

## Лабораторна робота 1

### ТЕМА: «Симптоми хвороб рослин та їх діагностика»

**Мета роботи:** Засвоїти симптоми хвороб рослин та їх діагностика.

**Матеріали та обладнання:** таблиці, мікроскопи, предметні скельця, фільтрувальна бумага, препарувальні голки, чашки Петрі, гербарні, свіжі і фіксовані зразки органів рослин, уражених хворобами: сухою і мокрою бактеріальною гниллю картоплі, фітофторозом листя і бульб картоплі, плодовою гниллю яблук, раком картоплі, кореневим раком плодових, килою капусти, ріжками, борошнистою россою листя, іржею злаків, фузаріозним в'яненням льону або картоплі, бактеріозом і антракнозом листя огірків, летючою сажкою зернових, несправжньою борошнистою россою; дірчастою плямистістю кісточкових, мозаїкою листя картоплі, буряків, малини, стовбуром томатів; муміфіковані плоди яблук, кишеньки слив, „відьменні мітли” плодових або ягідників; заздалегідь витриманні у вологій камері ураженні фітофторозом плоди помідорів; заражене фузаріозом, гельмінтоспоріозом насіння зернових; набір грибів на поживних середовищах родів: *Fusarium*, *Alternaria* та ін.

### ТЕОРЕТИЧНІ ВІДОМОСТІ

Захворювання рослин викликаються, як дією несприятливих фізико-хімічних або інших абіотичних чинників навколишнього середовища, так і мікроорганізмами або організмами, що належать до вищих рослин (квітковими паразитами). Кожний паразитичний організм або абіотичний чинник здатний викликати своєрідне захворювання, що характеризується зовнішніми ознаками, або симптомами, або, інакше, типами ураження.

Симптоми захворювань можуть бути, як добре помітні простим оком, так і ледве помітними, або скритими, яких певний час не видно. Для того, щоб правильно проводити захист рослин від хвороб, необхідно уміти їх розпізнавати, тобто за сукупністю зовнішніх ознак ставити правильний діагноз.

#### Симптоми (типи прояву) хвороб

**В'янення** – пониження тургору всієї рослини або окремих її частин. В'янення спостерігається як на трав'янистих зелених рослинах, так і на багаторічних, в тому числі і на плодових.

**Пустули** – купки (подушечки) спороношень патогенних грибів, які утворюються на уражених частинах рослин, до дозрівання прикриті епідермісом рослин. При дозріванні спор епідерміс розривається і спори розносяться вітром, вимиваються дощем та ін. Форма пустул залежить від будови тканини рослини-господаря і від особливостей патогенних грибів (іржа хлібних злаків – пустули продовгуваті, іржа соняшнику – пустули округлі).

*Плямистості* – місцеве відмирання (некрози) ділянок тканин рослин, переважно листків, плодів або зелених гілочок. Плямистості розрізняються за формою (округлі, овальні, розпливчасті, неправильної форми та ін.). забарвленням (білі, бурі, чорні, червоні, мозаїчні, сірі, жовті, з обідком, без обідка та ін.), консистенцією (щільні, слизисті), походженням (грибні, бактеріальні, вірусні, неінфекційні).

*Нальоти* – розвиток на листках, стеблах, плодах грибниці і спороношень грибів (борошниста роса злакових культур, буряків, гарбузових культур, яблуні, груші, персика).

*Гнілі*. Найбільш поширений тип хвороб рослин. М'ясисті частини рослин багаті водою і поживними речовинами, найбільш придатні для загнивання. Розрізняють три типи гнилей — суху (утворюється при руйнуванні міжклітинних речовин та оболонок клітин, відносно бідних водою, тканини втрачають свою структуру і перетворюються в порошкоподібну або волокнисту масу), мокру (розклад тканин супроводжується руйнуванням складу клітин) і тверду.

*Нарости (гали, вздуття, пухлини, новоутворення)* – ненормальне розростання органів рослин за рахунок значного збільшення об'єму уражених клітин (гіпертрофія) - кила капусти, а також збільшення ураженого органа за рахунок збільшення кількості клітин без росту їх об'єму (гіперплазія) — рак плодів культур. Існує також змішаний тип наростів, якому властива як гіперплазія, так і гіпертрофія - рак картоплі.

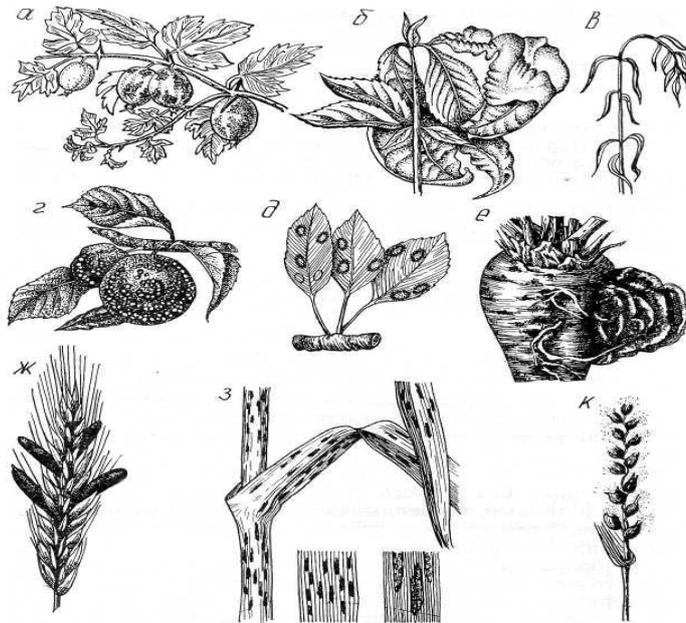
*Кучерявість (зморшуватість, хвилястість, гофроеаність)* листків. Обумовлена найбільш швидкоростучими клітинами паренхіми листка, який випереджає ріст листкових жилок, тому ділянки між ними стають випуклими, наприклад у персика.

*"Кишеньки"* – це виродливе розростання зав'язі у кісточкових порід (слива, черешня та ін.), коли замість плодів утворюються мішкоподібні утворення. Наприклад, розростання плодів (заснітка) сливи.

*"Відьмині мітли"* – ненормальний прискорений розвиток пагонів, викликаний різними видами роду *Tarphina*, мікоплазмами та іншими причинами. Пагони формуються скупчено і нагадують мітлу (на вільсі, вишні, березі та інших рослинах).

*Деформація листків і плодів* спостерігається при вірусних хворобах картоплі, томатів (стовбур, папоротеподібність), бавовни (скручування листків).

*Камедетечення (слизотечення, гомоз)*. Це хвороба стовбурів, стебел, гілок, плодів деревних порід, рідше інших рослин, яке виникає під впливом несприятливих умов зовнішнього середовища або мікроорганізмів. При цьому проходить гідроліз оболонок клітин і їх вмісту з витікання клейкої жовтої або бурої рідини іноді густіючої і застигаючої. Камідь розтікається вздовж стовбурів, гілок.



**Рис. 1. Типи ураження рослин:**

*а – наліт, б – деформація, в – в'янення, г – гниль, д – плямистість, е – нарости, ж – муміфікація, з – пустули, к – руйнування органів (сажка).*

*Руйнування органів (сажка)* - руйнування враженої тканини і перетворення її в чорну порошисту масу, яка складається із спор збудника хвороби. Найчастіше даний тип прояву хвороби зустрічається на генеративних органах рослин - колосі, зернівці (тверда та летюча сажка пшениці, ячменю), але може проявлятися і на інших органах - стеблі (стеблова сажка пшениці), листках (пухирчата сажка кукурудзи) та ін.

Для постановки кінцевого діагнозу хвороби враховують комплекс ознак:

- зовнішні ознаки хворої рослини в динаміці;
- зміну в будові хворих тканин;
- порушення нормального проходження фізіологічних процесів в рослині;
- причину хвороб рослин;
- визначення збудника хвороби, його систематичне положення, біологію, екологію.

Остаточний діагноз ставиться за допомогою цілого *набору методів* - мікроскопічного, біологічного, серологічного, культурального, індикаторного і ін.

**Методи діагностики.** Для встановлення діагнозу хвороби перш за все застосовується *макроскопічний* або *візуальний* метод, тобто зовнішній огляд, порівняння хворих рослин із здоровими із встановленням симптомів захворювань неозброєним оком. Найбільш розповсюдженими є типи хвороб: в'янення, гнилі, руйнування органів рослин, плямистості, нальоти, пустули, муміфікація, нарости, камедетечіння.

У практиці діагностики хвороб рослин можуть зустрічатися випадки, коли зовнішні ознаки двох або декількох захворювань співпадають між

собою, а природа цих захворювань, їх збудники різні. У таких випадках користуються додатковими методами діагностики.

Частіше використовують *мікроскопічний* метод — вивчення зрізів тканини або спороношення грибів, ексудату бактерій, вірусних включень під мікроскопом, що дає можливість встановити збудника або характер змін в уражених тканинах.

Для точнішого визначення збудника використовують *культуральний* метод – патогенний організм виділяється на штучне поживне середовище і витримується в термостаті при певній температурі та вологості протягом встановленого терміну.

При діагностиці методом *вологої камери* уражені органи для прояву спороношення при грибних захворюваннях або ексудату — при бактеріальних витримують в умовах сприятливих для патогена, створюють підвищену вологість шляхом розкладання хворих рослин або їх частин на зволожений субстрат (фільтрувальний папір, пісок та інші наповнювачі).

Для порівняльного вивчення особливостей проходження хвороби рослини, спеціалізації збудника по відношенню до уражуючої рослини, застосовується *штучне зараження* здорових рослин.

Існують інші додаткові методи діагностики:

*серологічний, люмінесцентний, біохімічний та ін.*

### **Хід роботи**

На практичних заняттях ознайомлення з симптомами ураження необхідно починати із зовнішнього огляду хворої і здорової рослини. Після чого визначити типи хвороб за ключем наступним чином: прочитати перший пункт (тезу) і, якщо він не суперечить характерним ознакам ураження, дивляться наступний пункт. Якщо ознаки не співпадають з описаними, переходять до пункту, номер якого стоїть в дужках, тобто до антитези. Таким чином вивчають ключ до тих пір, поки не буде знайдено назву типу хвороби.

### **Ключ для визначення типів хвороб**

1(4). Уражена вся рослина.

2(3). Рослина пригнічена. Внаслідок втрати тургору відбувається пожовтіння і в'янення. Причинами можуть бути закупорка судинної системи мікроорганізмами, ураження кореневої системи, нестача вологи в ґрунті, ураження вищими квітковими паразитами, механічні пошкодження, отруєння токсинами. . . . .

### **. . . В'янення**

3(2). Рослина деформована, збільшена кількість вкорочених пагонів, на всій рослині може бути укорочене або зморшкувате листя. . . . .

### **Загальна деформація**

4(1). Уражені окремі органи рослин.

5(8). На уражених частинах рослин відмираючі ділянки тканини або окремі органи змінили свою форму.

6(7). На листі, рідше на інших органах спостерігається відмирання окремих ділянок тканин або зменшення хлорофілу в зелених органах рослин. На органах, багатих поживними речовинами і водою, відмирання охоплює тільки поверхневі шари тканини, не розповсюджуючись углиб. . . . .

### ***Плямистості***

7(5). Зміна форми уражених органів рослин. Може відмічатися виродливість, здерев'янілість, зрастання та інші форми. . . . .

### ***Деформація***

8(11). Уражені органи покриті горбиками або цвіллю.

9(10). На вегетативних або генеративних органах – сіра, біла, бура, коричнева або чорна, така, що легко стирається пліснява, епідерміс під нею без пошкоджень. . . . .

### ***Нальоти***

10(8). На уражених органах — горбики, купки спори, покриті епідермісом або виступають з тріщин тканини рослин; горбики можуть мати жовте, буре, оранжеве, коричневе, чорне забарвлення. . . . .

### ***Пустули***

11(14). Уражені органи розм'якшуються або ненормально розростаються.

12(13). Органи, багаті поживними речовинами і водою (коренеплоди, плоди, стебла, бульби та ін.), розм'якшуються і загнивають. Ураження може охоплювати всі тканини, розповсюджуючись в глиб органу. . . . .

### ***Гнилі***

13(11). Ненормальне розростання окремих органів рослин різної величини і форми. . . . .

### ***Нарости***

14(8). Інші симптоми ураження.

15(16). Уражені органи перетворюються на тверді, темні, шкіряні утворення або чорну пилоподібну масу, із хворих частин рослин виділяється рідина, що затвердіває на повітрі.

16(17). Плоди або насіння перетворюються на темні щільні утворення чорного кольору з гладенькою або шороховатою поверхнею. . . . .

### ***Муміфікація***

17(18). Уражені органи (зерно, стебла, листя) руйнуються і перетворюються на порошкоподібну масу чорного або коричневого кольору. . . . .

### ***Руйнування органів (сажка)***

18(14). На хворих рослинах утворюються тріщини, з яких виділяється рідина, що затвердіває на повітрі. . . . .

### ***Камедетечіння***

Студенти розбирають рослини на групи з урахуванням симптомів ураження (рис. 1).

Плямистості можуть бути різними за характером прояву: без різкого переходу між здоровою і хворою тканиною, з розпливчастими і різко окресленими плямами, продовгуватої і кутоподібної форми, з облямівкою навколо них і без неї. Є декілька симптомів плямистостей: при грибних плямистостях на відмерлих ділянках з'являється спороношення у вигляді несправжніх нальотів, подушечок, темних або іншого кольору крапок — плодових тіл; при плямистостях, викликаних бактеріями, часто помітна маслянистість, а в місцях ураження можна побачити краплини рідини — бактеріальний ексудат.

Плямистість із чергуванням темно-зелених і світло-зелених ділянок, називається мозаїкою, в основному вона викликається вірусами.

При гнилях руйнується міжклітинна речовина, відбувається розкладання тканини.

Нальоти є двох типів: справжні, представлені безстатевим спороношенням, грибницею і плодовими тілами, і несправжні, що складаються тільки з безстатевого спороношення. Із справжнім нальотом ознайомлюються на прикладі борошнистої роси пшениці або дуба, з несправжнім — макроспоріозом помідорів.

**Препарат 1** — борошниста роса дуба, збудник *Microsphaera alphitoides* Griff, et Maubl. При ураженні дуба характерне утворення білого борошнистого нальоту і чорних крапок на листі і молодих пагонах, добре видимих неозброєним оком. Для мікроскопічного вивчення беруть з листка білий наліт з чорними краплинами, поміщають в краплину води або розчину молочної кислоти, накривають покривним склом і розглядають при малому збільшенні мікроскопа. Наліт представляє собою грибницю і спороношення у вигляді ланцюжків овальних спор. Чорні краплини (плодові тіла) мають вигляд шароподібних утворень з грубими розгалуженими придатками.

**Препарат 2** — макроспоріоз помідорів, збудник *Macrosporium solani* Ell. et Mart. При візуальному огляді на листі томатів помітні великі, зональні, до 1 см в діаметрі, плями з чорним нальотом.

Для приготування препарату знімають ланцетом наліт. Під мікроскопом помітні спори, самі молодші — одноклітинні і безбарвні, старіші — булавоподібні з поперечними і повздовжніми перегородками.

**Препарат 3** — стеблова іржа злаків, збудник *Rusticia graminis* Pers. Візуально на стеблах злаків, рідше — на листі помітні іржаві або чорні купки спор — пустули, розміщені в лінію. При розгляді уражених органів під лупою помітні тріщини — розірваний епідерміс, під яким утворилися пустули гриба. Для отримання мікроскопічного препарату зішкрібують ланцетом пустули і розглядають спочатку при малому, пізніше при великому збільшенні мікроскопа. Пустула складається із світло-коричневих двохклітинних спор.

## ДІАГНОСТИКА ГРИБНИХ ХВОРОБ РОСЛИН

### **Вступні пояснення**

**Приготування і аналіз мікроскопічних препаратів.** На чисте предметне скло, знежирене 40%-м розчином етилового спирту, наносять піпеткою 1-2 краплі води. Препарувальною голкою відокремлюють невелику кількість нальоту міцелію або спорової маси, переносять в краплю води і подрібнюють другою голкою. Якщо наліт міцелію не вдається відокремити від тканини рослини, гострим скальпелем або препарувальною голкою відокремлюють маленький шматочок ураженої тканини, переносять в краплю води, подрібнюють двома голками і накривають покривним склом. Розміри досліджуваних об'єктів великі, тому спочатку їх розглядають при малому збільшенні мікроскопа і лише для детальнішого дослідження використовують велике збільшення.

**Витримування ураженого грибами рослинного матеріалу при високій вологості.** Камерою може бути будь-яка закрита посудина, в якій можна створити відносну вологість повітря 100%. Для цього використовують чашки Коха і чашки Петрі. Дно і кришку чашки вистилають вологим фільтрувальним папером, не допускаючи скупчення води на дні чашки, щоб не викликати загнивання матеріалу.

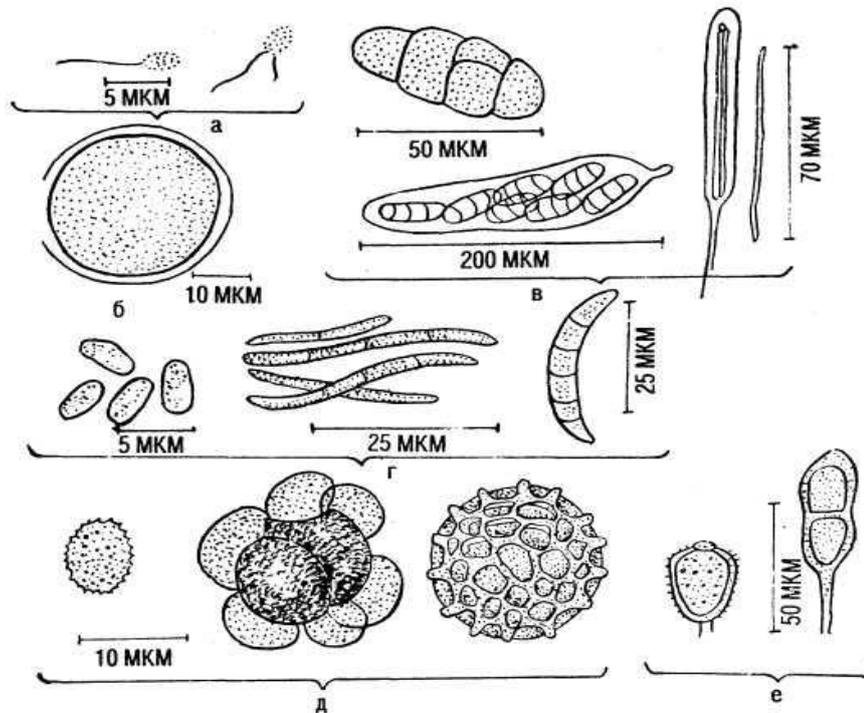
Перед перенесенням у вологу камеру досліджуваний матеріал ретельно миють проточною водою. Бульби, плоди і коренеплоди, стебла і аналогічні частини рослин поверхнево дезинфікують спиртом або перманганатом калію. Матеріал розрізають на частини для швидшого проростання міцелію на поверхню, при цьому ніж або скальпель періодично обпалюють (стерилізують). Листки розкладають в чашці цілим або розділяють на частини, якщо вони не поміщаються в ній.

Вологі камери витримують при температурі 15-20°C. Якщо досліджуваний збудник добре росте і при нижчих температурах, то встановлюють температуру 8-10°C, яка затримує розвиток сапротрофних грибів, що перешкоджають виявленню збудника. Тривалість інкубації у вологій камері залежить від часу, який необхідний для утворення спор. Зазвичай цей період обмежений одним — трьома днями, але іноді продовжується до двох тижнів. Протягом цього часу періодично контролюють вологість і при необхідності фільтрувальний папір в чашках зволожують.

**Виділення грибів в чисту культуру.** Уражені рослини миють у проточній воді, відокремлюють уражені частини. Якщо рослини в'януть, то для дослідження беруть нижню частину стебла і корені. Частини рослин, призначені для виділення патогена, поверхнево дезинфікують, промивають стерильною водою і розрізають на шматочки завдовжки 1 - 2 см. Матеріал розміщують в чашках Петрі з агар-агаром і ставлять в

термостат при 20°C. Щодня чашки переглядають. Як тільки міцелій збудника починає проростати із зрізів і переходить на поживний субстрат, його переносять на чисте живильне середовище в іншу чашку. Після чого гриб визначають за типом спороношення.

Визначення фітопатогенних грибів проводять переважно за морфологічними ознаками плодових тіл і спор (рис. 1).



**Рис. 3.1. Форми спор окремих грибів:**

**а** – зооспори (зліва — грибів роду плазмодіофора, справа — роду синхітріум); **б** – ооспори грибів роду фітофтора; **г** – конідії (зліва — грибів роду фома, в центрі роду септорія, справа — роду фузаріум); **в** – аскоспори (зліва грибів роду плеоспора, справа — роду клавіценнс); **д** – сажкові спори (зліва — грибів роду устілаго, в центрі — роду уроцистис, справа – роду тілеція); **е** – теліоспори (зліва – грибів роду уроміцес, справа — роду пукцінія).

Спори діагностують за забарвленням, формою, розміром, наявністю перегородок і типом проростання. Ідентифікацію фітопатогенних грибів в культурі (in vitro) здійснюють за безстатевим спороношенням — спорангіями із зооспорами, конідіями, пікнідами з пікноспорами, хламідоспорами та ін. Додатково використовують для діагностики конідієносці, а також особливі утворення міцелію (пряжки, анастомози, склероції та ін.).

Якщо гриб, ізольований з уражених частин рослини, не утворює спороношення, застосовують методи стимуляції спороутворення, наприклад спеціальні поживні субстрати, певний режим світла і температури та високу вологість повітря.

В окремих фітопатогенів діагностичною ознакою може бути характер проростання спор. Наприклад, у грибів роду дрехслера (*Drechslera*, син. *Helminthosporium*) паросткові трубки формуються зі всіх клітин спори, тоді як у видів роду біполаріс (*Bipolaris*, син. *Helminthosporium*) – проростають тільки кінцеві клітини спори.

Розміри спор враховують в першу чергу при розподілу окремих видів грибів у межах роду.

## **ДІАГНОСТИКА БАКТЕРІАЛЬНИХ ХВОРОБ РОСЛИН**

### **Вступні пояснення**

Фітопатогенні бактерії визначають за наступними критеріями:

- патогенності;
- морфології клітини і колонії;
- фізіологічним і біохімічним властивостям бактерій.

**Встановлення патогенності.** Для достовірного встановлення бактерійної етіології хвороби необхідно відповідно до правила Коха виконувати наступні вимоги:

- виділити збудника хвороби в чисту культуру;
- шляхом інокуляції рослин чистою культурою збудника отримати на рослинах такі ж симптоми, які спостерігаються на початкових хворих рослинах;
- повторно ізолювати збудника з штучно заражених рослин;
- порівняти реізолюваного збудника з початковим;
- обидва збудники повинні бути ідентичними.

Для перевірки на патогенність використовують ті види рослин, з яких був ізолюваний збудник. Досліджувані чисті культури використовують віком 24—48 год. Бактерій змивають стерильною водою і отриману суспензію доводять до необхідної концентрації (число бактерійних клітин на 1 мл); тобто розбавляють суспензію стерильною водою. Щільність суспензії (концентрацію) визначають за стандартною шкалою каламутності. Приготовану суспензію використовують для зараження рослин.

**\*Інокуляція обприскуванням або ін'єкцією бактеріальної суспензії.** Для встановлення фітопатогенних бактерій, які викликають плямистість листя, рослини заражають шляхом обприскування бактерійною суспензією. Перед зараженням рослини на один-два дні поміщають у вологу камеру, наприклад під скляний ковпак. У такій камері продиhi рослин максимально відкриваються, що сприяє кращому проникненню бактерій в листя. Після інокуляції рослини витримують при підвищеній вологості повітря (80—95%) протягом двох-трьох днів. Бактерійну суспензію можна вводити в міжклітинники за допомогою медичного шприца, проколюючи голкою із затупленим кінцем епідерміс з нижнього боку листка.

**\*Інокуляція через рани.** Голкою або скальпелем пошкоджують стебла або інші органи рослин (плоди, коренеплоди і т. д.) і на місце поранення наносять

бактерійну суспензію. Для пошкодження стебел видаляють листки і бруньки. При зараженні листя можна заздалегідь пошкодити епідерміс, натираючи його карборундом.

Для зараження бактеріями, які *викликають в'янення*, зрізають корені біля основи рослини і поміщають її в бактерійну суспензію на 3 год.

Бактерійна природа захворювання вважається доведеною, якщо при штучному зараженні (інокуляції) на рослині з'являються типові симптоми. Тривалість інкубаційного періоду складає від декількох днів до місяця і більше залежно від виду фітопатогенної бактерії і вражаючої рослини.

**\*Використання біотестів.** Основними біотестами, що дозволяють порівняно легко і швидко виявляти збудників бактеріозів є:

*Тест на мокрої гнилі за Штаном* заснований на здатності збудників мокрої гнилі швидко руйнувати тканину бульби картоплі, луски цибулі або моркви. Бульби картоплі ретельно миють, поверхнево стерилізують і розрізають на половинки або кусочки. Уражену тканину досліджуваного матеріалу розтирають і змішують з водою. Отриману суспензію піпеткою наносять на шматочки бульб так, щоб вони були повністю покриті нею. Після цього матеріал поміщають в термостат і витримують протягом двох діб при 20°C. Якщо в аналізованому рослинному матеріалі були присутні збудники мокрої гнилі, наприклад *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, то тканина розм'якшується і загниває. Для встановлення збудників мокрої гнилі замість бульб картоплі можна використовувати кусочки лусок цибулі або моркви.

*Тест на рослинах баклажану для встановлення Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* — збудника кільцевої гнилі картоплі. Рослини баклажана вирощують з протруєного насіння при 22—25°C. Інокують їх у фазі двох-трьох справжніх листків, коли стебла рослин досягають в діаметрі 1,5 мм. Бактерійну суспензію готують шляхом, змиву чистої культури бактерій або з подрібненої ураженої тканини і вводять шприцом з дуже тонкою голкою у верхівки стебел. При температурі інкубації 20—25°C бактерії активно розмножуються в рослинах баклажану. Симптоми ураження — одностороннє в'янення, пожовтіння, деформація листя — з'являються через 15—35 днів після інокуляції залежно від концентрації суспензії. Поява типових симптомів вказує на присутність збудника.

*Тест на плодах груші для виявлення Erwinia amylovora* заснований на реакції недозрілих плодів груші на зараження збудником бактерійного опіку груші. Бактерійну суспензію готують з чистої культури або подрібненої ураженої тканини і вводять в плоди груші. Замість бактерійної суспензії для інокуляції можна використовувати шматочки ураженої тканини. У недозрілому плоді проколюють дірочки стерильним пінцетом або препарувальною голкою і вдавлюють в них подрібнену уражену тканину. Після закінчення 2 — 7 днів в місцях інокуляції виступають характерні білуваті плями слизу. Цей симптом свідчить про присутність збудника бактерійного опіку груші.

**Морфологія клітин і колоній.** Фітопатогенні бактерії за формою клітин поділяють на три типи:

- короткі палички (види родів *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia*);
- довгі палички (види роду *Bacillus*);
- клітини різної форми (види родів *Clavibacter* і *Rhizobium*).

Цю ознаку можна використовувати для ідентифікації тільки у поєднанні з іншими показниками, зокрема, з визначенням точного розміру бактерії.

При визначенні бактерій треба встановити і їх рухливість, яку визначають різними шляхами, наприклад у «висячій краплі», і використовують для швидкого виявлення нерухомих видів (з роду *Clavibacter*). Для точнішого віднесення рухомих форм до певних родів використовують такий показник, як джгутикування, оскільки в першу чергу бактерії поділяють на безджгутикові (нерухомі) і джгутикові (рухомі). Тип джгутикування встановити дуже важко, для цього необхідні різні барвники або електронно-мікроскопічні дослідження.

При ідентифікації бактерій використовують фарбування за Граммом і результат цього аналізу залежить від складу і структури клітинних оболонок. Грампозитивні фітопатогенні бактерії знайдені поки лише в родах: *Bacillus*, *Clostridium* і *Clavibacter*. Тоді як інші роди, які включають фітопатогенні види, відносяться до грамнегативних.

Перераховані ознаки характерні для великих груп бактерій і можуть бути використані при встановленні їх родової належності. Тому і відноситься до морфології бактерійних колоній.

Морфологію бактерійних колоній встановлюють при вирощуванні бактерій на твердому поживному середовищі. Структура колоній змінюється залежно від субстрату і не завжди постійна для представників одного виду. Тому при діагностиці видів цю ознаку використовують як додаткову. Колонії мікроорганізмів можуть бути плоскими, опуклими або з піднесенням в центрі, мати гладкі, хвилясті або розпливчаті краї. Важливо враховувати і забарвлення колоній — прозора або біла, кремова, бура, червона або синя. Окремі види бактерій виділяють в середовище пігменти.

**Біохімічні і фізіологічні ознаки.** Оскільки між видами бактерій існують незначні морфологічні відмінності, для ідентифікації їх широко використовують фізіологічні показники, в першу чергу потребу бактерій в поживних речовинах і активності обмінних реакцій. Так, для діагностики використовують особливі форми розщеплення вуглеводів.

Найважливіші обмінні речовини бактерійних клітин — білкові сполуки. Використання бактеріями для живлення певних важкодоступних білків враховують при діагностиці видів. Є ряд основних ознак, що визначають здатність використовувати білки:

- розрідження желатину;
- відокремлення аміаку з білкових сполук;
- розщеплення сірковмісних білкових речовин з утворенням сірководню;

- здатність утворювати індол;
- реакція на лакмусове молоко, що містить велику кількість лактоз, глюкоз, два молочні білки і лакмус (залежно від джерела живлення бактерії викликають неоднакове забарвлення лакмусового молока — рожеве, синє або світле).

## **СИМПТОМИ ВІРУСНИХ ХВОРОБ РОСЛИН**

### **Вступні пояснення**

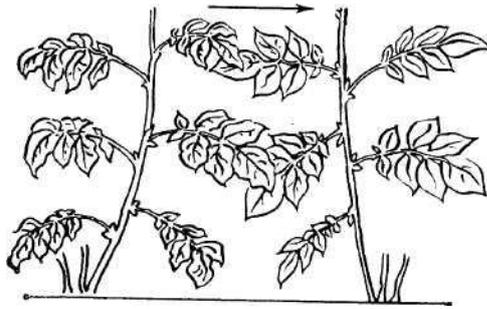
**Поширення вірусів.** Віруси можуть проникати в рослини тільки через пошкоджену покривну тканину. Пошкодження рослинам, через які можуть проникати віруси, наносяться або механічно, наприклад, коли листя однієї рослини контактують з листям іншої, або організмами, здатними переносити вірус. Якщо передачу інфекції здійснює організм, що переносить вірус, його називають переносником.

Переносниками вірусів можуть бути комахи, кліщі, ґрунтові нематоди і гриби, паразитуючі на підземних органах рослин. Деякі фітопатогенні віруси розповсюджуються з посадковим матеріалом — з бульбами, цибулинами, відводками, насінням. Віруси можуть передаватися з пилком заражених рослин і навіть квітковим паразитом — повитицею.

Розрізняють наступні способи передачі:

1. *Контактно-механічний.* Передачу вірусів при контакті заражених і здорових рослин називають *контактно-механічною*. Суть її полягає в здатності вірусів передаватися від однієї рослини до іншої при взаємоуражуючому зіткненні листя, стебел, коренів, в результаті чого сік потрапляє з хворого організму до здорового разом з вірусом. Контактним способом розповсюджуються віруси, які розвиваються і накопичуються в клітинах епідермісу, тобто збудники мозаїки. У деяких з них, наприклад ВТМ, Х-вірус картоплі та інших, цей спосіб передачі переважає. Їх контагіозність, тобто інфекційність, дуже велика.

Достатньо невеликих ран на поверхні рослин (наприклад, пошкодження волосків на листі), щоб з'явилася можливість контактної передачі (*рис. 1*). Умови, сприятливі для неї, створюються після змикання рослин в рядках. На великі відстані контактні віруси передаються в процесі догляду за посівами (розпушення, підгортання, прополка та ін.). Так, ВТМ і Х-вірус картоплі можуть зберігатися на одязі того, що працює, знаряддях виробництва, руках і т.д. Розповсюдженню контактних вірусів сприяють механічні пошкодження рослин при щепленні і пасинкуванні помідорів, боламуванні листя тютюну і інших прийомах догляду.

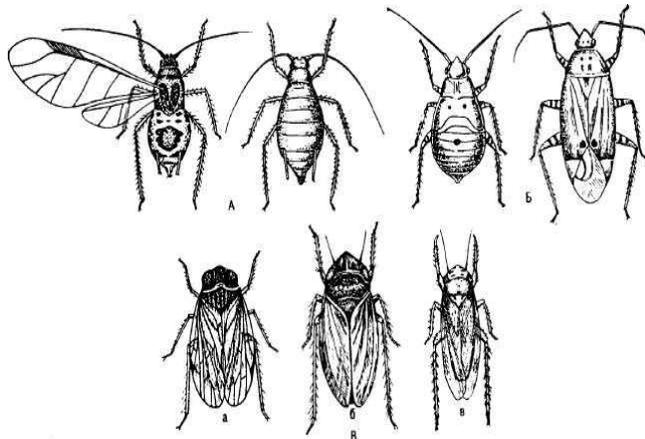


**Рис. 5.1. Передача вірусів при контакті заражених і здорових рослин.**

2. *Векторний.* Передача вірусів переносниками. Це найпоширеніший спосіб передачі вірусів в природі.

Відомо вже близько 400 видів членистоногих: попелиць, клопів, цикадок, трипсів, кліщів — що переносять понад 200 різних вірусів. Серед переносників найбільш важлива роль належить персиковій попелиці (*Myzodes persicae*, Sulz.) - здатна передавати більше 60 вірусів. Частина вірусів передається кліщами, листям, що харчуються, і бруньками. Поширювати віруси можуть також нематоди і гриби.

Переносників різних систематичних груп (комах, кліщів, нематод, грибів) об'єднують загальні властивості - всі вони проникають в непошкоджені клітини під час живлення на рослинах (рис.2).



**Рис. 5.2. Комахи — переносники вірусів:**

**А** - персикова попелиця (*Myzodes persicae* Sulz.) (безкрила і крилата форми); **Б** - польовий клоп (*Lygus praiensis* L.) (справа - доросла особина, зліва - личинки IV віку); **В** - цикадки: **а** - в'юнкова (*Ilyalentus absoletus* Sryn.), **б** - конюшинова (*Aphrodes licintus* Curt.), **в** - шестикранкова (*Macrosteles sexnotatus* Fall.)

Стан, при якому переносник зберігає інфекційність після того, як покине заражену рослину називається *персистентністю*. Розрізняють три основні типи персистентності:

- *неперсистентність* означає, що переносник зберігає інфекційність, тобто здатність передавати вірус, протягом декількох годинників (менше 4 год.). Неperсистентні віруси концентруються в паренхімі викликають мозаїки. Основні їх переносчики— попелиці. До вірусів цієї групи відносять віруси мозаїки буряка і квасолі, вірус мозаїки яблуні, вірус огіркової мозаїки 1; Y-, A- і M-віруси картоплі;

- *напівперсистентність* спостерігається, коли переносник зберігає інфекційність протягом 10—100 год. Напівперсистентним вірусам не властивий латентний період в тілі переносника. Ці віруси проникають в організм переносника після його тривалого живлення на зараженій рослині і зберігаються там один — три дні. Напівперсистентні віруси концентруються у флоемі. Типові представники описаної групи патогенів - збудники жовтяниці буряка і тристеца цитрусових;

- *персистентність* - коли він зберігає інфекційність понад 100 год, а іноді і протягом усього життя. Таку передачу здійснюють: цикадки, рідше попелиці, білокрилки, трипси, клопи та кліщі. Вона характерна для збудників бронзовості помідорів, скручування верхівки буряків, мозаїки гарбуза та ін. Персистентні віруси локалізовані у флоемі і викликають хвороби типу жовтяниці.

Деякі віруси можуть зберігатися на гризучому ротовому апараті жуків, метеликів, прямокрилих і розповсюджуватися на ньому від рослини до рослини. Кліщі передають збудників смугастої мозаїки пшениці, мозаїки цибулі, мозаїки персика та інших вірусних хвороб.

Віруси двох груп передаються паразитуючими на рослинах нематодами: неповіруси і тобравіруси. Нематоди поширюють близько 20 представників цих груп. Серед них збудники кільцевої плямистості тютюну, кільцевої плямистості малини та ін.

Деякі віруси передаються ґрунтовими грибами. Так, вірус некрозу тютюну (ВНТ), що часто зустрічається на корінні рослин, поширюється - *Olpidium brassicae*. *Olpidium cucumbitae*, передає вірус некрозу огірка. Окремі віруси зберігаються усередині зооспор цього переносника, наприклад вірус розростання жилок салату.

3. *Передача через насіння, пилок та іншими шляхами.* Здатність розповсюджуватися з насінням встановлена приблизно для 20% вірусів. Сюди відноситься багато вірусів бобових (збудники мозаїки квасолі, сої та ін.), помідорів (ВТМ), огірковий вірус-2 (ВОМ-2).

Передача вірусів від пилку до насіння в процесі запилення характерна для ураження плодових культур. Вірусні частинки можуть знаходитися на поверхні пилкових зерен і зараження відбувається через приймочку.

Інфікування насіння вірусами може бути зовнішнім і внутрішнім. Здатність зберігатися на поверхні насіння властива тільки дуже стійким вірусам – ВТМ, але навіть у них вона виявляється не завжди і залежить від будови плодів рослини-господаря. Більшість вірусів потрапляють в насіння

не з поверхні, а через внутрішні тканини системно зараженої рослини. Насінням при внутрішній інфекції передається вірус штрихової мозаїки ячменю (ВШМЯ).

Вірусна інфекція при зараженні рослин через насіння розвивається, як правило, значно повільніше, ніж при контактній або векторній передачі.

Передача вірусу *при вегетативному розмноженні* характерна для картоплі (бульби), ягідних (вуса суниці), плодових культур та ін. Щепленням передаються всі віруси без виключення.

Деякі віруси можуть переноситися з однієї рослини на інше *повитицею*, якщо вона паразитує одночасно на двох сусідніх рослинах і є як би містком між ними.

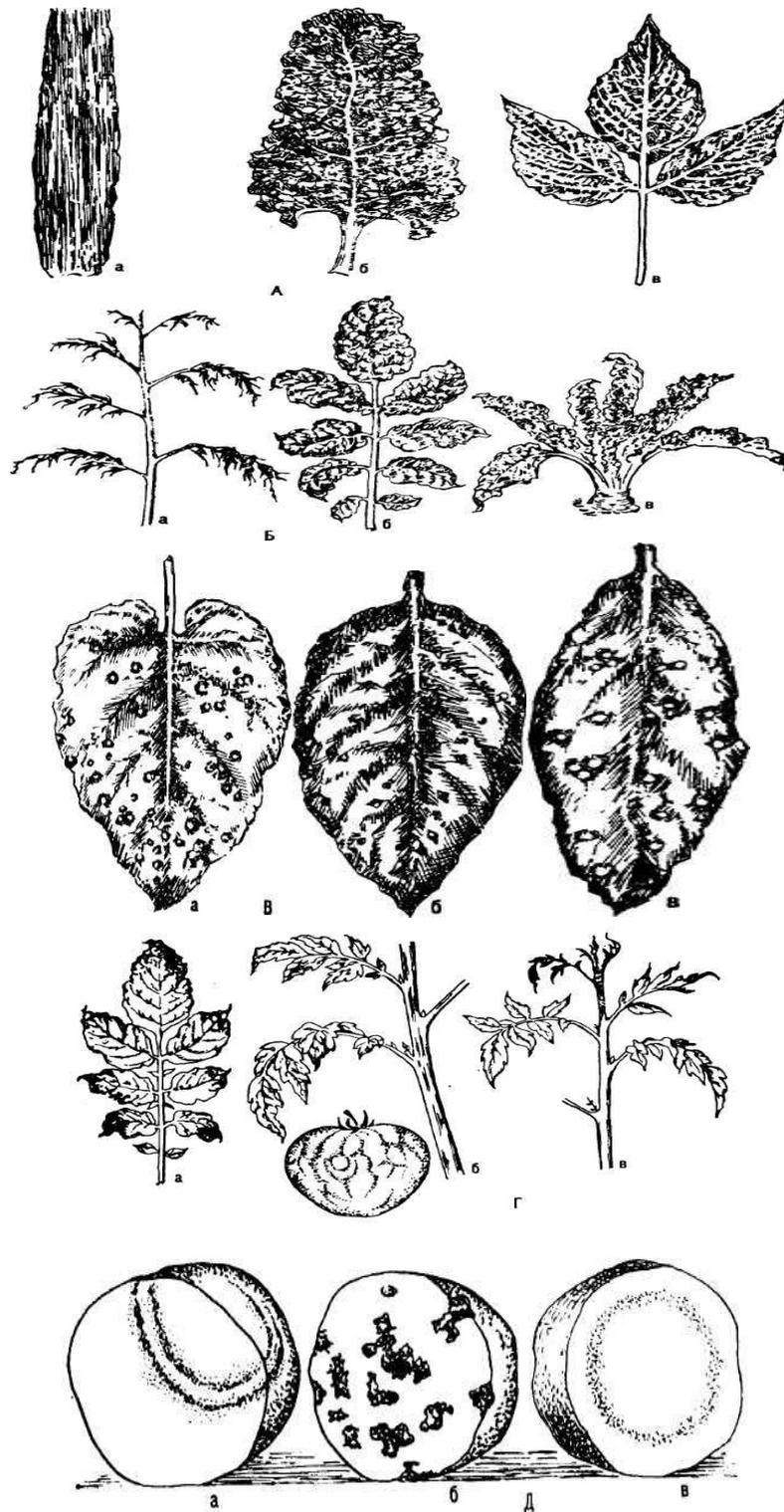
Передача інфекції *при гідропонній культурі овочів*: від заражених рослин віруси потрапляють в живильний розчин і швидко розповсюджуються з його струмом по всій теплиці. У зв'язку з цим при гідропонному вирощуванні помідорів наростання інфекції ВТМ відбувається значно швидше, ніж в умовах звичайної ґрунтової культури. Крім того, віруси типу ВТМ і збудника зеленої крапчастої мозаїки огірка можуть значний час зберігатися в пористому гідропонному субстраті — керамзиті.

**Симптоми вірусних хвороб.** За характером прояву симптоми вірусних хвороб поділяються на п'ять типів (*рис. 3*): затримка росту, зміна забарвлення різних органів, деформація органів, некрози, порушення репродуктивних функцій (стерильність, безнасінність, обпадання квіток і зав'язі).

При затримці росту рослина стає карликовою. Пригнічення росту може виражатися в загальній карликовості рослин (жовта карликовість картоплі, карликовість рису, залялькування вівса), в укороченні міжвузлів на верхівці пагонів, пригніченні росту головних стебел при посиленні росту бічних пагонів (скручування листя хмелю, аспермія помідорів).

Мозаїка характеризується нерівномірним забарвленням листя, на якому спостерігаються ясно-зелені, жовтувато-зелені, жовті плями або ділянки, розкидані безладно, іноді створюючи своєрідний малюнок: кільця, півкільця, дугоподібні або лінійні узорі та ін. Залежно від розташування ділянок мозаїки на листі її розділяють на жилкову, прижилкову і міжжилкову. При ясно-жовтому або білому забарвленні мозаїку позначають як аукуба-мозаїка, при хлоротичном фарбуванні всієї поверхні листа — як жовтяницю.

Деформація органів відбувається із-за нерівномірного росту окремих ділянок тканин листової пластинки, плодів і квіток.



**Рис. 3. Симптоми вірусних хвороб:**

**А** — - мозаїки: *а* — смугастої пшениці, *б* — буряків, *в* — звичайної квасолі; **Б** — деформації листя: *а* — ниткоподібність помідорів, *б* — зморшкуватість картоплі, *в* — кучерівість буряків; **В** — місцеві некрози: *а* — некрози на листі клейкого тютюну, викликані вірусом тютюнової мозаїки, *б* — некрози на листі гібрида А-б, *в* — некрози на листі гомфрени від вірусу х картоплі; **Г** — системні некрози: *а* — смугаста мозаїка картоплі, *б* — стрик

*(штрихова) помідорів, в — верхівковий некроз помідорів; Д — внутрішній некроз бульб картоплі: а — концентричний, б — плямистий, в — сітчастий.*

Некроз або відмирання тканини, виявляється у вигляді окремих плям, кілець, узорів на листі, некротичних смуг і штрихів: на стеблах, жилках, черешках листя.

В деяких випадках на рослинах, заражених вірусом, не виявляються симптоми хвороби. Безсимптомна інфекція (зараженість) носить назву *прихованою*, або *латентною*. Випадки латентної зараженості відомі, наприклад, для Х- вірусу картоплі.

В більшості випадків на зараженій рослині виявляється не один симптом, а декілька, а їх поєднання міняється у міру розвитку хвороби і з віком рослини. Наприклад, при зараженні томату вірусом тютюнової мозаїки спочатку з'являються мозаїка і деформація листя, надалі, особливо при недоліку світла і коливаннях температури, розвивається системний некроз, некроз плодів і зав'язей.

Тому ознаки вірусних хвороб необхідно вивчати в динаміці, протягом всього вегетаційного періоду. Приклади схожості симптомів захворювань, що викликаються різними причинами (інфекційними і неінфекційними), свідчать про те, що не можна робити висновок про вірусну природу захворювання лише по зовнішніх ознаках без спеціальних аналізів.

## **ОПТИЧНІ ПРИЛАДИ І МІКРОСКОПУВАННЯ ЗА ВИЗНАЧЕННЯ** **ХВОРОБ РОСЛИН**

Основними оптичними приладами для фіто патологічних дослідів є світлові мікроскопи. У даний час для лабораторно-практичних занять використовують мікроскопи МБР-1, Біолам – С і ін..

При денному освітлення мікроскоп встановлюється так, щоб на дзеркало не потрапляли прямі промені сонячного світла. При недостатньому освітленні необхідно використовувати спеціальні освітлювачі, які дають рівномірне освітлення препарату. При електричному освітленні в тримач під столиком мікроскопа вставляють світло-синій світлофільтр з матового скла. Якщо джерело світла розміщено далеко, користуються плоским дзеркалом. Ступінь освітлення поля зору мікроскопа регулюють діафрагмою.

Препарат розміщують на предметний столик і за допомогою мікрометричного гвинта опускають тубус до тих пір, доки не буде видно поверхню скла з препаратом. Дивлячись в мікроскоп і повільно піднімаючи тубус, відшуковують потрібний об'єкт. Потім за допомогою гвинтів предметного столика його переводять у центральне положення поля зору мікроскопа і, повертаючи мікроскопічний гвинт, досягають чіткого зображення.

Починають мікроскопування завжди при малому збільшенні (окуляр 15, об'єктив 8), потім переводять на збільшення, користуючись об'єктивом 40.

*Визначення грибних і бактеріальних збудників пов'язано із необхідністю мікроскопічного вимірювання бактерій, грибниці чи її спораношення. Для цього користуються допоміжними для мікроскопа пристроями: окулярними і об'єктивними мікрометрами.*

Окулярний мікрометр – це округла скляна пластинка з шкалою, на якій 1 см розділений на 100 рівних частин.

Об'єктивний мікрометр – це скляна пластинка, в центрі якої 1 мм її довжини розділений на 100 рівних частин. Відповідно, 1 поділка об'єктивного мікрометра дорівнює 0,01 мм, або 10 мкм.

За допомогою окулярного мікрометра проводять лінійне вимірювання мікроскопічних об'єктів. Перш ніж користуватися окулярним мікрометром, необхідно визначити ціну однієї його поділки, тобто яка кількість поділок розташована у визначеній кількості поділок об'єктивного мікрометра.

Для порівняння мікрометрів відкручують верхню лінзу окуляра, розміщують на округлу діафрагму поділками вниз окулярний мікрометр і загвинчують лінзу. Об'єктивний мікрометр розміщують на столик мікроскопа, мікроскоп наводять на фокус і, коли буде видно обидві лінійки (об'єктивна і окулярна), встановлюють їх так щоб ліві крайні лінії обох мікрометрів співпадали. Якщо при цьому, наприклад, 4 поділки об'єктивного мікрометра співпали із 20 поділками окулярного, тоді кожна поділка об'єктивного мікрометра рівна 10 мкм, а 4 його поділки – 40 мкм, визначають, що 1 поділка окулярного мікрометра – 2 мкм. Визначивши ціну поділки окулярного мікрометра, об'єктивний замінюють досліджуваним препаратом і виконують його заміри.

*Малювальний (рисувальний) апарат РА – 4, використовують для малюнків зображення видимих під мікроскопом і представляє собою малювальний окуляр з невеликою скляною призмою і округлим темним склом для затемнення. Він дозволяє одночасно бачити у мікроскоп препарат і його контур на листку паперу.*

### **Апаратура.**

*Сушильну шафу використовують для стерилізації сухим жаром хімічного посуду.*

*Термостат необхідний для пророщування насіння з метою виявлення зараження, обробки поживних середовищ. За допомогою терморегулятора в термостаті протягом тривалого часу можна підтримувати певну температуру.*

*Апарат Коха використовується для стерилізації поживних середовищ парою.*

*Автоклав використовують для стерилізації поживних середовищ насиченою парою під тиском.*

*Центрифуга* використовується для зсідання частинок які знаходяться у рідині у підвішеному стані. При швидкому обертанні всі частинки що знаходяться в рідині, у тому числі спори грибів, в результаті дії центр обіжної сили опускаються на дно приладу, утворюючи осад. Центрифуги бувають відкриті, закриті, ручні і електричні.

На *водяній бані* розігрівають поживні середовища.

### **Інструментарій і матеріали.**

Для фітопатологічних робіт необхідні також бритви, скальпелі, пінцети, препарувальні голки, ножиці, капельниці, предметні і покривні скельця, кільця Ван-Тігема і посуд – центрифужні пробірки, чашки Петрі і Коха, керамічні і пластмасові ростильні та ін.

### **Приготування мікроскопічних препаратів.**

Мікроскопічні препарати готують *тимчасові* і *постійні*.

*Тимчасові препарати* виготовляють двома способами: перенесенням поверхневого нальоту або спороношення і плодови тіла грибів на предметне скельце препарувальною голкою або виготовленням зрізу через уражену тканину рослин.

Перший спосіб застосовують, коли за допомогою голки або скальпеля можна легко зняти з живих рослин або поживних середовищ плодови тіла, грибницю або спороношення. Для пом'якшення, просвітлення і обезводнення живих об'єктів або гербарного матеріалу використовують хлоралактофенол (хлоралгідрат – 2 частини по масі, фенол – 1 частина і молочна кислота - 1 частина).

Другий спосіб застосовують у тих випадках, коли грибниця або спороношення гриба знаходяться всередині тканин рослин, при вивченні будови плодових тіл і деформації тканин. У заготовлені кусочки серцевини стебел сухої бузини або соняшника, розрізані вздовж навпіл, або надрізи пінопласту закладають вирізані кусочки ураженої тканини рослини і роблять тонкий зріз. Після цього бузину відділяють від зрізу.

На чисте предметне скельце піпеткою або кінчиком скляної палички наносять краплю дистильованої, або свіжо кип'яченої води і переносять зішкряб або зріз. Після цього краплю обережно покривають покривним скельцем і препарат розглядають під мікроскопом. Крапля води не повинна виходити за межі покривного скельця. При необхідності об'єкти, що розглядаються освітлюють шляхом вимочуванням води фільтрувальним папером і нанесенням на предметне скло з матеріалом двох крапель молочної кислоти або розчину підігрітого луку.

Для виявлення міцелію або частин спороношення грибів в тканинах рослин-господарів використовують забарвлення. Рідину препарату висушують фільтрувальним папером і замінюють її необхідною фарбою. Через 0,5 – 5 хв. фарбу вимочують фільтрувальним папером і препарат промивають водою або спиртом, доки рідина не стане світлою, після чого

покривають покривним скельцем і розглядають під мікроскоп. Для забарвлення фіксованих препаратів використовують анілінову синьку чи йод.

Для приготування *постійного препарату* виготовлений мікроскопічний препарат занурюють у гліцерин-желатин, який складається із 1 частини желатину, 4 частини нерозбавленого гліцерину 2-3 частин води, слідів тимолу або фенолу, чи саліциловокислого натрію. Спочатку желатин заливають водою і залишають до повного набухання. Через 12 годин, підігрівуючи колбу з желатином, вливають гліцерин і додають фенол на кінчику скальпеля для просвічування суміші додають 1 білок курячого яйця на 1 літер суміші. Спочатку білок розчиняють у невеликій кількості охолодженої суміші, після чого вливають в іншу теплу суміш, ретельно перемішуючи для отримання однорідної маси. Осад відфільтровують через вату за допомогою лійки для гарячого фільтрування, і прозорий гліцерин-желатин розливають по пробірках, які закривають резиновими або корковими пробками. При необхідності гліцерин-желатин розріджують, занурюючи пробірку у теплу воду. Під час приготування препаратів краплю гліцерину-желатину переносять на предметне скельце скляною паличкою. Досліджуваний об'єкт розміщують на краплю і накривають покривним скельцем.

## ХІД РОБОТИ

- Завдання:**
1. Ознайомитися з основними методами діагностики та типами прояву хвороб культурних рослин.
  2. Визначити типи хвороб за ключами.
  3. Замалювати і коротко описати основні типи ураження.

### Контрольні питання

1. Типи прояву грибних хвороб культурних рослин.
2. Типи прояву бактеріальних хвороб культурних рослин.
3. Типи прояву вірусних хвороб культурних рослин.
4. Діагностика хвороб культурних рослин.
5. Оптичні прилади та техніка мікроскопування.

### Література:

1. Горяїнова В.В., Станкевич С. В., Батова О. М., Жукова Л. В. Загальна фітопатологія: навчальний посібник. Житомир: ПП «Рута», 2023. 380 с.
2. Станкевич С. В., Фурига М. М. Термінологічний словник-довідник з фітопатології: навч. посібник. Житомир «Рута», 2023. 120 с.
3. Патологія насіння сільськогосподарських культур: навч. посібник / Л. В. Жукова, С. В. Станкевич, В. П. Туренко. Житомир ПП «Рута», 2023. 292с.
4. Марков І.Л., Башта О.В., Гентош Д.Т., Елим'язний В.А., Дерменко О.П., Черненко Є.П. Фітопатологія: Підручник / за ред. І.Л. Маркова. К, 2017. 548 с.

5. Марютін Ф. М., Білик М.О., Пантелєєв В.К. Фітопатологія Навчальний посібник за ред. Проф. Ф. М. Марютина. Харків Еспада, 2008 552 с.
6. Колодійчук В. Д., Кривенко А. І., Шушківська Н. І. Практикум із сільськогосподарської фітопатології. К.: «Центр учбової літератури», 2022. 223 с.
7. Станкевич С.В., Забродіна І. В. Моніторинг шкідників і хвороб сільськогосподарських культур: навч. пос.ібник. Харків: видавництво Іваненко І. С., 2021. 521 с.
8. Теорія і технологія прогнозування і прийняття рішень у захисті і карантині рослин : навч. посібник / С. В. Станкевич, І. В. Забродіна, М. О. Білик та ін. Харків: Видавництво Іванченко І. С., 2021. 269 с.
9. Антипова Л.К., Кутузаки О.М. Фітопатологія. Хвороби овочевих культур Методичні рекомендації для виконання практичних робіт здобувачами першого (бакалаврського) рівня вищої освіти ОПП «Агрономія» спеціальності 201 «Агрономія». Миколаїв. 2022. 60с.
10. Атлас хвороб та шкідників. URL: <https://pni.com.ua/атлас-хвороб-ташкідників>.
11. Засоби захисту рослин від шкідливих організмів : навч. посібник / Станкевич С.В., Кабанець В. М., Немерицька Л. В., Журавська І. А. Житомир: Видавництво Рута, 2023. 428 с.
12. Інтегрований захист рослин: навч. посіб. / Писаренко В.М., Піщаленко М.А., Поспелова Г.Д., Горб О.О., Коваленко Н.П., Шерстюк О.Л. Полтава, 2020. 245 с.
13. Станкевич С.В. Ринок пестицидів України : монографія. Харків: Видавництво Іванченко І. С., 2020. 175 с.
14. Дідора В. Г., Ключевич М. М. Технічні культури : підручник. Вид. 2-е, доповнене. Житомир : Поліський нац. університет, 2024. 462 с.