вуглецю або дихлоретану. Рідину збовтують протягом 1-2 хв., а потім повільно центрифугують не більше 1-2 хв. зі швидкістю 600 обертів за хвилину, щоб частини ґрунту осіли на дно. Центрифугат зливають на годинникове скло і ставлять у витяжну шафу для випаровування. Після випарування чотирихлористого вуглецю на годинниковому склі залишається легкий осад, який частинами переносять на предметне скло в краплю машинного мастила або розбавленого водою гліцерину, накривають покривним склом, оглядають під мікроскопом та ідентифікують зооспорові за розміром та морфологічними ознаками, користуючись ключем Табл. 2. Заповнюють протокол за формою ОПФ.М.003.

У чорноземних ґрунтах зооспорові сильно адсорбують гумус і тому забарвлюються в чорний колір, що утруднює їхнє виявлення під час аналізування. Тому їх попередньо знебарвлюють 3% розчином пероксиду водню або 96% етиловим спиртом, злегка підкисленим соляною кислотою. Процес знебарвлювання триває від декількох хвилин до декількох годин залежно від інтенсивності їхньої забарвленості. У разі виділення зооспорові збудника раку картоплі з торф'яного ґрунту або ґрунту багатого гумусом, треба брати не чистий чотирихлористий вуглець, а суміш його з бензином у співвідношенні 1:2.

Дослідження за методикою УкрНДСКР (згідно РІ.М.012)

Методика УкрНДСКР полягає у промиванні ґрунту із зооспоровими розчином ефіру, а для центрифугування використовують розчин натрію йодистого. Зразок ґрунту висушують до повітряно-сухого стану, розтирають гумовим товкачем, просіюють крізь сито з діаметром вічок 1 мм, 0,5 мм, 0,25 мм та 0,03 мм. На останньому ситі ґрунт промивають ефіром для розчинення органічних речовин, потім сушать протягом 3 хв. Відбирають наважки ґрунту в 1, 5, 10 г, переносять у пробірки для центрифугування, додаючи розчин натрію йодистого (36,5%) з питомою вагою 1,1 і центрифугують протягом 3 хв. зі швидкістю 2000 обертів за хвилину, домішки ґрунту спливають на поверхню, центрифугат зливають. У центрифужні пробірки додають 48,5% розчин натрію йодистого з питомою вагою 1,34-1,40, центрифугують на тих самих обертах протягом 3 хв. Розчин натрію йодистого забарвлює життєздатні зооспорові в жовтий колір, а нежиттєздатні – не забарвлюються. Після центрифугування зооспорові

збираються на поверхні центрифугату, звідки їх переносять на годинникове скло і під мікроскопом підраховують кількість. У цьому випадку їх ідентифікують, відокремлюючи від схожих зооспорангіїв інших видів. Заповнюють протокол за формою ОПФ.М.003.

Завдання 2 Ознайомитись з морфологічними ознаками зимових та літніх зооспорангіїв

Таблиця 1

Морфологія зимових та літніх зооспорангіїв *Synchytrium endobioticum* (Schilbersky) Percival

Ознаки	Спочиваючі (зимові) зооспорангії	Літні зооспорангії
Морфологія	Зазвичай, округлої форми, увігнуті з однієї сторони, опуклі з іншої, діаметром близько 50 мкм (25-80 мкм). Злипаючись із ґрунтом, вони утворюють грудочки діаметром 0,1-2,0 мм. Зернистий протопласт зооспорангія оточений товстою тришаровою оболонкою золотистого кольору, що є характерною ознакою збудника раку	Літня циста-спорангій має округлу чи злегка овальну форму, безбарвна, вкрита тонкою світло-жовтою оболонкою, розміром 50-80 МКМ.

Завдання 3 Провести ідентифікування видів роду *Synchytrium* по макро- та мікроознакам

Провести ідентифікування видів роду *Synchytrium* по макро- та мікроознакам з використанням ключа (табл. 2).

Таблиця 2

Ключі для ідентифікування видів роду *Synchytrium* по макро- та мікроознакам

1 (31)	Уражені наземні частини рослини.
2(7)	Уражена вся рослина.
3(4)	Рослина карликова. Міжвузля і черешки укорочені. На рослині утворюється велика кількість пагонів. Діаметр уражених органів збільшується більш ніж вдвічі. Клітинні стінки, що межують з ураженими клітинами дерев'яніють. Зооспорангії кулеподібні або яйцевидні. Оболонка коричневого кольору, з довгими виступами. Внутрішній вміст зооспорангію крупнозернистий, червоно-коричневого кольору. Розмір 52-160 мкм. Рослини-живителі: мокрець, зірочник, роговик, анемона дібровна. Synchytrium stellariae Fuckel (21)
4 (3)	Рослина не карликова.
5 (11)	Уражені органи деформовані.
6 (10)	Місцева гіпертрофія, деякі клітини у місці проникнення збудника збільшуються вдвічі. Зооспорангії яйцевидні або кулеподібні. Оболонка товста, з нерівномірно розподіленими тонкими шипами, довжина яких – 3,0-7,5 мкм. Внутрішній вміст – жовтувато-бурого або бурого кольору. Розмір 11-15 мкм. Рослини-живителі: Види <i>Zygonium</i> , <i>Spigogyna</i> Synchytrium zygonii Karling (27)
7 (2)	Уражене листя або інші органи.
8 (5)	На стеблі, листі, квітах, кореневій шийці нарости з нерівною поверхнею. У тканинах наростів літні або зимові зооспорангії. Літні зооспорангії округлої або овальної форми, безбарвні, вкриті тоненькою світло-жовтою оболонкою, розміром 50-80 мкм. Зимові зооспорангії округлі або овальні; з товстою тришаровою оболонкою, гладенькою або з невеликими виступами, золотисто-жовтого або коричневого (бурого) кольору. Внутрішній вміст – зернистий, сіруватий. Розмір завбільшки від 25 до 80 мкм (в середньому 40-50мкм). Рослини-живителі: картопля, томат, паслін чорний, паслін солодко-гіркий, блекота, фізаліс. Synchytrium endobioticum (Schilbersky) Percival. (1)
9 (5)	Бородавки глибоко занурені в уражену тканину. Сильне ураження призводить до викривлення органів. Бородавки поодинокі або згруповані, від золотистого до червоного кольору. Зооспорангії яйцевидні або кулеподібні. Оболонка товста, гладенька, коричневого кольору. Внутрішній вміст – дрібнозернистий, золотисто-оранжевий. Розмір 50-80 мкм. Рослини-живителі: кульбаба лікарська Synchytrium taraxaci De Baryet Woronin (23)
10 (5)	Бородавки спочатку золотисто-жовті, потім темно-бурі, часто у вигляді чисельних тісних скупчень. Мають форму півкулі, часто з вдавненою верхівкою. Являють собою комплекс гіпертрофованих клітин, серед яких знаходиться надмірно збільшена клітина, уражена збудником. Викликають викривлення уражених частин

	рослини. Зооспорангії круглі. Оболонка гладенька, бурштиново-коричнева. Внутрішній вміст – крупнозернистий, золотисто-коричневого кольору. Розмір 90-120 мкм. Рослини-живителі: велика кількість видів (134) квіткових рослин різноманітних родин (30) і родів: осот, ялиця, лобода, види незабудок, фіалок тощо Synchytrium aureum Schröter (4)
11 (5)	Рослина не деформована.
12 (28)	На уражених органах спостерігається незначне розростання поодиноких клітин. Інфіковані клітини випинаються над поверхнею незмінних неінфікованих клітин.
13 (12)	Бородавки мають форму напівкулі. Червонуваті або темно-фіолетові. Зооспорангії кутасті (ребристі) або більш-менш округлі. Оболонка світло-коричневого (каштанового) кольору, товста, гладенька, або слабо бородавчаста, або з довгими кутами. Внутрішній вміст - безбарвний. Розмір 47-170 мкм. Рослини-живителі: анемона дібровна Synchytrium anemones De Baryet Woronin (2)
14 (12)	Бородавки дрібні, сіро-жовті. Зооспорангії еліпсоподібні. Оболонка товста, гладенька, бурого кольору. Внутрішній вміст – крупнозернистий, жовтого кольору. Розмір 28-121 × 144-253 мкм. Рослини-живителі: різні види тюльпанів. Synchytrium lactum Schröter (9)
15 (12)	Бородавки дрібні, білуваті, з бурою облямівкою. Зооспорангії кулеподібні або кутасті (ребристі). Оболонка бура, товста, злегка бородавчаста. Внутрішній вміст – безбарвний. Розмір 42-160 мкм. Рослини-живителі: рястка Synchytrium niesslii Bubak (13)
16 (12)	Бородавки дрібні, бурі. Зооспорангії кулеподібні або еліпсоподібні. Оболонка бура, іноді хвиляста. Внутрішній вміст – безбарвний. Розмір 35-150 × 25-100 мкм. Synchytrium punctatum Schröter (16)
17 (12)	Бородавки дрібні. Зооспорангії кулеподібні або еліпсоподібні, іноді ниркоподібні. Оболонка гладенька, жовто-коричнева. Внутрішній вміст – крупнозернистий, сіруватий. Розмір: кулеподібні – 60-90 мкм; еліпсоподібні – 58-60 × 70-90 мкм. Рослини-живителі: види кропиви Synchytrium urticae Sorokin (25)
18 (12)	Бородавки від світло- до темно-бурого кольору. На уражених органах визивають незначні порушення. Зооспорангії круглі. Оболонка бура, товста. Внутрішній вміст – щільний, дрібнозернистий, від золотистого до червоно-коричневого кольору. Розмір 70-150 мкм. Рослини-живителі: види перстачу Synchytrium potentillae Lagerh (15)
19 (12)	Бородавки дрібні. Зооспорангії еліпсоподібні. Оболонка сірувата,

	складчаста. Розмір 12-18 мкм. Рослини-живителі: Папоротеподібні Synchytrium selaginellae Fuckel (19)
20 (12)	Бородавки маленькі, округлі, спочатку червоно-коричневі, потім чорнуваті. Зооспорангії кулеподібні. Оболонка коричнева, нерівномірно потовщена. Внутрішній вміст – дрібнозернистий Розмір 7-20 мкм. Рослини-живителі: подорожник Synchytrium punctum Sorokin (17)
21 (12)	Зооспорангії округлі або еліпсоподібні. Оболонка товста, вкрита шипами. Внутрішній вміст – коричневого кольору. Розмір: округлі, 8-12,9 мкм; еліпсоподібні – 18-22,5 × 22,5-26 мкм. Рослини-живителі: Spirogyrainflata Synchytrium spirogyrae Karling (20)
22 (12)	Бородавки золотисто-жовті, розкидані по поверхні або зібрані у струп (коростинки). Зооспорангії округлі. Оболонка товста, гладенька, коричневого кольору. Внутрішній вміст – середньозернистий, темний. Розмір 36-80 мкм Рослини-живителі: КОМОННИК Synchytrium succisae De Baryet Woronin (22)
23 (12)	Бородавки округлі, зеленуваті. Зливаючись, утворюють на поверхні струп (коростинки). Зооспорангії круглі. Оболонка гладенька, коричневого або світло-коричневого кольору. Внутрішній вміст – безбарвний. Розмір 50-180 мкм. Рослини-живителі: чина чорна, люцерна хмелевидна Synchytrium viride Schneider (26)
24 (23)	Бородавки крупні, мають форму напівкулі або круглі. Зливаючись, утворюють на поверхні струп (коростинки). Зооспорангії кулеподібні або еліпсоподібні. Оболонка товста, гладенька, іноді з великими виступами, світло-коричневого кольору з малиновим відтінком. Внутрішній вміст – безбарвний, середньозернистий. Розмір 60-150 мкм. Рослини-живителі: фіалка запашна, незабудка, перстач, деревій, види вероніки тощо. Synchytrium globosum Schröter (8)
25 (12)	Бородавки дрібні, буро-зеленого кольору. Зооспорангії круглі або еліпсоподібні. Оболонка гладенька, товста, коричневого кольору. Внутрішній вміст – дрібнозернистий, коричнево-жовтого кольору. Розмір від 100-160 мкм, іноді до 200 мкм. Рослини-живителі: щавель, пшінка весняна, адакса, рівноплідник Synchytrium anomalum Schröter (3)
26 (12)	Виразки кратероподібні, коричневого кольору. Зооспорангії яйцевидні або еліпсоподібні. Оболонка гладенька або нерівна, жовто-коричнева. Внутрішній вміст – безбарвний. Розмір 100-170 × 70-110 мкм. Рослини-живителі: проліска Synchytrium mercurialis Fuckel (10)

27 (23)	Струп (коростинки) червоно-бурого кольору. Зооспорангії еліпсоподібні, зазвичай яйцевидні. Оболонка гладенька, блідо-золотиста. Внутрішній вміст – прозорий, крупнозернистий. Розмір 80-95 × 130-155 мкм. Рослини-живителі: <i>Phegopterispolypodioides</i> <i>Synchytrium phegopteridis</i> Juel (14)
28 (12)	Значне розростання клітин в місцях інфікування збудником.
29 (28)	Бородавки жовті або червонуваті до коричневого кольору. Зооспорангії округлі. Оболонка товста, гладенька, темно-коричневого кольору. Внутрішній вміст – червонувато-жовтого кольору. Розмір 33-130 мкм. Рослини-живителі: чорнокорінь, горобейник, рохемя, незабудка лісова тощо <i>Synchytrium myosotidis</i> Schröter (12)
30 (28)	Бородавки округлі. Складаються з гіпертрофованих клітин епідермісу, що виступають з обох боків ураженого органу. Зооспорангії округлі або кутасті (ребристі). Оболонка товста, гладенька, світло-коричнева. Внутрішній вміст – непрозорий, темний. Розмір 28-100 мкм. Рослини-живителі: види жовтяниці <i>Synchytrium chrysosplenii</i> Sorokin (5)
31 (1)	Уражені підземні частини рослини.
32 (3)	На столонах та бульбах, найчастіше біля вічок, ракові нарости. В уражених тканинах знаходяться округлі або овальні зооспорангії в стадії спокою. Зооспорангії округлі або овальні, золотаво-жовтого або коричневого кольору. Оболонка товста, тришарова, з невеликими виступами. Внутрішній вміст – зернистий, сіруватий. Розміри: довжина – від 21 до 121 мкм, ширина – 22-100 мкм. Діаметр в середньому 40-50 мкм, може варіювати від 25 до 80 мкм. Рослини-живителі: картопля, томат, паслін чорний, паслін солодко-гіркий, блекота, фізаліс. <i>Synchytrium endobioticum</i> (Schilbersky) Percival. (1)
33 (31)	На усіх підземних органах бородавки золотаво-жовтого кольору. Розкидані по поверхні або зібрані у струп (коростинки). Зооспорангії округлі. Оболонка товста, гладенька. Внутрішній вміст – темний, середньозернистий. Розмір 36-80 мкм. Рослини-живителі: КОМОННИК <i>Synchytrium succisae</i> De Baryet Woronin (22)

Завдання 4**Ознайомитись з методом розпізнавання живих і мертвих зооспорангіїв**

Для встановлення стану зооспорангіїв використовують метод плазмолізу, розроблений К.Е. Шариковим. Зооспорангії *Synchytrium endobioticum* (*Schilbersky*) *Percival*, вилучені із ґрунту, кладуть на годинникове скло і заливають на дві доби водою. Протоплазма зооспорангіїв збагачується водою, а оболонка стає більш проникною для плазмолітика. Краплю води із зооспорангіїми піпеткою переносять на предметне скло і накривають покривним. З однієї сторони покривного скла вводять плазмуючий розчин. В той же час, з іншої сторони покривного скла, обережно відбирають воду смужкою фільтрувального паперу з тоненьким гострим куточком. Таким чином кількість води під покривним склом зменшується повільно і зооспорангії не плавають, а залишаються в препараті. Через 5-10 хвилин, після повного заміщення води плазмуючий розчином, у живих зооспорангіїх спостерігають плазмоліз. Слід пам'ятати, що у мертвих клітинах теж можливе відставання протоплазми від оболонки. Краї протоплазми у живих зооспорангіїх мають рівні обриси, зазвичай вони прямі або увігнуті, рідше опуклі. У мертвих зооспорангіїх краї протоплазми звивисті і не мають певної форми. Для певності треба провести перевірку деплазмолізом. Плазмуючий розчин замінюють водою. У живих клітинах внаслідок деплазмолізу протоплазма знову пристане до оболонки. В мертвих такого явища не спостерігають. Варто зазначити, що плазмоліз зооспорангіїв зазвичай відбувається не з усіх боків, а з одного або двох. Якщо плазмоліз відбувся з боку протилежного оку спостерігача, то його можна не помітити. Але достатньо повернути зооспорангії іншою стороною (злегка рухаючи покривне скло) і плазмоліз можна буде побачити.

Завдання 5

Ознайомитись з правилами підготовки та зберігання зразка

У разі виявлення збудника раку картоплі – *Synchytrium endobioticum* (*Schilbersky*) *Percival* оформлюють документ-зразок (PI) та готують постійний препарат (згідно РІ.М.005). На кожному предметному скельці вказується номер зразка та латинська назва організму. Мікропрепарат має зберігатися один рік, в подальшому він використовується для поповнення колекції карантинних організмів. Світлини характерних зооспорангіїв збудника можуть бути використані у вигляді наочного матеріалу. Матеріал, який залишився після аналізу збирають до контейнеру та автоклавують.

Контрольні питання:

1. Опишіть загальну схему методики ідентифікації раку картоплі.
2. Які методики ідентифікації раку картоплі Ви знаєте?
3. Опишіть правила проведення макроскопічного аналізу.
4. Як провести розпізнавання живих та мертвих зооспорангіїв?

Критерії оцінювання:

нарахування балів (до 2) здійснюється диференційовано в результаті відповіді на контрольні питання за підсумками виконання практичних завдань

Рекомендована література Базова

1. ДСТУ 4180-2003 «Методи мікологічної експертизи підкарантинних матеріалів». 30 с.
2. Сикало О. О., Мовчан О. М., Устінов І. Д. Карантинні шкідливі організми. Ч. 2. Київ, 2005. 5–10 с.
3. Руководство по досмотру и экспертизе растительных и других подкарантинных материалов / под ред. А. А. Варшалович. М., 1972. 175 с.
4. Мельник П. О. Методологія оцінки та відбору селекційного матеріалу картоплі стійкого до раку *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Pers.: методичні рекомендації. Чернівці, 2007. 20с.
5. Станкевич С. В. Методи експертизи підкарантинних матеріалів: навч. посібник. Харків, 2017. 55–59 с.

Допоміжна

1. Инструкция по выявлению рака картофеля и меры борьбы с ним. М., 1988. 27–33 с.
2. Методическое руководство по лабораторной экспертизе растительных материалов и почвы / под ред. Т. И. Роговая. М., 1960. 78–80 с.

Тема заняття:
«Методи мікологічної експертизи.
Ідентифікація *Tilletia indica* Mitra» (2 години)

Мета заняття: знайомство з методикою виділення та ідентифікації спор *Tilletia indica* Mitra (синонім: *Neovossia indica* (Mitra) *Mundkur*) – збудника індійської сажки пшениці, проведення аналізу насіння пшениці.

План:

1. Методика ідентифікації *Tilletia indica* Mitra.
2. Ідентифікування видів *Tilletia spp.* за мікроскопічними ознаками.
3. Правила підготовки та зберігання зразка.

Теоретичні передумови:

Індійська сажка – вид, який уражує виключно пшеницю. Захворювання вперше було описано у 1931 р. за зразками, зібраними у двох штатах Індії. Втрати врожаю зерна досягали 30% прямих витрат, плюс непрямі – заборона експорту, вилягання і трудовитрати збирання.

У даний час ця хвороба поширена в країнах Азії, Афганістані, Непалі, Пакистані, а також в США та Мексиці. В країнах СНД хвороба не зареєстрована, але не раз була виявлена в імпортних вантажах.

Близько 70 країн світу, і Україна в тому числі, вводять карантинне обмеження на ввезення пшениці з країн, в яких була знайдена індійська сажка. До зони акліматизації цієї хвороби можна віднести практично всю територію України, за виключенням північних областей.

Збудник індійської сажки – гриб *Tilletia indica*, уражує насіння пшениці, викликаючи руйнування тканин в зародковій частині і вздовж борозенок. Характерним є часткове перетворення зерен у чорну масу теліоспор, які мають запах гнилої риби.

Уражується тільки 1-5 колосків у колосі, що є відміною від ураження твердою сажкою, де руйнується вся тканина зерна. При сильному ураженні колоскові лусочки розходяться і відпадають, а уражені зерна оголюються, згодом падають і залишаються в ґрунті.

Всі сажкові гриби проникають в рослину на ранніх стадіях розвитку колоса, до моменту його дозрівання. Спори дозрівають разом з зерном і під час збирання врожаю над зараженим полем можна спостерігати своєрідну хмару.

У польових умовах, цю хворобу можна виявити тільки при дозріванні пшениці, коли колоски розкриваються і зерна, уражені сажкою, стають помітними. У фазі молочної стиглості можна побачити, що зерно при роздавлюванні видає характерний запах оселедцевого розсолу, більше ніяких симптомів немає і вже при дозріванні, коли колос повністю стиглий, він починає руйнуватися.

Навчальне обладнання:

лупи, бінокулярний мікроскоп, мікроскоп біологічний, вструшувач для колб, годинник пісочний, центрифуга, мікрометри окулярні, дошка для аналізу, лотки, кювети, білий папір, шпатель, пробірки центрифужні, препарувальні

голки, чашки Петрі, пінцети, колби, скельця предметні, скельця покривні, пробірки скляні, папір фільтрувальний, спирт (C₂H₅OH), масло імерсійне, визначники, постійні мікропрепарати.

Інструктаж з техніки безпеки: студенти повинні дотримуватись правил безпечного поводження на робочому місці.

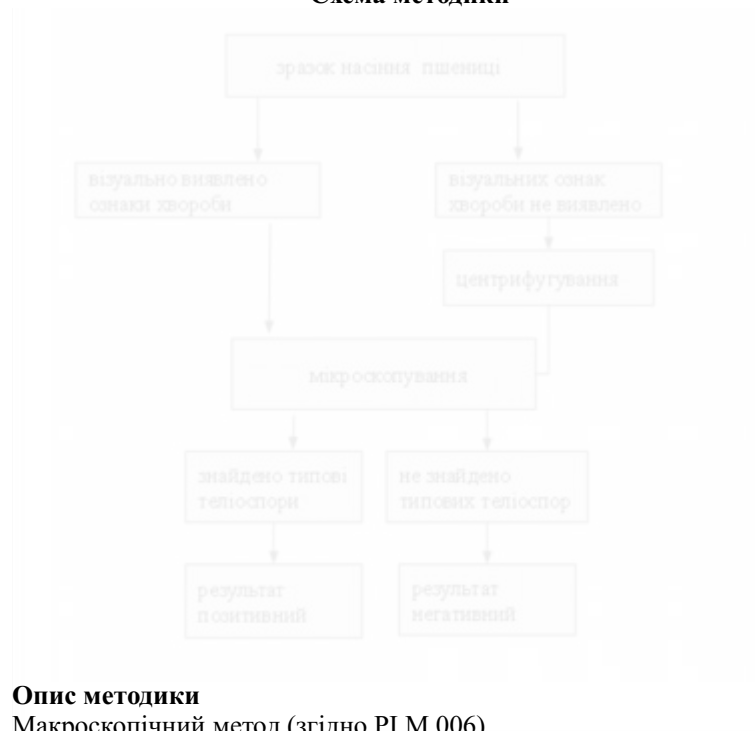
Питання та завдання для проведення попереднього контролю знань:

1. Які методи мікологічної експертизи Ви знаєте?
2. Який збудник викликає сажкові хвороби зернових культур, його систематичне положення?
3. Як проявляється ураження зернових культур сажковими хворобами?
4. Які заходи боротьби із сажковими хворобами Ви знаєте?

Завдання 1

Ознайомитись з методикою ідентифікації *Tilletia indica* Mitra

Схема методики



Опис методики

Макроскопічний метод (згідно РІ.М.006)

За допомогою лупи чи бінокюляру оглядають зародкову частину та борозенки насінин пшениці. Уражені насінини вкриті чорними пустулами, які

починаються з зародкової частини та розповсюджуються вздовж борозенки (рис. 1). Насінини з ознаками ураження індійською сажкою відбирають на подальше мікроскопування. Зразки готують згідно РІ М.004.

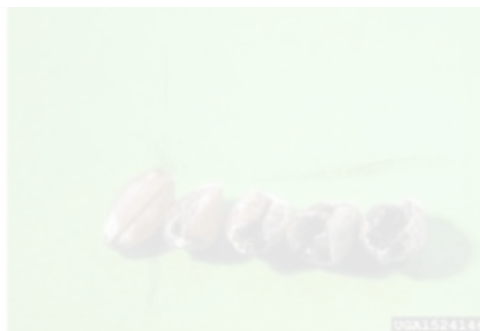


Рис. 1. Насіння пшениці, уражене *Tilletia indica* Mitra

Мікроскопічне аналізування (згідно РІ.М.004)

Якщо зовнішніх ознак не знайдено, то використовують метод центрифугування згідно РІ.М.007. Приблизно 400 насінин (8-ми кратна повторність по 50 насінин) поміщають у пробірки, заливають на 30 хв. водою ($t=30-35^{\circ}\text{C}$). Рівень води повинен бути на 1,5-2см вище рівня насінин. Збовтують протягом 10 хв. на шейкері для колб, що сприяє вивільненню спор. Центрифугують 20 хв. при 3000 об/хв. Після чого воду зливають, залишаючи у пробірках осад та 0,5 мл води. Готують з кожної пробірки не менш ніж 5 препаратів (якщо зразок надійшов з країни, де розповсюджена індійська сажка, то оглядають весь осад). Препарати оглядають під мікроскопом при окулярі 10 і 15 та об'єктиві 8. Знайдені спори досліджують при окулярі 10 і об'єктиві 40. Визначення збудника проводять за морфометричними ознаками таблиці 1. Зрілі теліоспори мають колір від темно-червоного або мідного до тьмяного темно-коричневого, в масі майже чорні; кулясті або овальні, з товстою сітчастою оболонкою, обмеженою тонкою безбарвною желатиною мембраною (рис.2). Розмір спор 22-47 мкм, у діаметрі до 55 мкм, інколи на кінцях із ниткоподібним безбарвним придатком (апікулюс). Оформлюють протокол ОПФ.М.005.

Рис. 2. Теліоспори *Tilletia indica* Mitra

Завдання 2
Провести ідентифікування видів *Tilletia* spp.
за мікроскопічними ознаками

Провести ідентифікування видів *Tilletia* spp. за мікроскопічними ознаками з використанням порівняльної характеристики (табл. 1).

Таблиця 1

Порівняльна характеристика деяких видів *Tilletia* spp.

Види збудників	Форма телейтоспор	Розмір телейтоспор, мкм	Колір телейтоспор	Оболонка
<i>Tilletia indica</i> Mitra	Округлі чи овальні, з сітчастою оболонкою з округлими ребрами, що утворюють кільце завширшки 206 мкм	(22-42×25-40 мкм) / 35,5 У великій кількості зустрічаються стерильні клітини, змішані в сорусі з теліоспорами, кулясті, напів-кулясті, часто краплеподібні	Коричневі, в масі чорні; жовтувато-бурі або безбарвні, розміром 10-28×48 мкм	Темна червоно-коричнева оболонка, має сітчасте потовщення 3-6 мкм заввишки, ячейки або округлі, або неправильної форми. Оболонка спор має безбарвний слизовий придаток (апікулюс).
<i>Tilletia laevis</i> Kuhn	Еліпсоїдальна або видовжена	13,5-27×14-19 (частіше 17×14) мкм	Темно- або сіро-коричневі чи коричнево-чорні	Гладенька, товщиною 0,6-0,8 мкм
<i>Tilletia triticoides</i>	Кулясті чи майже кулясті	14,4-21,6 × 14,0-19,8	Світло- або темно-	Сітчаста, ячейки частіше 5-кутові,

Види збудників	Форма телейтоспор	Розмір телейтоспор, мкм	Колір телейтоспор	Оболонка
<i>Savulescu</i>		(частіше 18 мкм в діаметрі)	коричневі	ребристі, висота 0,4-0,6 мкм, ширина 2,4-5,8 мкм
<i>Tilletia intermedia Savulescu</i>	Майже кулясті, чи видовжені, еліпсоїдальні	15-20×14-18 (частіше 16,7×15,3)	Світло- або темно-коричневі	Сітчаста, ячейки невеликі, з широкими ребрами, заввишки 0,2-0,3 мкм (з петлями (100-240 шт), шириною 0,8-1,6 мкм
<i>Tilletia tritici (Bierk) Winter Savulescu</i>	Кулясті чи майже кулясті	14-25×12,6-21 (частіше 18,9×18)	Світло або темно-коричнева	Сітчаста до 2 мкм товщиною, ячейки частіше 5-кутові, ребристі, висотою 1,4-2,1 мкм, товщиною 0,6-0,8 мкм
<i>Tilletia controversa Kuehn</i>	Кулясті, з чіткою сітчастою оболонкою	19-28 мкм (або 17-22 мкм в діаметрі, чи 19-23×19-22 мкм)		Сітчасті потовщення оболонки майже, як у <i>Tilletia tritici</i> , але заввишки 1,5-3 мкм. Желеподібна оболонка більш 1,5 мкм. Одночасно бувають також стерильні спори з нечіткою структурою оболонки

Завдання 3

Ознайомитись з правилами підготовки та зберігання зразка

У разі виявлення збудника індійської сажки – *Tilletia indica* Mitra оформлюють документ-зразок (PI) та готують постійний препарат (згідно PI.M.005). На кожному предметному скельці вказується номер зразка та латинська назва організму. Мікропрепарат має зберігатися один рік, в подальшому він використовується для поповнення колекції карантинних організмів. Світлини характерних теліоспор збудника можуть бути використані у вигляді наочного матеріалу. Насіння з ознаками захворювання використовують для колекції.

Контрольні питання:

1. Опишіть загальну схему методики ідентифікації індійської сажки пшениці.
2. Які методики ідентифікації індійської сажки пшениці Ви знаєте?
3. Опишіть правила проведення макроскопічного аналізу.
4. Як провести мікроскопічний аналіз збудника індійської сажки пшениці?

Критерії оцінювання:

нарахування балів (до 2) здійснюється диференційовано в результаті відповіді на контрольні питання за підсумками виконання практичних завдань

Рекомендована література
Базова

1. ДСТУ 4180-2003 «Методи мікологічної експертизи підкарантинних матеріалів». 30 с.
2. Сикало О. О., Мовчан О. М., Устінов І. Д. Карантинні шкідливі організми. Ч. 2. Київ, 2005. 5–10 с.
3. Руководство по досмотру и экспертизе растительных и других подкарантинных материалов / под ред. А. А. Варшалович. М., 1972. 175 с.
4. Станкевич С. В. Методи експертизи підкарантинних матеріалів: навч. посібник. Харків, 2017. 55–59 с.

Допоміжна

1. Методическое руководство по лабораторной экспертизе растительных материалов и почвы / под ред. Т. И. Роговая. М., 1960. 78–80 с.

Тема заняття:**«Методи мікологічної експертизи.»**

Ідентифікація *Puccinia horiana* P. Hennings» (2 години)

Мета заняття: знайомство з методикою ідентифікації *Puccinia horiana* P. Hennings, проведення аналізу рослин хризантеми.

План:

1. Методика ідентифікації *Puccinia horiana* P. Hennings.
2. Порівняльний аналіз зовнішніх ознак та характеристики спор різних видів роду *Puccinia*, що викликають іржу хризантем.
3. Правила підготовки та зберігання зразка.

Теоретичні передумови:

Основною рослиною-господарем білої іржі є хризантема великоквіткова (*Dendranthema grandiflorum*) особливо уражуються сорти, які культивуються садівниками та широко вирощуються в теплицях. Можуть уражуватись інші рослини роду *Dendranthema*.

Географічне розповсюдження

Європа: Австрія, Бельгія, Болгарія, Великобританія, Греція, Данія, Італія, Латвія, Литва, Нідерланди, Німеччина, Польща, Словаччина, Словенія, Угорщина, Фінляндія, Франція, Хорватія, Швейцарія, Швеція.

Азія: Бруней, Китай, Корея (Північна і Південна), Малайзія, Росія (Далекий Схід), Таїланд, Японія.

Африка: ПАР Туніс.

Північна Америка: Мексика.

Південна Америка: Аргентина, Бразилія, Венесуела, Колумбія, Перу, Уругвай, Чилі.

Австралія і Океанія: Австралія, Нова Зеландія.

Збудник білої іржі викликає ураження переважно листків і проявляється у вигляді невеликих блідо-жовтих плям з верхнього та нижнього боку листка. З часом пляма збільшується і стає яскраво жовтою, а її центр коричневим. З нижнього боку листка на цих плямах розвиваються пустули. Спочатку вони світло-жовті або рожеві, згодом біліють, стають опуклими. Зрідка уражуються стебла, іноді з'являються соруси. На квітках іноді помічають зараження у вигляді некротичної крапчастості з хаотично розміщеними пустулами.

Навчальне обладнання:

біокулярний мікроскоп, мікроскоп біологічний, мікрометр окулярний, термостат (за потреби), препарувальні голки, чашки Петрі, пінцети, скельця предметні, скельця покривні, лупа, папір фільтрувальний, розчини, реактиви, дистильована вода, імерсійна олія, лак, спирт (C₂H₅OH) 96%-ий, визначники, гербарний матеріал.

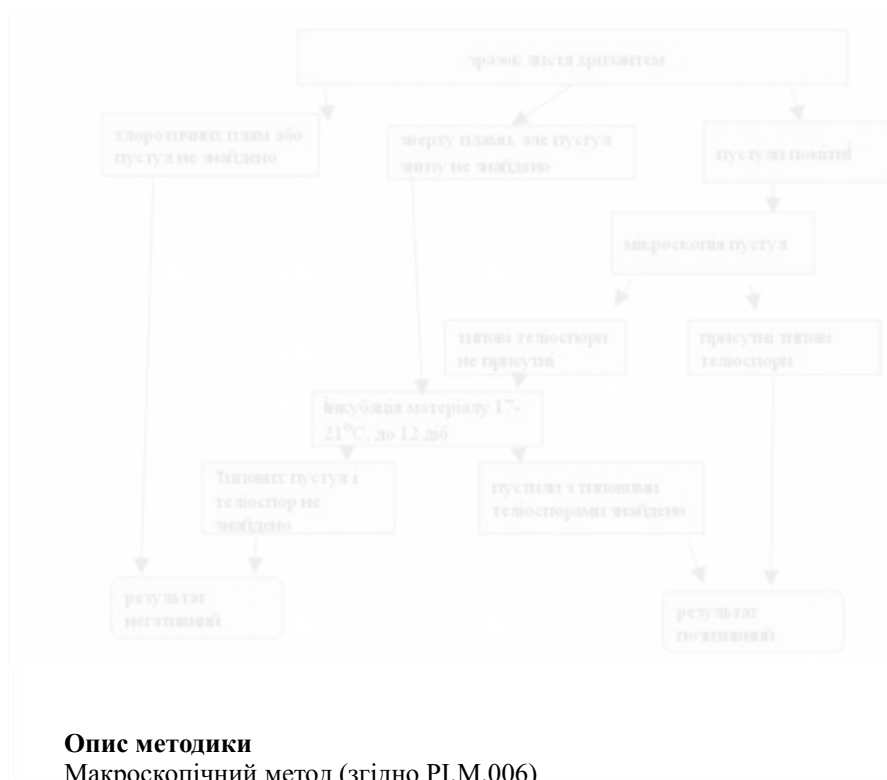
Інструктаж з техніки безпеки: студенти повинні дотримуватись правил безпечного поводження на робочому місці.

Питання та завдання для проведення попереднього контролю знань:

1. Які методи мікологічної експертизи Ви знаєте?
2. Який збудник викликає білу іржу хризантем, його систематичне положення?
3. Як проявляється ураження білою іржею хризантем?
4. Які заходи боротьби з іржастими хворобами Ви знаєте?

Завдання 1
Ознайомитись з методикою ідентифікації
***Puccinia horiana* P. Hennings**

Схема методики

**Опис методики**

Макроскопічний метод (згідно РІ.М.006)

Уражується переважно листя (особливо молоді тканини), рідше стебла і квітки. На листках з'являються спочатку невеликі світло-зелені або блідо-жовті плями, які утворюються з обох боків пластини. З часом плями збільшуються і стають яскраво-жовтими, а їх центр набуває коричневого кольору і вдавлюється в середину. На нижньому боці листка, на цих плямах,

розвивається спороношення гриба – телії (пустули). Уражені ділянки можуть збільшуватися в розмірах до двох сантиметрів в діаметрі і ставати світло-коричневими. Сильно уражені листки, як правило, передчасно відмирають і рослини виглядають як обпалені. Хворе листя часто згортається донизу. На приквітниках та стеблах з'являються соруси, на квітах – ураження у вигляді некротичної крапчастості з хаотично розміщеними пустулами. Типові пустули на нижній поверхні листка повинні бути чітко помітні без збільшення (рис. 1).



Рис. 1. Пустули білої іржі на листку хризантеми

Мікроскопічний аналіз (згідно РІ.М.004)

У разі наявності характерних пустул готують мікропрепарат, який досліджують під мікроскопом для визначення морфологічних характеристик збудника. Гриб *Puccinia horiana* P. Hennings повинен бути однозначно ідентифікований за наявності гіалінових теліоспор (рис. 2), що відображається в протоколі ОПФ.М.001. Порівняння зовнішніх ознак та характеристик спор між схожими видами роду *Puccinia*, які провокують хворобу іржі хризантем наведено в табл. 1.



Рис. 2. Теліоспори *Puccinia horiana* P.Hennings

Біологічний метод

Якщо плями наявні, але типові пустули ще не сформовані, рослини інкубують у вологій камері (РІ.М.003) при температурі 17-21°C. Через 7-10 днів, симптоми повинні бути чіткими і гриб може бути ідентифікований за мікроскопічним дослідженням. Ця процедура резюмується в протоколі ОПФ.М.001.

Завдання 2

Провести порівняльний аналіз зовнішніх ознак та характеристики спор різних видів роду *Puccinia*, що викликають іржу хризантем

Провести макроскопічний аналіз гербарного матеріалу, мікроскопічне дослідження спор збудника хвороби, виконати порівняльний аналіз зовнішніх ознак та характеристики спор різних видів роду *Puccinia*, що викликають іржу хризантем за таблицею 1.

Таблиця 1

Порівняння зовнішніх ознак та характеристик спор між видами роду *Puccinia*, які викликають іржу хризантем

Назва збудника	Зовнішні ознаки	Морфометричні характеристики спор		
		Телейтоспори	Уредоспори	Базидіоспори
<i>Puccinia horiana</i> <i>P. Hennings</i>	Телейтопустули розташовані з нижнього, а інколи і з верхнього боків листка. Забарвлення від рожево-світло-коричневого до білого, діаметр 2-4 мм	Видовжені або видовжено-булавовидні, на верхівці заокруглені, затуплені або відтягнуті, звужені, переважно потовщені, до 5 мікрон; на середині перешнуровані, до основи звужені, гладенькі, прозорі або блідо-жовті, розміром 32-45*12-18 мкм (Кароогія & Zadocks, 1973), ніжка гіалінова довжиною до 40 мкм		Базидіоспори склоподібні, дещо викривлені. За формою від широко-еліпсоїдних до веретено-подібних, 7-14×5-9 мкм
<i>Uredo autumnalis</i> <i>Dietel</i>	Жовтуваті плями на	Округлі еліпсоїдні або		

Назва збудника	Зовнішні ознаки	Морфометричні характеристики спор		
		Телейтоспори	Уредоспори	Базидіоспори
	листках, розміром 0,2-0,3 мм, на яких розвивається плодоношення	грушоподібні, покриті шипиками, прозорі або слабо забарвлені, розміром 23-38x18-25 мкм, з оболонкою товщиною 1,5-2,0 мкм		
<i>Puccinia chrysanthemi</i> Roze	На нижньому боці листка, рідше на верхньому, іноді і на стеблах з'являються концентричні шоколадно-коричневі пустули розміром 2-5 мм. На верхній стороні листя в тих місцях, де з нижнього боку знаходяться пустули, з'являються світло-зелені або жовтуваті плями	Випадки виявлення рідкісні. Телейтоспори каштанові, двоклітинні, дрібно-бородавчасті	Пустули містять одноклітинні (іноді двоклітинні), кулясті або грушоподібні світло-коричневі, шипуваті уредоспори	

Завдання 3

Ознайомитись з правилами підготовки та зберігання зразка

У разі виявлення збудника білої іржі хризантем – *Puccinia horiana* P. Hennings оформлюють документ-зразок та готують постійний препарат (згідно РІ.М.005). На кожному предметному скельці вказується номер зразка та латинська назва організму. Мікропрепарат має зберігатися один рік, в подальшому він використовується для поповнення колекції карантинних організмів. З ураженого листя створюють гербарій для колекційного матеріалу.

Контрольні питання:

1. Опишіть загальну схему методики ідентифікації білої іржі хризантем.
2. Які методики ідентифікації білої іржі хризантем Ви знаєте?
3. Опишіть правила проведення макроскопічного аналізу.
4. Як провести мікроскопічний аналіз збудника білої іржі хризантем?

Критерії оцінювання:

нарахування балів (до 2) здійснюється диференційовано в результаті відповіді на контрольні питання за підсумками виконання практичних завдань

Рекомендована література**Базова**

1. ДСТУ 4180-2003 «Методи мікологічної експертизи підкарантинних матеріалів». 30 с.
2. Сикало О. О., Мовчан О. М., Устінов І. Д. Карантинні шкідливі організми. Ч. 2. Київ, 2005. 5–10 с.
3. Руководство по досмотру и экспертизе растительных и других подкарантинных материалов / под ред. А. А. Варшалович. М., 1972. 175 с.
4. Станкевич С. В. Методи експертизи підкарантинних матеріалів: навч. посібник. Харків, 2017. 55–59 с.

Допоміжна

1. Методическое руководство по лабораторной экспертизе растительных материалов и почвы / под ред. Т. И. Роговая. М., 1960. 78–80 с.

Тема заняття:

**«Методи мікологічної експертизи.
Ідентифікація *Mycosphaerella linicola* Naumov» (2 години)**

Мета заняття: знайомство з методикою ідентифікації *Mycosphaerella linicola* Naumov. (синоніми: *Phlyctema linicola* Speg., *Septogloeum linicola* Speg., *Septoria linicola* (Speg.) Garass., *Sphaerella linicola* (Naumov) Wollenw., *Sphaerella linorum* Wollenw. *Mycosphaerella linorum* (Wollenw.)), проведення аналізу рослин та насіння льону.

План:

1. Методика ідентифікації *Mycosphaerella linicola* Naumov.
2. Ідентифікація *Mycosphaerella linicola* Naumov.
3. Правила підготовки та зберігання зразка.

Теоретичні передумови:

Пасмо льону (*Mycosphaerella linicola* Naumov) уражує льон та всі види роду *Linum*.

Для льону олійного пасмо лишається карантинною хворобою. Найшкідливіше при сильному ураженні, коли плями складають більше 25% поверхні стебла. У такому разі номер соломки знижується на 0,25-0,50, вихід волокна – до 3%.

Збудник може бути присутнім у зразках насіння, яке зберігалось більше року. Також гриб зберігається на рослинних рештках льону або в ґрунті протягом 4 років. Перитеці утворюються на старих відмерлих стеблах, а вивільнені аскоспори з потоком повітря заражають усі наземні органи рослин льону. Зазвичай насіння – головне джерело інфекції, але пікніди також приймають участь у передачі захворювання.

Під час вегетації рослин у місцях уражень гриб утворює нестатеве спороношення у вигляді пікнід з пікноспорами. Пікніди округлі або еліптичні, з невеликим продихом, 64-126 мкм у діаметрі. Пікноспори паличкоподібні або трохи зігнуті, безбарвні, з трьома перетинками, 20-36 x 1,5-3,2 мкм. Інколи гриб утворює сумчасту стадію. Псевдотеції його чорні, поодинокі, занурені, близько 200 мкм у діаметрі. Сумки безбарвні, циліндрично-булавоподібні, 58-67 x 7-10 мкм. У кожній сумці – по 8 безбарвних, веретеноподібних сумкоспор, 11-17 x 2,5-5,0 мкм, з перетинками, в кожній клітині – по 2-3 краплини олії.

Ознаки хвороби виявляються вже на сходах. У фазі “ялиночки” на сім’ядолях з’являються різкі коричневі плями, які охоплюють усю їх поверхню. При підсиханні сім’ядолі покривається злегка опуклими темними точками (пікнідами) і опадають. Пізніше на справжньому листі виникають округлі коричневі плями, які також покриваються концентричними кругами пікнід. З хворого листа плями поступово переходять на стебло, внаслідок чого він стає строкатим. Особливо яскраво ознаки проявляються перед збиранням. До моменту досягання льону плями стають сірими, з бурими краями і безліччю пікнід. За сильного ураження все поле набуває сірого відтінку. У місцях уражень стебло відмирає. Бура плямистість з пікнідами утворюється також на зав’язі і коробочках. Дуже уражена зав’язь відмирає,

коробочки недорозвинені. Нерідко в уражених коробочках формується недорозвинене, щупле насіння.

Спороношення під час вегетації поширюються за допомогою вітру, дощу і комах. Хвороба поширюється вогнищами. Життєздатність збудника зберігається в ґрунті і на рослинних рештках до 7 років. Основним джерелом поширення інфекції є заражене насіння. При сильному розвитку хвороби знижується якість волокна (до 4 номерів) і його вихід (до 3%), відбувається опадання коробочок або їх недорозвинення. Особливо шкідливе пасмо у вологі роки.

Шкідливість хвороби полягає у випаданні сходів, чим зумовлена зрідженість посівів вогнищами. При ураженні дорослих рослин погіршується якість волокна, зменшується врожай насіння. Волокно стає слабким, ламким, а насіння в уражених коробочках недорозвинене, щупле, часто зовсім не формується.

Навчальне обладнання:

лупи, біокулярний мікроскоп, шейкер для колб (за потреби), годинник пісочний на 1 хв., центрифуга, мікрометри окулярні, мікроскоп біологічний (стереоскопічний, імерсійний), автоклав, ваги, термостат для пророщування насіння, шафа сушильна, колби, лотки, кювети або білий папір, шпатель, пробірки, препарувальні голки, чашки Петрі, пінцети, фільтрувальний папір стерильний, вата, скельця предметні, пробірки центрифужні, скельця покривні, спирт (C₂H₅OH) 96%, стерильна 50% лимонна кислота (за потреби), 2% картопляно-глюкозний агар, стерильна або свіжа кип'ячена вода (30 хв. кипіння), визначники.

Інструктаж з техніки безпеки: студенти повинні дотримуватись правил безпечного поводження на робочому місці.

Питання та завдання для проведення попереднього контролю знань:

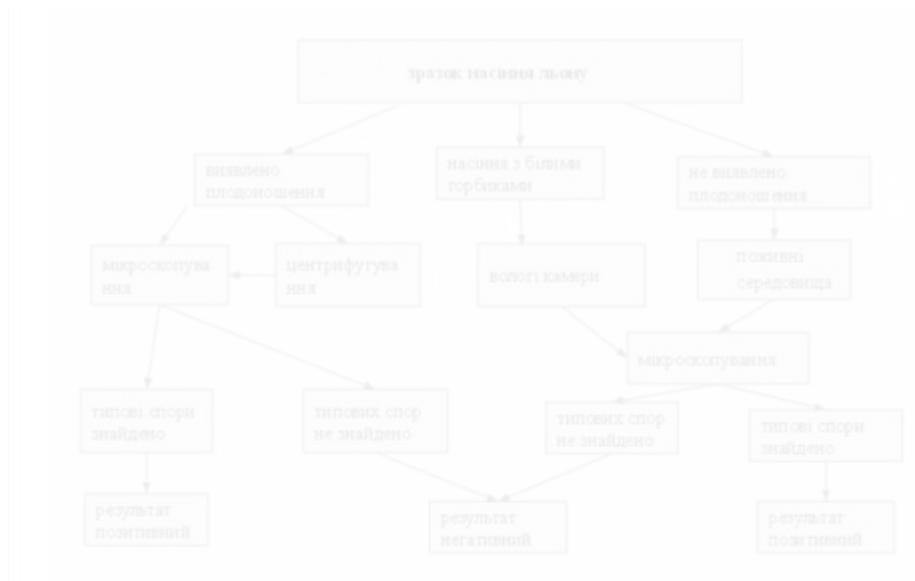
1. Які методи мікологічної експертизи Ви знаєте?
2. Який збудник викликає хворобу пасмо льону, його систематичне положення?
3. Як проявляється ураження хворобою пасмо льону?
4. Які заходи боротьби з пасмом льону Ви знаєте?

Завдання 1

Ознайомитись з методикою ідентифікації

Mycosphaerella linicola Naumov

Схема методики



Опис методики

Макроскопічний метод (згідно РІ.М.006)

Бере за основу симптоматику. Хвороба стає помітна під час дозрівання культури, у цьому випадку уражуються всі надземні частини рослини. Із ураженого насіння розвиваються проростки з коричневими плямами на сім'ядолних листочках, які пізніше стають сірватими і засихають. Сірваті плями утворюються і на справжньому листі (по краю листка), викликаючи деформацію і скручування листової пластинки, спричиняючи опадання листя. Уражена тканина спочатку сірвато-коричнева, поступово відмирає, стебло в зоні ураження ламається, і рослина гине. На уражених ділянках у великій кількості утворюються пікніди.

На дорослих рослинах, уражених у фазі «ялинки», симптоми захворювання можуть проявлятися після цвітіння. Листки вкриваються круглими сірвато-жовтими плямами, які пізніше стають темно-коричневими, і опадають. На уражених стеблах у рослин спостерігається характерне чергування бурих (хворих) і зелених (здорових) ділянок, що надає рослинам строкатий вигляд. На стеблах, часто у вигляді кільця, з'являються розпливчасті коричневі плями розміром до декількох сантиметрів. Поступово плями зливаються і покривають більшу частину або все стебло. До початку дозрівання льону плями стають сірими з бурими краями і покриваються безліччю пікнід. Уражені рослини стають наче кошлатими від обривків луб'яних волокон. При сильному ураженні все поле набуває сірвато-відтінку.

На бутонах і коробочках з'являються бурі плями з пікнідами. Пікніди зазвичай розташовані в центральній частині плям, на всіх уражених частинах рослини їх добре видно при огляді через лупу. При сильному ураженні рослин, пікніди утворюються всередині коробочок на перетинках і рідше на самому насінні, у вигляді білих бугорків, розміщених, головним чином, у зародковій частині. Більша кількість пікнід буває на чашолистках і квітконіжках. Сильно уражені бутони відмирають, а коробочки і насіння, що знаходиться в них, залишаються недорозвиненими.

Для аналізу відбирають щупле насіння світлого кольору, матове, з шорсткою поверхнею. На поверхні такого насіння, частіше в зародковій частині, можуть бути виявлені темні пікніди *Septoria linicola* або білуваті горбики, які також є результатом плодоношення збудника «пасмо». Пікніди багаточисленні, розташовані в некротичних коричневих плямах, занурені під епідерміс або з проривами, темно-коричневого кольору, у формі напівкулі, 62-125 мкм в діаметрі, з продихами.



Рис. 1. Симптоми ураження «пасмом» рослини льону (1-6),
7 – пікніди з пікноспорами

Мікроскопічний аналіз (згідно РІ.М.004)

При наявності ознак проводять дослідження під мікроскопом, для чого готують мікропрепарат. В таблиці 1 наведені пікноспори та більш рідкі

аскоспори. Перитеції виявлені на відмерлих тканинах стебел, напівкулясті або сферичної форми, розміром 70-100×60-90 мкм. В середині перитеція містяться мішкоподібні прозорі утворення – сумки або аски, в них містяться аскоспори. Від зразка беруть дві середні наважки по 5г, від 200г – 2 наважки. Кожну засипають подвійним об'ємом води кімнатної температури, рівень якої повинен бути вище рівня насіння. Пробірки збовтують протягом 1 хв., воду зливають у центрифужні пробірки і центрифугують 3-5 хв. Зливають воду з пробірок, беруть краплю осаду на предметне скло і оглядають під мікроскопом. З кожної пробірки готують по 5 мікропрепаратів, які оглядають під мікроскопом (збільшення 10-40). Збудника ідентифікують за морфологічними ознаками та розміром (табл. 1).

Таблиця 1

Морфологія пікноспор та аскоспор збудника пасмо льону

Характеристика	Пікноспори	Аскоспори
Колір та форма	безбарвні, напівциліндричні, прямі або зігнуті на кінцях, закруглені, як правило, з 1-3 перетинками	безбарвні, ниткоподібні, прямі або трохи зігнуті, стиснені біля перетинки, верхня клітина ширша за НИЖНЮ
Розмір	12-28×1,5-3 мкм (19-34,5×2,7-3,4 мкм)	11-17×2,5-4 мкм

Метод вологих камер (згідно РІ.М.003)

Насіння з білими горбиками закладають у вологу камеру для встановлення видової приналежності збудника захворювання. На 2-3-й день інкубування утворюються широко розкриті пікніди з великою кількістю спор. На дно чашок Петрі вміщують фільтрувальний папір (один шар), покладений на кружечки марлі (складена в три шари). Перед використанням кришку піднімають з одного боку та зволожують вміст чашки стерильною або свіжою кип'яченою водою. При наявності ознак проводять дослідження під мікроскопом, для чого готують мікропрепарат за РІ.М.004.

Метод поживних середовищ

Якщо на насінні льону не виявлено плодоношення, решту підозрілого насіння (не менш 200 шт.) закладають у чашки Петрі (не більше 25 шт. на кожную) з поживним середовищем, в якості якого беруть картопляно-глюкозний агар (ОПФ.М.009) з додаванням 1 краплі стерильної 50% лимонної кислоти, та пророщують у термостаті при температурі 24-26°C. Перший огляд здійснюють на п'ятий день, остаточний на дев'ятий. Колонії дрібні, підняті, з рідким білим або сіруватим міцелієм і спорами, що виділяються у вигляді оранжевих слизистих крапель. Проводять дослідження під мікроскопом для чого готують мікропрепарат за РІ.М.004. Заповнюють протокол за формою ОПФ.М.004.

Завдання 2**Провести ідентифікацію *Mycosphaerella linicola* Naumov**

Обрати методику (макроскопічний, мікроскопічний аналіз, метод вологих камер, поживних середовищ) та визначити наявність збудника хвороби пасмо льону в представлених рослинних зразках та насінні льону.

Завдання 3**Ознайомитись з правилами підготовки та зберігання зразка**

У разі виявлення збудника пасма льону – *Mycosphaerella linicola* оформлюють документ-зразок та готують постійний препарат (згідно РІ.М.005). На кожному предметному скельці вказується номер зразка та латинська назва організму. Мікропрепарат має зберігатися один рік, в подальшому він використовується для поповнення колекції карантинних організмів. Насіння з ознаками захворювання використовують для колекції.

Контрольні питання:

1. Опишіть загальну схему методики ідентифікації хвороби пасмо льону.
2. Які методики ідентифікації хвороби пасмо льону Ви знаєте?
3. Опишіть правила проведення макроскопічного аналізу.
4. Як провести мікроскопічний аналіз збудника хвороби пасмо льону?

Критерії оцінювання:

нарахування балів (до 2) здійснюється диференційовано в результаті відповіді на контрольні питання за підсумками виконання практичних завдань

Рекомендована література**Базова**

1. ДСТУ 4180-2003 «Методи мікологічної експертизи підкарантинних матеріалів». 30 с.
2. Сикало О. О., Мовчан О. М., Устінов І. Д. Карантинні шкідливі організми. Ч. 2. Київ, 2005. 5–10 с.
3. Руководство по досмотру и экспертизе растительных и других подкарантинных материалов / под ред. А. А. Варшалович. М., 1972. 175 с.
4. Станкевич С. В. Методи експертизи підкарантинних матеріалів: навч. посібник. Харків, 2017. 55–59 с.

Допоміжна

1. Методическое руководство по лабораторной экспертизе растительных материалов и почвы / под ред. Т. И. Роговая. М., 1960. 78–80 с.

