

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
АГРОБІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА ЗАХИСТУ, ГЕНЕТИКИ І СЕЛЕКЦІЇ РОСЛИН**

ЗАГАЛЬНА ФІТОПАТОЛОГІЯ

**Методичні рекомендації
до проведення лабораторно-практичних занять для студентів
агробіотехнологічного факультету
зі спеціальності 202 - Захист і карантин рослин**

Одеса - 2018

УДК 581.2: 378(083.13)

Укладачі: кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри захисту, генетики і селекції рослин, Балан Г.О.

Рецензент: кандидат біологічних наук, доцент кафедри садівництва, виноградарства, біології та хімії Бондар Л.П.

Методичні вказівки з дисципліни « Загальна фітопатологія» мають на меті ознайомити з основними вимогами щодо виконання лабораторно-практичних занять студентів денної форми навчання спеціальності 202-Захист і карантин рослин

Методичні вказівки розглянуті та затверджені
на засіданні методичної комісії
агробіотехнологічного факультету ОДАУ
Протокол № 2 від 26.09.2018 р.

©Балан Г.О.,2018

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
ЗАГАЛЬНІ МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	5
ЗАГАЛЬНИЙ ІНСТРУКТАЖ ПО ТЕХНІКІ БЕЗПЕКИ.....	6
1. Лабораторно - практична робота № 1	
Типи прояву та симптоми хвороб рослин.....	7
2. Лабораторно - практична робота № 2	
Методи визначення та діагностики хвороб рослин.....	17
3. Лабораторно - практична робота № 3	
Віруси і мікоплазмові організми - збудники хвороб рослин. Зміни, які викликають в рослині вірусні та мікоплазмові хвороби.....	22
4. Лабораторно - практична робота № 4	
Шляхи передачі вірусної інфекції. Рослини - індикатори. Електронна мікроскопія. Серологічний метод діагностики.....	28
5. Лабораторно - практична робота № 5	
Бактерії и актіноміцети - збудники хвороб рослин. Типи бактеріальних хвороб.....	34
6. Лабораторно - практична робота № 6	
Діагностика бактеріозів. Методи виділення бактерій та методи зараження рослин.....	39
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	45

ВСТУП

Дисципліна «Загальна фітопатологія» тісно взаємозв'язана з такими навчальними дисциплінами як «ботаніка», «фізіологія рослин», «мікробіологія», «вірусологія», «мікологія», «сільськогосподарська фітопатологія», «загальна ентомологія», «сільськогосподарська ентомологія», «біотехнологія», «рослинництво», «землеробство», « селекція та насінництво», «плодівництво», «овочівництво» та ін.

«Загальна фітопатологія» вивчає етіологію та патогенез хвороб а саме: хвору рослину, причини захворювання, закономірності виникнення, розвитку і поширення хвороб та роль факторів навколишнього природного середовища на рівень цих показників. Вона є основною профілюючою дисципліною у підготовці фахівців із захисту і карантину рослин.

Вивчаючи предмет «Загальна фітопатологія», студенти повинні знати діагностичні ознаки та типи хвороб, оволодіти прийомами і методами ідентифікації збудників хвороб рослин, вивчити властивості мікроорганізмів - патогенів рослин, обґрунтувати оптимальні заходи захисту, що запобігають появі хвороб та обмежують їх розвиток.

Лабораторно - практичні заняття мають на меті поглиблення та закріплення студентами теоретичного лекційного матеріалу з курсу загальна фітопатологія, придбання практичних навичок роботи з гербарним матеріалом, зразками уражених рослинних тканин, лабораторним обладнанням та мікроскопами, атласами та визначниками; залучення студентів до наукових досліджень та експериментів, розвивати уміння аналізувати, узагальнювати, робити висновки.

На лабораторно - практичних заняттях із загальної фітопатології студенти повинні навчитися самостійно діагностувати збудників хвороб за зовнішніми ознаками та лабораторними методами, розрізняти різних збудників хвороб, знати їх основні діагностичні ознаки та хвороби, що вони викликають на рослинах сільськогосподарських культур.

1. ЗАГАЛЬНІ МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

При вивченні курсу „Загальна фітопатологія” велика увага приділяється лабораторно - практичним заняттям, які дають можливість практичного опрацювання студентами основних методів та методик дисципліни і сприяють покращенню засвоєння матеріалу. У даних методичних рекомендаціях висвітлено всі розділи, які виділені для вивчення на лабораторно - практичних заняттях.

Завдання методичних рекомендацій – ознайомити студентів як з діагностичними ознаками прояву конкретних хвороб на сільськогосподарських культурах, так і з морфологічними та біологічними ознаками їхніх збудників.

Основна мета – навчити студентів на основі аналізу макроскопічних і мікроскопічних ознак прояву хвороби ставити правильний діагноз, вміти на практиці визначати хвороби та їх збудників і на основі цього – обґрунтувати ефективні захисні заходи.

На лабораторно-практичних заняттях проводиться наочне вивчення матеріалів, теоретичні відомості про яких викладаються в лекційному курсі. Хвороби рослин на лабораторних заняттях пропонується вивчати в такій послідовності: зовнішні ознаки прояву хвороби на різних органах рослин; збудник хвороби, його систематичне положення; морфологічні, біологічні та екологічні особливості збудника хвороби, цикл його розвитку, джерела первинної і вторинної інфекції. Важливо, щоб студенти навчилися користуватися ключами для визначення хвороб. Перш ніж використовувати ці ключі, викладачі та студенти повинні відібрати найбільш типові об’єкти та ознайомитися з симптомами захворювання, вказаними в ключах. Визначення кожного захворювання повинно проводитися за допомогою діагностичних таблиць і завершується замальовуванням основних симптомів його прояву, спороншень та циклу розвитку збудника хвороби.

2. ЗАГАЛЬНИЙ ІНСТРУКТАЖ ПО ТЕХНІКІ БЕЗПЕКИ

Перед проведенням лабораторно - практичних занять відповідальні особи (викладачі кафедри, які викладають цю дисципліну)здійснюють інструктаж про проведення занять та безпеку праці під час перебування у навчальній аудиторії. Студенти під час проведення лабораторно - практичних занять зобов'язані мати відповідний спецодяг, засоби індивідуального захисту для проведення занять в лабораторії (халати, гумові перчатки т.д.), знати і суворо дотримуватись правил охорони праці, техніки безпеки, виробничої санітарії. Студенти несуть відповідальність за порушення правил охорони праці та техніки безпеки під час перебування на заняттях.

Програма інструктажу з безпеки життєдіяльності та охорони праці проводиться згідно з НПАОП 0.00-4.12-05 «Типове положення про проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці», затвердженого наказом Держгірпромнагляду від 26.01 2005р №15 та переліку питань з безпеки життєдіяльності, наведених у « Положення про організацію роботи з охорони праці учасників навчально- виховного процесу в установах і навчальних закладах», затвердженого наказом Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України від 20.11.2006р № 782.

Викладач, якій проводив інструктаж з техніки безпеки вносить відповідні записи до Журналів реєстрації інструктажів з безпеки життєдіяльності та охорони праці, де кожен студент розписується. Журнали зберігаються на кафедрі. Питання з техніки безпеки: 1 Загальні правила поведінки у науковій лабораторії. 2. Вимоги пожежної безпеки, електробезпеки, хімічної та біологічної безпеки. 3.Запобігання побутовому травматизму. Перша долікарська медична допомога. 4. Характерні небезпечні та шкідливі чинники, що виникають під час лабораторно- практичної роботи (робота з лабораторним обладнанням, мікроскопи, скляні чашки Петри, скельця предметні та покривні, пробірки, хімічні фарбники для діагностики збудників, патогенні мікроорганізми, уражені органи рослин,біологічні та хімічні протруйники і т.д.)

Лабораторно - практична робота № 1

Тема: Типи прояву та симптоми хвороб рослин.

Мета та завдання: Ознайомитися з основними зовнішніми та мікроскопічними ознаками прояву хвороб рослин.

Обладнання, прилади та матеріали:

Гербарні, свіжі та фіксовані зразки органів рослин, які уражені хворобами: сухою та мокрою гнилями картоплі, фітофторозом листків та бульб картоплі, плодовою гниллю яблук, раком картоплі, кореневим раком плодів, килою капусти, борошнистою россою листків, іржею злаків, бактеріозом та антракнозом листків огірків, летючою сажкою зернових, дірчастою плямистістю кісточкових, мозаїкою листків малини; муміфіковані плоди яблук, кишеньки слив, відьмині мітли плодів або ягідників; попередньо витримані в вологій камері уражені фітофторозом плоди томатів; уражені фузаріозом та гелмінтоспоріозом насіння зернових. визначники хвороб рослин, мікроскопи, обладнання для мікроскопування.

Техніка безпеки та охорона праці: Загальний інструктаж з техніки безпеки із записом у журналі.

Загальні теоретичні та практичні положення.

Патологічні реакції клітин і тканин рослини при різних захворюваннях різні. Від їх характеру залежить і зовнішній прояв хвороб, який прийнято називати **симптомами**. **Розрізняють наступні групи симптомів:**

1) **типові** (проявляються регулярно і при будь-яких умовах) та **нетипові**. Наприклад, борошнистороссяні гриби завжди утворюють на поверхні рослин білий наліт (типовий симптом), але при ураженні яблуні спостерігається закоркування тканин на уражених плодах та згортання уражених листків “човником”. На інших культурах (цукрові буряки) відбувається потовщення листових пластинок тощо;

2) **головні** (найбільш характерні для конкретної хвороби) та **загальні** (супроводжують різні захворювання). Наприклад, при ураженні рослин

сажковими грибами відбувається руйнування органів, найчастіше – генеративних (головний симптом). Цей процес може супроводжуватися також зменшенням висоти рослин, що характерно також для багатьох інших захворювань: пероноспороз, вірусні інфекції (загальні симптоми);

3) *первинні* (проявляються першими, відразу після закінчення інкубаційного періоду) та *вторинні* (виникають при подальшому розвитку хвороби). Наприклад, білий наліт при ураженні борошнистою россою – первинний симптом, а вторинний – формування плодових тіл – клейстотеціїв у вигляді темних мілких утворень – в кінці вегетації. При ураженні зерняткових плодових культур паршею спочатку утворюються темні плями, а потім можливе розтріскування і закоркування тканин.

Постійність симптомів, які проявляються при кожному захворюванні, у всіх рослин даного виду або сорту, обумовлює типове протікання хвороби і дає можливість проводити об'єктивну діагностику.

Співпадіння симптомів при різних захворюваннях називають *конвергенцією симптомів* (кореневі гнилі на зернових, пероноспороз та бактеріоз). Наприклад, в'янення рослин при неінфекційних і інфекційних хворобах. Якщо один і той же патогенний організм викликає у різних видів рослин або на різних етапах розвитку однієї рослини появу різних симптомів, то ця здатність називається *дивергенцією симптомів* (бактеріальний рак томатів – локальне і дифузне зараження; парша яблуні та груші – на листка і плодах утворюються темні плями, уражена тканина закорковується і розтріскується, на молодих пагонах спостерігається розтріскування і відшаровування кори; моніліоз – на плодах гниль, на молодих пагонах в період цвітіння спостерігається побуріння і відмирання листків та суцвіть).

Виходячи з цього, необхідно мати на увазі, що специфічними для кожної хвороби являються не окремі симптоми, а їх сукупність – *синдром*. Тому для діагностики важливими є не окремі ознаки, їх поєднання, послідовність і динаміка прояву, зв'язок між ними.

Хвороби, що характеризуються обов'язковим комплексом типових симптомів, поєднуються в окремі групи.

Тип хвороби обумовлюється сукупністю патологічних змін в рослині і залежить від: типу патогенного фактора, особливостей уражених органів і тканин, віку і стану рослини. Найчастіше зустрічаються наступні симптоми хвороб рослин таблиця 1.

Ключ для визначення типів хвороб:

1(4). Уражена вся рослина.

2(3). Рослина пригнічена. Внаслідок втрати тургору відмічається пожовтіння та 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, відмічається збільшена кількість укорочених стебел, на всій рослині можуть бути укорочені або зморшкуваті листки.

(Загальна деформація).

4(1). Уражені окремі органи рослини.

5(8). На уражених частинах рослин частини тканини або окремі органи відмирають змінюючи свою форму.

6(7). На листках (рідше на інших органах) спостерігається відмирання окремих ділянок тканин або зменшення хлорофілу в зелених органах рослин. На органах багатих поживними речовинами та водою, відмирання охоплює поверхневі шари тканини, не поширюючись в глибину.

(Плямистості).

7(5). Зміна форми уражених органів рослин. Може відмічатися потворність, дерев'янистість, стовбуріння та інші форми.

(Деформація).

8(11). Уражені органи вкриті горбиками або пліснявою.

9(10). На вегетативних та генеративних органах сіра, біла, коричнева або чорна пліснява, яка легко стирається, епідерміс який знаходиться під нею пошкоджений.

(Нальоти).

10(8). На уражених органах – горбики, кучки спор, покриті епідермісом або стирчать з тріщин тканини рослини; горбики можуть мати жовтий, оранжевий, коричневий, чорний колір.

(Пустули).

11(4). Уражені органи стають м'якими або ненормально розростаються.

12(13). Органи, багаті поживними речовинами та водою (коренеплоди, плоди, стебла, бульби та інші), стають м'якими та загнивають. Ураження може захоплювати всі тканини, поширюючись в глибину органу.

(Гнилі).

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

(Нарости).

14(8). Інші симптоми ураження.

15(16). Уражені органи перетворюються на тверді, темні, шкірясті утворення або чорну порошисту масу, з хворих частин рослин виділяються рідина, яка стає твердою в повітрі.

16(17). Плоди або насіння перетворюються в темні тверді утворення чорного кольору з гладкою або шорсткою поверхнею.

(Муміфікація).

17(18). Уражені органи (зерна, стебла, листки) руйнуються і перетворюються в порошокоподібну масу чорного або коричневого кольору.

(Порошисті маси або сажка).

18(14). На хворих рослинах утворюються тріщини, з яких виділяється рідина, яка стає твердою в повітря.

(Камедетеча).

Питання для самовизначення рівня підготовки студента до роботи:

1. Які основні принципи класифікації хвороб рослин?
2. Дайте визначення поняттям хвороба, патологічний процес.
3. Дайте визначення поняттям типи прояву хвороб, симптоми.
4. Що спричиняє виникнення інфекційних хвороб рослин?
5. Наведіть приклади сполучених хвороб рослин.

Послідовність проведення лабораторно - практичної роботи:

Завдання 1. За гербарними зразками за допомогою діагностичного ключа визначити типи симптомів.

Завдання 2. За допомогою мікроскопа визначити наявність інфекційних структур збудників хвороб.

Завдання 3. Заповнити таблицю 1. Самостійно підібрати приклади різних типів симптомів і замалювати їх.

Завдання 4. Дати відповіді на контрольні питання і захистити тему.

Таблиця 1

Характеристика основних типів симптомів хвороб рослин

№ п/п	Назва симптому	Комплекс патологічних змін в органах рослин	Малюнок, приклад
1	2	3	
1.	В'янення	Спільна назва групи хвороб дифузного типу пов'язаних із втратою тургору, які можуть мати як абіотичну так і біотичну етіологію. Неінфекційне в'янення проявляється в наслідок порушення забезпечення рослини водою при посушливих умовах і при механічних пошкодженнях кореневої системи чи інших органів. Інфекційне в'янення (вілт) спричиняється в наслідок закупорювання судин ксилеми міцелієм гриба (трахеомікози), або ексудатом бактерій (трахеобактеріози), а також відмирання судин під дією вірусної інфекції. Інфекційна етіологія	

		підтверджується при поперечному розрізанні стебла ураженої рослини у вигляді потемніння судин	
2.	Гниль	Симптом, що характеризується різким порушенням структури і руйнуванням уражених органів рослин. Основним патогенним фактором при цьому типі захворювання є гідролітичні ферменти, які спричиняють руйнування міжклітинної речовини (пектиназа), стінок і всього вмісту клітин (целюлаза), що супроводжується мацерацією (руйнування тканин) і перетворенням тканин у однорідну кашоподібну або тягучу масу. Характер загнивання залежить від збудника, структури тканин ураженого органу і умов середовища (суха і мокра, м'яка і тверда гнилі).	
3.	Некрози	Відмирання окремих ділянок тканини, що часто супроводжується зміною їх забарвлення. Розрізняють наступні види некрозів: <ol style="list-style-type: none"> 1. Некрози клітин паренхіми, що проявляються як <i>плямистості</i>. Форма і колір плям є діагностичною ознакою. В деяких випадках на межі здорової і ураженої тканини утворюється шар коркових клітин, в результаті чого уражена тканина випадає. Такий тип ураження називається <i>дірчастою плямистістю</i>. 2. Некрози стовбурів і гілок дерев'янистих порід – відмирання кори, лубу, камбію і периферійних шарів деревини. 3. Некрози жилок листків. 4. Некрози судинних пучків. Некрози можуть бути інфекційного та неінфекційного походження. В залежності від етіології хвороби на поверхні некротизованих ділянок може формуватися спороношення грибів або виділятися ексудат бактерій	

4.	Зміна забарвлення органів рослин	Може мати як інфекційну так і неінфекційну етіологію. Неінфекційний прояв (хлороз і пожовтіння) пов'язаний з порушенням умов живлення, інфекційний прояв найчастіше пов'язаний із присутністю вірусної (мозаїка і жовтяниця) і грибкової інфекції (прояв антоціанового забарвлення).	
5.	Нарости пухлини	Розростання ураженої тканини під впливом збудника захворювання в результаті гіпертрофії або гіперплазії під впливом біологічно активних речовин збудника.	
6.	Деформація органів рослин	Зміни форми уражених органів або всієї рослини причиною. яких можуть бути абіотичні фактори, а також ураження вірусами, мікоплазмами, віроїдами або грибами. Деформація листків проявляється у вигляді кучерявості, зморшкуватості, здуття, ниткоподібності, пов'язаних із нерівномірним ростом окремих частин листової пластинки. Деформація пагонів, стебел характеризується викривленням, потовщення або утворенням відьминих мітел (ненормально надмірний розвиток гілочок із бокових бруньок на обмеженій ділянці стебла). Деформація плодів характеризується повною або частковою зміною форми плоду, який втрачає при цьому свій нормальний вигляд і властивості, насіння або зовсім не утворюється або стає непридатним для посіву (кишеньки слив). При деформації квіток спостерігається перетворення генеративних частин у вегетативні (махровість, надмірне розростання або недорозвинення квітки).	
7.	Муміфікація	Тип хвороби, за якої орган рослини густо пронизується грибницею і часто перетворюється на "мумію" або склероціальну строму, яка складається з сплетення гіфів гриба і залишків рослинної тканини. Поверхневі ділянки такого органу темніють і перетворюються в щільну блискучу кірку. Уражені	

		насіння і плоди стають зморшкуватими, дещо зменшуються в об'ємі або зберігають нормальні розміри, а іноді і форму. Муміфіковані органи не загнивають і не руйнуються, а зберігаються на деревах або на ґрунті; після зимівлі вони проростають і утворюють спороносні органи.	
8.	Нальоти на поверхні органів рослин	Цей симптом характерний тільки для мікозів. На поверхні уражених органів рослин розвивається наліт різного кольору, за рахунок поверхневого розвитку міцелію або спороношення грибів. Характер і колір нальоту є діагностичною ознакою. Нальоти можуть бути на всій поверхні органів або локалізовані на окремих ділянках тканин рослин.	
9.	Пустули, або кучки спороношення (ацервули)	Це опуклі подушечки різного розміру і кольору, що складаються з спороношення збудника хвороби. Пустули утворюються завжди в середині тканин листка або іншого органу рослин і спочатку прикриті епідермісом (на листках) або перидермою (на бульбах і стеблах), які з часом розриваються під тиском спороношення гриба, що дає змогу спорам поширюватися з повітряними течіями. Форма пустул залежить від особливостей патогену та будови тканин ураженого органу. Утворення пустул може супроводжуватися некрозами.	
10.	Руйнування органів рослин	Під впливом патогену уражені органи руйнуються і перетворюються на порошисту масу чорного або темно коричневого кольору. Симптом характерний для збудників сажкових хвороб.	
11.	Камедетеча (гомоз)	Хвороба спостерігається при ураженні рослин переважно грибами і бактеріями і характеризується виділенням з уражених органів рослин клейкого слизу світлого або бурого кольору, пов'язана з порушенням міжклітинних пластинок і клітинних оболонок, в результаті чого утворюється камедь, яка витікає зовні	

		через пошкоджені ділянки тканин і швидко застигає на повітрі. Гомоз спричиняють поранення, морозобоїни, ураження мікроорганізмами пошкодження комахами тощо. Найчастіше спостерігається на кісточкових плодівих культурах.	
12.	Розвиток на рослині рослин-паразитів	Особливий тип хвороби – поселення і розвиток за рахунок соків рослини квіткових паразитів: вовчок, омела, повитиця та інші.	
13.	Парша	Спільна назва групи хвороб рослин, що характеризуються поверхневим, локальним ураженням органів, яке супроводжується розтріскуванням уражених тканин і утворенням струпів	

Обробка результатів та оформлення звіту.

Записати хід визначення симптомів, замалювати типові приклади прояву симптомів і інфекційні структури визначені під мікроскопом, відповіді на контрольні запитання.

Питання для контролю знань:

1. Виберіть із охарактеризованих в таблиці симптомів типові, головні і первинні симптоми таких хвороб, як: летюча сажка, борошниста роса, несправжня борошниста роса, парша, коренева гниль, рак.
2. Виберіть із охарактеризованих в таблиці симптомів загальні для таких хвороб, як: гнилі, руйнування органів, некротизація, в'янення.
3. Охарактеризуйте патологічні зміни і їх зовнішній прояв при в'яненні рослин.
4. Охарактеризуйте патологічні зміни і їх зовнішній прояв при кореневій гнилі.
5. Охарактеризуйте патологічні зміни і їх зовнішній прояв при плодівій гнилі.

6. Охарактеризуйте патологічні зміни і їх зовнішній прояв при деформації органів.
7. Охарактеризуйте патологічні зміни і їх зовнішній прояв при утворенні пустул.
8. Охарактеризуйте патологічні зміни і їх зовнішній прояв при утворенні некрозів.
9. Охарактеризуйте патологічні зміни і їх зовнішній прояв при утворенні наростів.
10. Охарактеризуйте патологічні зміни і їх зовнішній прояв при камедетечі.
11. Охарактеризуйте патологічні зміни і їх зовнішній прояв при утворенні нальотів.
12. Охарактеризуйте патологічні зміни і їх зовнішній прояв при парші.
13. Охарактеризуйте патологічні зміни і їх зовнішній прояв при зміні забарвлення,
14. Охарактеризуйте патологічні зміни і їх зовнішній прояв при руйнуванні органів.

Рекомендована література:

1. Дьяков Ю.Т. Общая фитопатология с основами иммунитета /Дьяков Ю.Т., Семенкова И.Г., Успенская Г.Д.- М.: Колос, 1976. – С. 22-26.
2. Марютін Ф.М. Фітопатологія: Навчальний посібник / Ф.М.Марютін, В.К.Пантелєєв, М.О.Білик, За ред. проф. Ф.М. Марютіна. – Харків: Еспада, 2008. – С. 19 -26.
3. Попкова К.В. Общая фитопатология /К.В.Попкова. – М.: Агропромиздат, 1989.- С. 39-67.
4. Родигин М.Н. Общая фитопатология /М.Н.Родигин. – М.: Высшая школа, 1978.- С. 92-109.
5. Яковлева Н.П. Фитопатология: программированное обучение /Н.П.Яковлева. - М.: Колос, 1983. – С. 16-22.

Лабораторно - практична робота № 2

Тема: *Методи визначення та діагностики хвороб рослин*

Мета та завдання: Ознайомитися з порядком визначення хвороб рослин за допомогою визначника, освоїти основні методи діагностики та обліку основних типів хвороб рослин.

Обладнання, прилади та матеріали: Гербарні зразки, умовні шкали для обліку хвороб рослин відповідно гербарним зразкам, мікроскопи, чашки Петрі із живильним середовищем, барвники, обладнання для мікроскопування.

Техніка безпеки та охорона праці Загальний інструктаж з техніки безпеки

Загальні теоретичні та практичні положення.

Для встановлення діагнозу хвороби необхідно враховувати комплекс чинників, а саме:

- зовнішні ознаки хворої рослини;
- зміни морфології хворих рослин у динаміці;
- порушення протікання фізіологічних процесів у рослині;
- етіологію захворювання;
- систематичне положення, біологічні та екологічні особливості збудника хвороби.

Для встановлення остаточного діагнозу хвороби використовують наступні методи:

1. Макроскопічний (візуальний) метод. Основний метод діагностики хвороб рослин, а в умовах виробництва може бути єдиним. Тому потребує високої кваліфікації спеціаліста. Полягає у зовнішньому огляді хворої рослини і слугує для встановлення попереднього діагнозу хвороби завдяки ознакам, які можна встановити візуально (неозброєним оком) чи за допомогою лупи, як наприклад: тип симптому, наявність характерних

типів спороношення або вегетативних утворень (міцелій, склероції тощо) грибів, ексудату бактерій та ін.

2. Мікроскопічний метод. Електрона мікроскопія.

Застосовують для визначення характеру змін в уражених тканинах, а також виявлення та вивчення вегетативних і генеративних утворень збудників інфекційних хвороб. Цінність цього методу полягає в тому, що він дозволяє виявити характерні та безумовно точні ознаки конкретного патогену.

3. Біологічний метод. Полягає у вивченні спеціалізації збудника відносно рослини-живителя, вивченні ступеню і характеру сприйнятливості рослини до певного збудника, порівняльному вивченні особливостей протікання хвороби рослини, коли необхідно проводити штучне зараження рослини для з'ясування динаміки патологічного процесу, впливу зовнішніх факторів, підтвердження "тріади Коха" та інших показників. Патогенний організм виділяється на штучне живильне середовище і утримується в термостаті при відповідному температурному режимі і необхідній експозиції. Існує декілька варіантів цього методу: *метод вологої камери, метод чистих культур*

4. Метод серологічної діагностики (імунологічний). Заснований на реакції живих організмів у відповідь на присутність чужорідних білків (антигенів) утворювати антитіла. За характером реакції встановлюють ступінь споріднення між антигенами патогенного організму і антитілами завдяки візуальному прояву реакцій аглютинації та преципітації.

Практичне значення для ідентифікації вірусів у рослині мають такі модифікації серодіагностики: *краплинний метод, метод подвійної дифузії в агаровому гелі, метод радіальної імунодифузії, метод адсорбції - імуно-ферментний аналіз (ІФА)*

5. Метод індикаторних рослин. Метод індикаторних рослин ґрунтується на використанні тест-рослин (індикаторних), що дають чіткі, часто суто специфічні стосовно певного виду вірусу, симптоми. Рідше для передачі

вірусів використовують комах-переносників і рослину-паразита - повитицю.

6. Люмінесцентний метод. Заснований на явищі первинного або вторинного світіння рослинних тканин під дією ультрафіолетового опромінення (при нанесенні на тканини спеціальних барвників-флуорохромів).

Для кожної з груп збудників хвороб рекомендований і найчастіше застосовується певний комплекс методів діагностики.

Питання для самовизначення рівня підготовки студента до роботи:

1. Які типи симптомів ви знаєте?
2. Які методи використовують для встановлення діагнозу хвороби?
3. Які методи застосовують для діагностики грибкових хвороб?
4. Які методи застосовують для діагностики бактеріальних хвороб?
5. Які методи застосовують для діагностики вірусних хвороб?

Послідовність проведення лабораторно - практичної роботи:

Завдання 1. Визначити тип симптомів, характер патологічних змін в рослині і можливу етіологію захворювання на прикладі гербарних зразків.

Завдання 2. Опрацювати методики діагностики основних груп хвороб рослин. Рекомендувати схеми та послідовність застосування методів діагностики для визначення конкретних хвороб за індивідуальним завданням.

Завдання 3. Визначити інтенсивність ураження окремих гербарних зразків, розрахувати індекс розвитку хвороби після огляду декількох зразків одного захворювання (Представити дані розрахунків).

Завдання 4. Дати відповіді на контрольні питання і захистити тему.

Основні елементи обліку хвороб.

Поширення (частота прояву) хвороби. Підраховують кількість здорових і хворих рослин у пробі і визначають відсоток уражених від загальної кількості проаналізованих рослин. В деяких випадках достатньо тільки показника поширення хвороби. Це стосується хвороб, що викликають

загибель рослин або їх органів, що уособлюють продуктивність рослин, як, наприклад, загибель сходів, в'янення, сажкові хвороби (крім пухирчастої сажки).

$$P = \frac{n \times 100}{N};$$

де Р – поширеність хвороби, %;

n – кількість хворих рослин чи органів у пробах, шт.;

N – загальна кількість рослин у пробах.

Інтенсивність (ступінь) ураження рослин чи окремих органів – слугує якісним показником розвитку хвороби. Визначають її за площею ураженої поверхні органів, на якій проявилися симптоми захворювання. Для багатьох типів хвороб розроблені умовні шкали, в яких уражена площа визначається у відсотках до загальної чи в балах.

$$I = \frac{\sum a \times b}{n};$$

де І – середня інтенсивність ураження хворих рослин, % або балів;

$\sum a \times b$ - сума добутків числа рослин (органів) на відповідний відсоток або бал;

n – кількість хворих рослин (органів), шт.

Індекс розвитку хвороби – показує середню інтенсивність розвитку хвороби (для сорту, ділянки, регіону) і виражається у відсотках. Визначається цей показник за формулою:

$$R = \frac{\sum a \times b}{N \times k} \times 100;$$

де R – розвиток хвороби, в %;

$\sum a \times b$ – сума добутків від множення кількості обстежених рослин на відповідний бал або відсоток ураження згідно шкали;

N – загальна кількість обстежених рослин або їх органів;

k – найвищий бал ураження згідно шкали.

Обробка результатів та оформлення звіту.

Освоїти правила роботи з визначниками. Ознайомитися з методами діагностики хвороб рослин. Освоїти методики обліку основних груп хвороб рослин. Дати відповіді на контрольні питання і захистити тему.

Питання для контролю знань:

1. Дайте характеристику макроскопічного методу діагностики.
2. Дайте характеристику мікроскопічного методу діагностики.
3. Дайте характеристику біологічного методу діагностики.
4. Дайте характеристику люмінесцентного методу діагностики.
5. Дайте характеристику серологічного методу діагностики.
6. Дайте характеристику методу індикаторних рослин діагностики.
7. Наведіть основні поняття, що використовуються при фітосанітарному моніторингу хвороб рослин.
8. Дайте визначення поняття „поширення хвороби ”.
9. Дайте визначення поняття „інтенсивність розвитку хвороби ”.
10. Дайте визначення поняття „індекс розвитку хвороби ”.

Рекомендована література:

1. Дьяков Ю.Т. Общая фитопатология с основами иммунитета /Дьяков Ю.Т., Семенова И.Г., Успенская Г.Д.- М.: Колос, 1976. – С. 22-26.
2. Марютін Ф.М. Фітопатологія: Навчальний посібник / Ф.М.Марютін, В.К.Пантелєєв, М.О.Білик, За ред. проф. Ф.М. Марютіна. – Харків: Еспада, 2008. – С. 19 -26.
3. Попкова К.В. Общая фитопатология /К.В.Попкова. – М.: Агропромиздат, 1989.- С. 39-67.
4. Родигин М.Н. Общая фитопатология /М.Н.Родигин. – М.: Высшая школа, 1978.- С. 92-109.
5. Яковлева Н.П. Фитопатология: программированное обучение /Н.П.Яковлева. - М.: Колос, 1983. – С. 16-22.

Лабораторно-практична робота № 3

Тема: Віруси і мікоплазмові організми - збудники хвороб рослин. Зміни, які викликають в рослині вірусні та мікоплазмові хвороби.

Мета та завдання: Ознайомитися з порядком визначення вірусних та мікоплазмових хвороб рослин за допомогою визначника, основними змінами, які викликають вірусні та мікоплазмових хвороби в рослинах. Необхідно приділити увагу вивченню історії розвитку вірусології, сучасного стану знань про природу та особливості вірусної інфекції. Потрібно опанувати матеріал про основні морфологічні, фізико-хімічні, біологічні та екологічні властивості вірусів, віроїдів і мікоплазм; типи хвороб, механізми патогенності та характер шкідливості при цих видах інфекцій.

Обладнання, прилади та матеріали: Гербарні зразки, умовні шкали для обліку хвороб рослин відповідно гербарним зразкам, мікроскопи, чашки Петрі із живильним середовищем, барвники, обладнання для мікроскопування.

Техніка безпеки та охорона праці Загальний інструктаж з техніки безпеки

Загальні теоретичні та практичні положення.

Для встановлення діагнозу вірусних та мікоплазмових хвороб необхідно враховувати комплекс чинників, а саме:

- зовнішні ознаки хворої рослини; зміни морфології хворих рослин у динаміці; порушення протікання фізіологічних процесів у рослині;
- етіологію захворювання; систематичне положення, біологічні та екологічні особливості збудника хвороби.

Мікоплазми — специфічна група патогенних організмів, що займають проміжне положення між вірусами й бактеріями. По існуючій класифікації їх відносять до того ж царству, що й бактерії (*Murchota* — дроб'янки), і виділяють у клас *Mollicutes*, порядок *Mycoplasmatales*. По розміру і характеру впливу на вражаючі рослини, мікоплазменні організми близькі до

вірусів. Середні розміри відомих до теперішнього часу мікоплазменних організмів 80—800 м. Більшість із них має овальну або округлу форму (як і більшість вірусів, що ведуть до захворювання типу жовтухи), але можуть бути також і довгими, нитковидними, гантелевидними й навіть гіллястими. Разом з тим, на відміну від вірусів, вони мають поліморфізм— той самий мікоплазменний організм може мати мікоплазмоподібні тельця різної форми й різного розміру.

Найбільш характерні симптоми захворювань, викликаних мікоплазмовими організмами, — пригнічення росту, деформація вегетативних і генеративних органів й ін. Уражені ними рослини іноді зовсім не дають урожаю, тому що відбуваються серйозні порушення в їхньому розвитку. Рослини часто залишаються низькорослими (карликовими), сильно кущаться. Особливо характерні для мікоплазменних захворювань патологічні зміни генеративних органів. Вони можуть виявитися в позеленінні квіток (стовбур пасльонових), перетворенні окремих частин квітки в листоподібні утворення (филлодія конюшини, реверсія чорної смородини) і ін.

Діагностика мікоплазмових захворювань, крім зовнішніх симптомів, включає наступні спеціальні методи.

1. Електронно-мікроскопічне дослідження (виявлення в клітинах рослини мікоплазмових організмів або мікоплазмоподібних телець).
2. Установлення інфекційне ТМ патогена (щепленням, за допомогою комах й ін.).
3. Мікробіологічний метод: здійснення тріади Коха (виділення збудника в чисту культуру - зараження їм здорової рослини й одержання симптомів, ідентичних першим,- повторне виділення збудника зі штучно заражених рослин).
4. Реакція збудника на антибіотики групи тетрацикліну.

Віруси — найдрібніші (субмікроскопічні) збудники інфекційних хвороб людини, тварин і рослин, що не мають клітинної будови і здатні розмножуватися тільки в живих клітинах організму-господаря. Відомо близько 600 вірусів, здатних паразитувати на рослинах. Вірусні хвороби широко поширені на злакових і бобах культурах, багатьох видах плодових і ягідних рослин. Дуже великої шкоди завдають віруси рослинам з сімейства пасльонові — картоплі, томату, тютюну. Саме на тютюні при вивченні так званої мозаїчної хвороби, нерівномірним забарвленням листя, що характеризується, були в 1892 р. відкриті віруси.

Механізм розмноження вірусів різко відрізняється від механізму розмноження інших мікроорганізмів (грибів, бактерій) він репродукується, утворюючи нові подібні собі вірусні частинки за рахунок нуклеїнової кислоти і білка клітки рослини-господаря.

Найпоширеніший **тип прояву вірусних хвороб** рослин — мозаїчне забарвлення листя. Поява її пов'язана з тим, що, потрапляючи в рослину, вірус гальмує утворення зелених пластид, а у ряді випадків викликає руйнування хлоропластів, що вже утворилися, що і приводить до утворення хлоротичних ділянок тканини, що чергуються з темнозабарвленим. Прикладом вірусних захворювань, що виявляються в мозаїчному забарвленні листя, можуть бути мозаїка тютюну, мозаїка томату, мозаїка буряка, зелена мозаїка огірка. Мозаїчність може супроводжуватися кучерявістю або зморшкуватістю листової пластинки у зв'язку з нерівномірним зростанням здорової і зараженої тканини (зморшкувата мозаїка картоплі, мозаїка сої і ін.) В основі діагностики вірусного захворювання лежать у першу чергу, зовнішні симптоми. Але діагноз захворювання тільки по зовнішніх ознаках не завжди точний. Зовнішніми ознаками при визначенні вірусного захворювання можна обмежитися в тих випадках, коли вони дуже чіткі й характерні тільки для даного виду захворювання. У практиці дуже часто доводиться зіштовхуватися з такими явищами, як фітопатологічна **конвергенція**. Приклад такої конвергенції - хлороз плодових дерев або

ягідних культур. Він може бути інфекційними, викликаними вірусами, і фізіологічним, пов'язаним з недостатнім надходженням у рослину азоту, заліза, сірки й т.д. Мозаїчне розцвічення листів на огірку може бути наслідком і вірусною поразкою й дефіциту марганцю. Білу мозаїку на огірку часто змішують із дефіцитом магнію. Застосовують наступні методи **діагностики вірусних захворювань** і зухвалих їхніх вірусів:

Метод серологічної діагностики (імунологічний). Заснований на реакції живих організмів у відповідь на присутність чужорідних білків (антигенів) утворювати антитіла. Практичне значення для ідентифікації вірусів у рослині мають такі модифікації серодіагностики:

- **краплинний метод**, при якому на предметному склі краплю антисироватки змішують із краплею соку рослини і через кілька хвилин оцінюють реакцію візуально або за допомогою мікроскопу (при малому збільшенні на темному полі);

- **метод подвійної дифузії** в агаровому гелі для виявлення сферичних та інших дрібних вірусів. При цьому в одні лунки, вирізані в шарі агарового середовища, додають антисироватку, а в інші – очищений сік рослини. Антитіла і вірусні частки дифундують у гелі назустріч одне одному і утворюють при зустрічі виразні лінії преципітації;

- при використанні **методу радіальної імунодифузії** антисироватку додають безпосередньо в агарове середовище, а лунки заповнюють соком рослини. У випадку позитивної реакції навколо лунок утворюються преципітати у формі кілець;

- **метод адсорбції** заснований на тому, що перед реакцією з антигеном антитіла зв'язують будь-яким інертним матеріалом з великими частками, наприклад, латексом. при реакції з антигеном відбувається добре помітна аглютинація всього комплексу;

- **імуно - ферментний аналіз (ІФА)** заснований на зв'язуванні антитіл визначеними мітками – ферментами. У лунки мікроплати з полімерних матеріалів додають антисироватку і очищений сік, що містить антитіла, між

ними відбувається перша імунна реакція. Потім на фіксований комплекс „антиген-антитіло” наносять розчин антитіл, зв’язаних ферментом (фосфатазою або пероксидазою), при цьому мічені ферментом антитіла нашаровуються на детермінанти молекул антигену і відбувається друга імунна реакція. Після додавання відповідного ферментного субстрату відбувається ферментна реакція по каталітичному розщепленню субстрату, що виявляється за допомогою фотометра (за кольором).

Питання для самовизначення рівня підготовки студента до роботи:

1. Охарактеризуйте типи симптомів при хворобах, що викликані вірусами і вірусоподібними організмами.
2. Пов’яжіть прояв хвороб з механізмами патогенності при ураженні вірусами, мікоплазмами, віроїдами.
3. Назвіть і охарактеризуйте способи передачі інфекції при цих захворюваннях.
4. Назвіть способи та умови збереження вірусної інфекції у агроценозах і природних біоценозах.
5. Умови виникнення епіфітотій вірусних хвороб.
6. Основні умови ефективної профілактики і обмеження поширення вірусних хвороб.

Послідовність проведення лабораторно - практичної роботи:

Завдання 1. Визначити тип симптомів вірусних та мікоплазмових захворювань на прикладі гербарних зразків, атласів, визначників.

Завдання 2. Замалювати схематичну будову вірусів. Показати на рисунку: капсид, нитку РНК, охарактеризувати симетрію вірусів і навести приклади.

Завдання 3. Схематично зобразити і описати цикл розвитку вірусів.

Завдання 4. Охарактеризуйте типи симптомів при хворобах, що викликані вірусами і вірусоподібними організмами (намалюйте рослини уражені вірусними хворобами з різними симптоматичними ознаками прояву).

Завдання 5. Дати відповіді на контрольні питання і захистити тему.

Обробка результатів та оформлення звіту.

Освоїти правила роботи з визначниками. Ознайомитися з симптомами та патологічними змінами, що відбуваються в рослині під дією вірусних та мікоплазмових хвороб. Освоїти методики обліку вірусних та мікоплазмових хвороб рослин. Дати відповіді на контрольні питання і захистити тему.

Питання для контролю знань:

1. Якій комплекс чинників враховують при діагностиці вірусних та мікоплазмових хвороб?
2. Охарактеризуйте мікоплазми, як збудники хвороб рослин.
3. Охарактеризуйте віруси, як збудники хвороб рослин.
4. Охарактеризуйте віроїди, як збудники хвороб рослин.
5. Які методи доцільно застосовувати для діагностики вірусних хвороб?
6. Наведить найбільш характерні симптоми для вірусних хвороб рослин.

Рекомендована література:

1. Вірусні хвороби сільськогосподарських культур /За ред. д.б.н. Бобиря А.Д. – К.: Урожай, 1975. – 152 с.
2. Вірусні та мікоплазмові хвороби польових культур /За ред. Шевченко Ж.П.- К.: Урожай, 1995. – 304 с.
3. Власов Ю.И., Ларина Э.И. Сельскохозяйственная вирусология.- М.: Колос, 1982.- 239 с.
4. Марютін Ф.М., Пантелєєв В.К., Білик М.О. Фітопатологія: Навчальний посібник / За ред. проф. Ф.М. Марютіна. – Харків: Еспада, 2008. – С. 83-102.
5. Микроорганизмы – возбудители болезней растений /Под ред. Билай В.И.- К.: Наукова думка, 1998. – С. 326 – 466.
6. Попкова К.В.Общая фитопатология. – М.: Агропромиздат, 1989.- С. 240 -288.
7. Шелудько Ю.М. Фітовірусологія.- К.: Вища школа, 1970.- С.272.
8. Яковлева Н.П. Фитопатология: программированное обучение. - М.: Колос, 1983. – С. 31-39.

Лабораторно- практична робота № 4

Тема: Шляхи передачі інфекції. Рослини - індикатори. Електронна мікроскопія. Серологічний метод діагностики.

Мета та завдання: Надзвичайно важливе практичне значення мають відомості про характер поширення і джерела відновлення інфекції, методи діагностики, профілактики і терапії цієї групи захворювань. Ознайомитись з основними шляхами передачі інфекції та оволодіти методами діагностики та обліку вірусних та мікоплазмових хвороб рослин.

Обладнання, прилади та матеріали: Гербарні зразки, умовні шкали для обліку хвороб рослин відповідно гербарним зразкам, мікроскопи, чашки Петрі із живильним середовищем, барвники, обладнання для мікроскопування.

Техніка безпеки та охорона праці Загальний інструктаж з техніки безпеки

Загальні теоретичні та практичні положення.

Основні методи діагностики вірусних хвороб та їх загальна характеристика

1. Метод індикаторних рослин. Метод індикаторних рослин ґрунтується на використанні тест-рослин (індикаторних), що дають чіткі, часто суто специфічні стосовно певного виду вірусу, симптоми. Зараження трав'янистих рослин-індикаторів здійснюють шляхом механічної інокуляції соком. Ураження проявляється у вигляді місцевих некрозів, рідше – системною реакцією (зміною забарвлення, пригніченням росту). У ряді випадків для зараження можна використовувати окремі ізольовані листки рослин-індикаторів. Віруси, які не передаються із соком, переносять на індикаторні рослини методом щеплення. Рідше для передачі вірусів використовують комах-переносників і рослину-паразита - повитицю.

2. Метод серологічної діагностики (імунологічний). Заснований на реакції живих організмів у відповідь на присутність чужорідних білків

(антигенів) утворювати антитіла. Отримані таким чином антитіла вступають в біохімічні реакції тільки з білками, які провокували утворення даного виду антитіл. За характером реакції встановлюють ступінь споріднення між антигенами патогенного організму і антитілами завдяки візуальному прояву реакцій аглютинації та преципітації.

Практичне значення для ідентифікації вірусів у рослині мають такі **модифікації серодіагностики:**

- **краплинний метод**, при якому на предметному склі краплю антисироватки змішують із краплею соку рослини і через кілька хвилин оцінюють реакцію візуально або за допомогою мікроскопу (при малому збільшенні на темному полі);

- для виявлення сферичних та інших дрібних вірусів використовують **метод подвійної дифузії в агаровому гелі**. При цьому в одні лунки, вирізані в шарі агарового середовища, додають антисироватку, а в інші – очищений сік рослини. Антитіла і вірусні частки дифундують у гелі назустріч одне одному і утворюють при зустрічі виразні лінії преципітації;

- при використанні **методу радіальної імунодифузії** антисироватку додають безпосередньо в агарове середовище, а лунки заповнюють соком рослини. У випадку позитивної реакції навколо лунок утворюються преципітати у формі кілець;

- **метод адсорбції** заснований на тому, що перед реакцією з антигеном антитіла зв'язують будь-яким інертним матеріалом з великими частками, наприклад, латексом. при реакції з антигеном відбувається добре помітна аглютинація всього комплексу;

- **імуно - ферментний аналіз (ІФА)** заснований на зв'язуванні антитіл визначеними мітками – ферментами. У лунки мікроплати з полімерних матеріалів додають антисироватку і очищений сік, що містить антитіла, між ними відбувається перша імунна реакція. Потім на фіксований комплекс „антиген-антитіло” наносять розчин антитіл, зв'язаних ферментом (фосфатазою або пероксидазою), при цьому мічені ферментом антитіла

нашаровуються на детермінанти молекул антигену і відбувається друга імунна реакція. Після додавання відповідного ферментного субстрату відбувається ферментна реакція по каталітичному розщепленню субстрату, що виявляється за допомогою фотометра (за кольором).

3. Люмінесцентний метод. Заснований на явищі первинного або вторинного світіння рослинних тканин під дією ультрафіолетового опромінення (при нанесенні на тканини спеціальних барвників-флуорохромів).

Для кожної з груп збудників хвороб рекомендованій і найчастіше застосовується певний комплекс методів діагностики.

4. Метод гель-електрофорезу. Цей метод заснований на електрофоретичному поділі попередньо очищених нуклеїнових кислот вірусу (віроїду) або його білкового компонента в гелі, при проведенні постійного електричного струму, з фарбуванням зон відповідно нуклеїнових кислот або білків. При порівнянні отриманих пофарбованих ліній із висотою стандартних маркерних зон визначають масу і розміри вірусних структур.

5. Метод ДНК-зондів ґрунтується на принципі компліментарності нуклеїнових кислот. Синтезують зонди, що впізнають визначені нуклеотидні послідовності РНК вірусу. Залежно від вибору зондів можна диференціювати групи, види і навіть штами вірусів.

6. Молекулярний метод заснований на знанні будови молекули РНК вірусу. Найбільш поширеним тестом є ампліфікація (множення) видоспецифічних послідовностей РНК в ході полімеразної ланцюгової реакції (PCR). При цьому окремі фрагменти РНК, специфічні тільки для одного виду або групи вірусів, багаторазово за допомогою ферментів розмножують, при цьому їхня кількість суттєво перевищує вихідне число копій обраного фрагмента РНК. Наступним етапом діагностики є виявлення їх методом електрофорезу в гелі або імунофлуоресценції.

7. Метод включень. Розвиток деяких вірусів в клітинах рослини супроводжується утворенням у них скупчень вірусних часток (включень,

кристалів Івановського), що виявляються за допомогою звичайного світлового мікроскопа. Для кожного виду вірусу властива своя форма вірусних включень, що утворюються звичайно в клітинах волосків або

Питання для самовизначення рівня підготовки студента до роботи:

1. Наведіть шляхи передачі вірусної інфекції.
2. Що таке рослини- індикатори?
3. Які патологічні зміни відбуваються в рослині при розвитку вірусів?
4. Які патологічні зміни відбуваються в рослині при розвитку мікоплазм?

Послідовність проведення лабораторно - практичної роботи:

Завдання 1. Визначити тип симптомів вірусних та мікоплазмових захворювань на прикладі гербарних зразків, атласів, визначників.

Завдання 2. Визначити основні методи діагностики вірусних та мікоплазмових хвороб.

Завдання 3. Розглянути та описати методи діагностики вірусних хвороб.

Завдання 4. Розглянути та описати методи діагностики мікоплазмових хвороб.

Завдання 5. Дати відповіді на контрольні питання і захистити тему.

Діагностика фітопатогенних мікоплазм.

При діагностиці фітопатогенних мікоплазм застосовують сучасні методи наукових лабораторних досліджень. Найбільш поширеними серед них є:

1. **Електронно-мікроскопічне дослідження** (виявлення в клітинах рослини мікоплазменних організмів або мікоплазмоподібних телець).
2. **Установлення інфекційне ТМ патогена** (щепленням, за допомогою комах й ін.).
3. **Мікробіологічний метод: здійснення тріади Коха** (виділення збудника в чисту культуру - зараження їм здорової рослини й одержання симптомів, ідентичних першим,- повторне виділення збудника зі штучно заражених рослин).

4. Реакція збудника на антибіотики групи тетрацикліну.

Діагностика фітопатогенних вірусів.

При діагностиці фітопатогенних вірусів використовують такі методи лабораторної діагностики:

1.Макроскопічний метод.

2.Метод перезараження рослин (відновлення на тому ж виді рослин патологічних змін, аналогічних первинному зразку шляхом штучного зараження).

3.Метод індикаторних рослин.

4.Метод серологічної діагностики.

5.Метод електронної мікроскопії.

6.Анатомо-цитологічний метод (встановлюються зміни морфологічних ознак при вірозах рослин – некротизація, гіперплазія і гіпоплазія).

7.Метод гель-електрофорезу.

8.Люмінесцентний метод.

9.Хімічний метод (заснований на реакції мікроорганізмів або ураженої тканини на деякі реактиви).

10.Метод ДНК-зондів.

11.Молекулярний метод.

12. Метод включень.

Обробка результатів та оформлення звіту.

Освоїти правила роботи з визначниками. Ознайомитися з симптомами та патологічними змінами, що відбуваються в рослині під дією вірусних та мікоплазмових хвороб. Освоїти методики діагностики вірусних та мікоплазмових хвороб рослин. Дати відповіді на контрольні питання і захистити тему.

Питання для контролю знань:

1. Охарактеризуйте електронно -мікроскопічні дослідження виявлення в клітинах рослини мікоплазменних організмів.
2. Охарактеризуйте мікробіологічний метод: здійснення тріади Коха

3. Охарактеризуйте метод реакція збудника на антибіотики групи тетрацикліну.
4. Охарактеризуйте макроскопічний метод діагностики вірусів.
5. Охарактеризуйте метод перезараження рослин.
6. Охарактеризуйте метод індикаторних рослин.
7. Охарактеризуйте метод серологічної діагностики.
8. Охарактеризуйте метод електронної мікроскопії.
9. Охарактеризуйте анатомо - цитологічний метод.
10. Охарактеризуйте метод гель-електрофорезу.
11. Охарактеризуйте люмінесцентний метод.
12. Охарактеризуйте хімічний метод (заснований на реакції мікроорганізмів або ураженої тканини на деякі реактиви).
13. Охарактеризуйте метод ДНК- зондів.
14. Охарактеризуйте молекулярний метод.
15. Охарактеризуйте метод включень.

Рекомендована література:

1. Вірусні хвороби сільськогосподарських культур /За ред. д.б.н. Бобиря А.Д. – К.: Урожай, 1975. – 152 с.
2. Вірусні та мікоплазмові хвороби польових культур /За ред. Шевченко Ж.П.- К.: Урожай, 1995. – 304 с.
3. Власов Ю.И., Ларина Э.И. Сельскохозяйственная вирусология.- М.: Колос, 1982.- 239 с.
4. Марютін Ф.М., Пантелеев В.К., Білик М.О. Фітопатологія: Навчальний посібник / За ред. проф. Ф.М. Марютіна. – Харків: Еспада, 2008. – С. 83-102.
5. Микроорганизмы – возбудители болезней растений /Под ред. Билай В.И.- К.: Наукова думка, 1998. – С. 326 – 466
6. Попкова К.В.Общая фитопатология. – М.: Агропромиздат, 1989.- С. 240 -288.
7. Шелудько Ю.М. Фітовірусологія.- К.: Вища школа, 1970.- С.272.
8. Яковлева Н.П. Фитопатология: программированное обучение. - М.: Колос, 1983. – С. 31-39.

Лабораторно-практична робота № 5

Тема: Бактерії и актиноміцети - збудники хвороб рослин. Типи бактеріальних хвороб:

Мета та завдання: Ознайомитися з порядком визначення бактеріальних хвороб та хвороб, викликаних актиноміцетами, основними змінами, які викликають бактеріальні та актиноміцетні хвороби в рослинах. При опануванні матеріалу цієї теми необхідно особливу увагу звернути на відмінності фітопатогенних бактерій: їх морфологічні та культуральні ознаки, класифікацію, шляхи проникнення в рослини, особливості патогенезу, способи і шляхи збереження та поширення інфекції.

Обладнання, прилади та матеріали: Гербарні зразки, атласи, визначники, умовні шкали для обліку бактеріальних хвороб та хвороб, що викликані актиноміцетами, мікроскопи, чашки Петрі, барвники, обладнання для мікроскопіювання.

Техніка безпеки та охорона праці Загальний інструктаж з техніки безпеки

Загальні теоретичні та практичні положення.

Серед різноманіття *бактерій*, що мешкають на земній кулі, близько 400 видів володіють здатністю паразитувати на рослинах. Число бактеріальних захворювань, поширених на сільськогосподарських культурах обмежується декількома десятками. Поширеними і шкідливими бактеріальними хворобами є судинний бактеріоз капусти, чорна ніжка картоплі і ін. Дуже небезпечний бактеріальний опік плодівих дерев — карантинне захворювання. Майже всі бактерії, що викликають хвороби сільськогосподарських рослин, мають паличкоподібну форму. Більшість з них рухома, що обумовлено наявністю на їх поверхні жгутиків.

Живлення бактерій. Харчуються бактерії осмотично, безпосередньо через оболонку утворюючих їх клітин. Здібність до паразитизму обумовлена

наявністю у них ряду ферментів, за допомогою яких бактерії переводять необхідні для них речовини (білки, цукри і ін.) в засвоєні форми.

Проникнення бактерій в рослину може відбуватися різними шляхами, але завжди через природні отвори або через пошкодження покривних тканин. Можливість *зараження* рослин бактеріями і інтенсивність розвитку захворювання залежать як від умов навколишнього середовища, так і від стану рослин. Більшість фітопатогенних бактерій може розвиватися тільки при підвищеній вологості повітря. Всі фітопатогенні бактерії добре ростуть на штучних живильних середовищах, утворюючи колонії, звичайно блискучі, слизисті, округлої форми, з рівними або, рідше, порізнаними краями.

Розмноження бактерій. Розмножуються бактерії головним чином простим поділом клітини на дві частини. У одних випадках таке ділення відбувається за рахунок утворення поперечної перегородки, в інших — шляхом утворення перетяжки. У деяких бактерій спостерігається брунькування. Мінливість спадкових властивостей бактерій може відбуватися унаслідок спонтанних мутацій (під впливом опромінювань, хімікатів і ін.) або шляхом рекомбінацій.

Розповсюдження бактерій. В період вегетації бактерії можуть розповсюджуватися від рослини до рослини повітряними течіями, водою (переважно при дощі), комахами, людиною (при догляді за рослинами). На далекі відстані бактерії часто переносяться з насінням або посадковим матеріалом. Таким шляхом розповсюджуються, наприклад, бактерії — збудники судинного бактеріозу капусти, бактеріального раку томату, кільцевої гнилі картоплі і ін. Переносниками бактерій можуть бути і птахи.

Збереження бактерій. Зберігаються фітопатогенні бактерії в основному з рослинними залишками в ґрунті, але нетривало, фітопатогенні бактерії швидко втрачають свою патогенність, оскільки пригнічуються іншими ґрунтовими мікроорганізмами-антагоністами (грибами, бактеріями, актиноміцетами). Багато видів бактерій зберігаються з насінням, частіше на поверхні їх, але у ряді випадків можлива і внутрішня інфекція. Зараження

насіння може відбутися як під час зростання плодів шляхом проникнення туди бактерій по судинах (бактерійний рак томату), так і при заготівці насіння з хворих плодів (чорна бактерійна плямистість томату). Джерелом первинної інфекції може бути також посадочний матеріал — бульби, саджанці плодкових дерев і ін. Окремі види бактерій (збудник слизистого бактеріозу капусти) можуть зберігатися в тілі комах, зокрема в личинках капустяної мухи.

Актиноміцети По сучасній систематиці актиноміцети відносять до бактерій. По ознаці забарвлення по Граму вони входять до тієї ж групи, що і паличкоподібні бактерії роду *Corynebacterium*. Проте по своїх морфологічних і біологічних особливостях актиноміцети займають проміжне положення між бактеріями і грибами. З бактеріями їх зближують малі розміри клітин і відсутність в них істинного ядра (прокаріотна будова клітки), а також пристосованість їх головним чином до лужного середовища (оптимальні показники рН 6,8—8,0). Схожість актиноміцетів з грибами полягає головним чином у тому, що їх вегетативне тіло (у переважної більшості) складається з тонких, діаметром 0,2—2 мкм, ниток, що гілкуючись, променисто розростаються у всі сторони, — гиф, сукупність яких, так само як і у грибів, називається міцелієм (грибницею). Розмножуються актиноміцети або обривками міцелії, або шляхом розпаду його на окремі фрагменти, або спорами, що утворюються на спеціальних органах спороносцях — повітряних відгалуженнях міцеліях. У культурі актиноміцети утворюють дрібні(діаметром 1—10 мм) колонії шкірястої або маслянистої консистенції з пігментом.

Актиноміцети — ґрунтові мікроорганізми, що мешкають головним чином сапрофітно на рослинних залишках, соломі, гної. Багато актиноміцетів здатні продукувати антибіотики. З них одержують, зокрема, тетрациклін, біоміцин, стрептоміцин, тераміцин. Але є і види актиноміцетів, здатні паразитувати на рослинах, наприклад *Streptomyces scabies* (*Actinomyces scabies*), що викликають звичайну паршу картоплі і буряка. На бульбах,

уражених звичайною паршею, утворюється невелике бородавкообразне здуття з огрубілої тканини, які потім розтріскуються і ошелешуються.

Питання для самовизначення рівня підготовки студента до роботи:

1. Охарактеризуйте бактеріальні хвороби та особливості їх патогенезу.
2. Охарактеризуйте хвороби, що викликають актиноміцети та особливості їх патогенезу.
3. Охарактеризуйте бактерії, дайте їх морфо - біологічну та екологічну характеристику.
4. Охарактеризуйте актиноміцети, дайте їх морфо - біологічну та екологічну характеристику.

Послідовність проведення лабораторно - практичної роботи:

Завдання 1. Вивчити захворювання, що викликаються бактеріями та актиноміцетами, типи прояву хвороб.

Завдання 2. Вивчити морфологічні, біологічні та екологічні особливості бактерій, класифікацію, шляхи проникнення в рослини, особливості патогенезу, способи і шляхи збереження та поширення інфекції.

Завдання 3. Вивчити морфологічні, біологічні та екологічні особливості актиноміцетів, класифікацію, шляхи проникнення в рослини, особливості патогенезу, способи і шляхи збереження та поширення інфекції.

Завдання 4. Проаналізувати і представити у вигляді малюнку форми фітопатогенних бактерій і особливості розташування джгутиків.

Завдання 5. Проаналізувати і представити у вигляді таблиці інформацію що до передачі спадкової інформації бактеріями.

Завдання 6. Проаналізувати характер поширення бактерій і їх гістотропну спеціалізацію. Інформацію представити у вигляді схеми. табл 1.

Завдання 7. Ознайомитися з характеристикою з особливою групою над царства Procaryote – Актиноміцетами. Замалювати будову і типи спороношення.

Завдання 8. Дати відповіді на контрольні питання і захистити тему.

Шляхи передачі спадкової інформації бактеріями

	Шляхи передачі спадкової інформації бактеріями	Характеристика	Малюнок

Обробка результатів та оформлення звіту.

Освоїти правила роботи з визначниками. Ознайомитися з симптомами та патологічними змінами, що відбуваються в рослині під дією бактеріальних хвороб і хвороб, що викликаються актиноміцетами. Дати відповіді на контрольні питання і захистити тему

Питання для контролю знань:

1. Охарактеризуйте симптоми бактеріальних хвороб рослин (ураження паренхіми, ураження судинної системи, змішана інфекція).
2. Охарактеризуйте особливості патологічного процесу при розвитку бактерій.
3. Охарактеризуйте морфо- біологічні особливості фітопатогенних бактерій
4. Проаналізуйте зв'язок прояву хвороб з механізмом шкідливої дії фітопатогенних бактерій.
5. Наведіть способи і шляхи передачі бактеріальної інфекції.
6. Наведіть способи і умови збереження бактеріальної інфекції.
7. Охарактеризуйте умови виникнення епіфітотій бактеріальних хвороб.
8. Наведіть основні методи профілактики і обмеження поширення бактеріальної інфекції.
9. Охарактеризуйте симптоми хвороб, викликаних актиноміцетами.
10. Охарактеризуйте морфо-біологічні та екологічні особливості актиноміцетів.
11. Наведіть основні напрямки профілактики інфекції рослин актиноміцетами.

Рекомендована література:

1. Бактериальные болезни растений /Под ред. Израильского В.П. – М.: Колос, 1979. – 288 с.
2. Горленко М.В. Бактериальные болезни растений (основы учения о бактериозах растений). – М.: Высшая школа, 1966.- 292 с.
3. Марютін Ф.М., Пантелєєв В.К., Білик М.О. Фітопатологія: Навчальний посібник / За ред. проф. Ф.М. Марютіна. – Харків: Еспада, 2008. – С. 70-83.
4. Микроорганизмы – возбудители болезней растений /Под ред. Билай В.И. - К.: Наукова думка, 1998. – С. 224 – 326.
5. Попкова К.В. Общая фитопатология.- М.: Агропромиздат, 1989.- С. 215 - 246.
6. Родигин М.Н. Общая фитопатология. – М.: Высшая школа, 1978.- С. 234-249.
7. Яковлева Н.П. Фитопатология: программированное обучение. - М.: Колос, 1983. – С. 39 – 45.

Лабораторно- практична робота № 6

Тема: Діагностика бактеріозів. Методи виділення бактерій та методи зараження рослин

Мета та завдання: Ознайомитися з порядком визначення бактеріальних хвороб та хвороб, викликаних актиноміцетами, особливостями патогенезу, способи і шляхи збереження та поширення інфекції, основними діагностичними ознаками хвороб та сучасними методами їх ідентифікації

Обладнання, прилади та матеріали: Гербарні зразки, атласи, визначники, умовні шкали для обліку бактеріальних хвороб та хвороб, що викликані актиноміцетами, мікроскопи, чашки Петрі, барвники, обладнання для мікроскопіювання.

Загальні теоретичні та практичні положення

Діагноз бактеріального захворювання, при якому встановлюється не тільки бактеріальна природа захворювання, але і вид його збудника, можливий тільки по сукупності зовнішніх симптомів захворювання з морфологічними, фізіологічними і іншими особливостями виділених з ураженої рослини бактерій. При дослідженні хворої рослини, імовірно ураженої бактеріозом, проводять мікроскопічні аналізи зрізів, узятих в межах ураженої тканини, з використанням спеціальних фарбників, що полегшують розпізнавання бактеріальних клітин. У необхідних випадках ізолюють збудника і детально вивчають його культуральні і фізіолого-хімічні ознаки (характер зростання колоній на твердих і рідких живильних середовищах, здатність культури розріджувати желатину і використовувати вуглеводи з утворенням кислоти і газу і ін.).

У разі підозри ураження рослин бактеріями для діагностики захворювань необхідно виконати ряд прийомів: ретельно проаналізувати симптоми захворювання; провести мікроскопічне дослідження уражених частин рослин; виділити збудника в чисту культуру та ідентифікувати його. При діагностиці бактеріальних хвороб використовують такі методи діагностики:

Виготовлення мікроскопічних препаратів для виготовлення бактерій у тканинах рослин. Залежно від виду захворювання, етапу його проявлення та кваліфікації дослідника, діагностувати його можна в результаті одного чи двох прийомів, але частіше за все доводиться проводити весь комплекс вище перерахованих. Органи рослин, що мають ознаки з підозрою ураження бактеріями, спочатку обережно миють у проточній воді стерильним скальпелем відрізають маленькі шматочки, розміщують їх на чисте предметно скло та додають невелику кількість стерильної води. Наступним кроком є подрібнення рослинного шматочка за допомогою гострого ланцета.

Через декілька хвилин бактерії дифундують із тканин у воді, після чого препарат накривають покрівельним скельцем та проводять мікроскопічний аналіз з профарбовуванням по Стаутону, або у барвнику «Orang G».

Методи вилучення фітопатогенних бактерій з різних органів рослин

Для точної діагностики бактеріального захворювання необхідно вилучити бактерії в чисту культуру, оскільки на хворих тканинах завжди, крім них, знаходиться багато супутніх мікроорганізмів. Із уражених тканин рослин готують мацерат, який за допомогою бактеріальної петлі висівають на поверхню агару, не пошкоджуючи її, висіяний матеріал інкубують 48-72 години в термостаті за температури 28С; сформовані колонії переносять у пробірки з косим агаром для подальших досліджень. З метою ізоляції бактерій можна також використовувати метод Коха. Суть методу полягає у розведенні вихідної суспензії.

Вилучити фітопатогенні бактерії можна *із різних уражених органів рослин*, при цьому бажано щоб рослинний матеріал був свіжим. У більшості випадків не рекомендується проводити поверхневу стерилізацію уражених частин, оскільки можна знищити фітопатогенні бактерії, що знаходяться на них. Особливо важливо це враховувати при роботі з ніжними частинами рослин – листовими пластинками, трав'янистими стеблами та ін. Водночас, при роботі із щільними частинами рослин (насінням, стеблами, наростами та ін.), можна використовувати поверхневу стерилізацію. Під час обстеження дослідного зразка, відбирають частини із найбільш характерними ознаками ураження. Користуються завчасно профламованими та охолодженими інструментами. *Вилучення із стебел і листків. Вилучення із коренів, бульб та наростів. Вилучення з насіння.*

Серологічний метод ідентифікації виду у бактерій

Серологічний метод дозволяє діагностувати бактеріози рослин. Ґрунтується він на властивостях кров'яної іворотки тварин після введення в неї частин культур будь-якого виду бактерії давати специфічну реакцію в присутності тих же або близьких видів. Досить часто використовують методики, що

базуються на реакціях аглютинації та преципітації. *Реакція аглютинації.*
Реакція преципітації.

Використання бактеріофагів

Суть даного методу полягає у використанні специфічних бактеріофагів. Збудника хвороби ідентифікують наступним чином: уражений рослинний матеріал розмелюють (насіння) або гомогенізують (зелені частини). Далі його поміщають у рідке живильне середовище, куди додають відому кількість фага, специфічного для досліджуваного виду бактерій. Якщо рослина інфікована за даним збудником хвороби, тоді бактеріофаги розмножуються. Цей процес можна визначити кількісним методом.

Штучне зараження рослин для визначення патогенності бактерій

Для підтвердження бактеріальної етіології хвороби досить часто використовують метод зараження рослин бактеріями, з яких вони були вилучені. Для цього інфекційний матеріал вирощують на косому агарі 24-43 год. Бактерії змивають стерильною водою та доводять до необхідної концентрації, яку встановлюють за інтенсивністю мутності суспензії.

В якості тест-рослин використовують рослини того виду, з якого бактерії ізолювані. Якщо ж за мету ставиться встановлення спеціалізації патогена, тоді доцільно використовувати й рослини інших видів. Інокуляція рослин фітопатогенними бактеріями можна також проводити шляхом ін'єкції суспензії в міжклітинники за допомогою шприца із затупленою голкою, роблячи укол з нижнього боку листка. Надалі регулярно проводять спостереження за інокульованими рослинами та відмічають характер ознак.

При цьому, слід мати на увазі, що інкубаційний період хвороби може тривати від декількох днів до багатьох тижнів. Водночас, бактеріальна етіологія захворювання буде доведена в тому разі, якщо при штучному зараженні рослин проявляються типові для даної хвороби симптоми.

Питання для самовизначення рівня підготовки студента до роботи:

1. Наведіть симптоми бактеріальних хвороб рослин.
2. Охарактеризуйте особливості патологічного процесу та морфо - біологічні особливості фітопатогенних бактерій.
3. Наведіть умови збереження та способи і шляхи передачі бактеріальної інфекції.
4. Охарактеризуйте симптоми хвороб, викликаних актиноміцетами.
5. Охарактеризуйте морфо-біологічні та екологічні особливості актиноміцетів.
6. Наведіть умови збереження та способи і шляхи передачі актиноміцетної інфекції.

Послідовність проведення лабораторно - практичної роботи

Ознайомитися з порядком визначення бактеріальних хвороб та хвороб, викликаних актиноміцетами, основними діагностичними ознаками хвороб та методами їх ідентифікації,

Завдання 1. Ознайомитись із загальною характеристикою основних методів діагностики бактеріальних хвороб і хвороб, що викликаються актиноміцетами.

Завдання 2. Вивчити захворювання, що викликаються бактеріями, типи прояву хвороб та методи їх ідентифікації.

Завдання 3. Вивчити захворювання, що викликаються актиноміцетами, типи прояву хвороб та методи їх ідентифікації

Діагностика фітопатогенних бактерій.

Діагностику фітопатогенних бактерій проводять за допомогою наступних методів:

1. **Макроскопічний метод.**
2. **Культурально-морфологічний метод** (ізоляція збудника на штучне живильне середовище і доведення “тріади Коха”).

3. **Мікробіологічний метод** (вивчення морфологічних, культуральних та біохімічних особливостей збудника).
4. **Метод серологічної діагностики.**
5. **Метод забарвлення за Грамом.**
6. **Люмінесцентний метод.**

Обробка результатів та оформлення звіту.

Освоїти правила роботи з визначниками. Ознайомитися з симптомами та патологічними змінами, що відбуваються в рослині під дією бактеріальних хвороб і хвороб, що викликаються актиноміцетами та методами їх діагностики. Дати відповіді на контрольні питання і захистити тему.

Питання для контролю знань:

1. Наведіть головні діагностичні ознаки бактеріальних хвороб рослин.
2. Наведіть головні діагностичні ознаки хвороб рослин, що викликаються актиноміцетами.
3. Які методи доцільно застосовувати для діагностики бактеріальних хвороб?
4. Охарактеризуйте метод виготовлення мікроскопічних препаратів для діагностики бактерій у тканинах рослин.
5. Охарактеризуйте методи вилучення фітопатогенних бактерій з різних органів рослин. Вилучення із стебел і листків. Вилучення із коренів, бульб та наростів. Вилучення з насіння.
6. Охарактеризуйте серологічний метод ідентифікації видів в бактерій
7. Охарактеризуйте реакцію аглютинації, реакцію преципітації.
8. Охарактеризуйте використання бактеріофагів
9. Охарактеризуйте штучне зараження рослин для визначення патогенності бактерій
10. Охарактеризуйте метод забарвлення за Грамом.
11. Охарактеризуйте люмінесцентний метод.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Основна:

1. Бактериальные болезни растений / ред. Израильского В.П. .- М.: Колос, 1979.-288с.
2. Вірусні хвороби сільськогосподарських культур / ред. Бобиря А.Д.- К.: Урожай, 1975.-152с.
3. Вірусні та мікоплазмові хвороби польових культур/ ред. Шевченко Ж.П.- К.: Урожай, 1995.-304с.
4. Власов Ю.И. Сельскохозяйственная вирусология/ Ю.И. Власов.- М. Колос, 1982.- 239с.
5. Горленко М.В. Бактериальные болезни растений (основы учения о бактериозах растений)/ М.В. Горленко.- М.: Высшая школа, 1966.- 292с.
6. Дементьева М. И. Фітопатологія: Підручник /М.И. Дементьева.-К.: Агропромиздат, 1985. - 398 с.
7. Дьяков Ю.Т. Общая фитопатология с основами иммунитета/ Ю.Т. Дьяков, И.Г. Семенова, Г.Д. Успенская.- М.: Колос, 1976.- С. 22-26.
8. Марютін Ф. М. Фітопатологія: Навчальний посібник/ Ф.М. Марютин, В.К. Пантелеев, М.О. Білик, ред проф. Ф. М. Марютина.- Харків: Еспада, 2008.-552с.
9. Попкова К .В. Общая фитопатология: учебник для вузов/ К.В. Попкова.- 2-е изд, доп и перераб.- М.: Дрофа, 2005.- 445с.
10. Попкова К .В. Общая фитопатология: учебник для вузов/ К.В. Попкова.- М.: Агропромиздат, 1989 - 335 с.
11. Родігін М.Н. Загальна фітопатологія./ М.Н. Родігін.-М.: Вища школа, 1978- 368с.
12. Яковлева Н. П. Фітопатологія: Програмоване навчання/ Н.П. Яковлева.- М.: Колос, 1983.- 272 с.
13. НПАОП 0.00-4.12-05 «Типове положення про проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці», затвердженого наказом Держгірпромнагляду від 26.01 2005р. №15

14.«Положення про організацію роботи з охорони праці учасників навчально-виховного процесу в установах і навчальних закладах», затвердженого наказом Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України від 20.11.2006р № 782.

Додаткова:

1. Билай В.И. Основы общей микологии./ В.И. Билай .- К.: Вища шк., 1980. - 359 с.
2. Билай В.И. Микроорганизмы - возбудители болезней растений. / В.И. Билай .- К.: Наук. думка, 1988. - 552 с.
3. Довідник із захисту рослин / ред. М.П. Лісового. - К.: Урожай, 1999.- 744с.
4. Дудка И.А., Вассер С.П. Грибы. Справочник миколога и грибника /И.А. Дудка, С.П.Вассер. - К.: Наук. думка, 1987. - 534 с.
5. Дьяков Ю.Т. О болезнях растений / Ю.Т. Дьяков. -М.: Агропромиздат, 1985. - 221 с.
6. Жизнь растений. -Т.2. Грибы. -М.: Просвещение, 1976. - 478 с.
7. Исаева Е.В Атлас болезней плодовых и ягодных культур/ Е.В. Исаева, З.А.Шестопад.- К.: Урожай, 1991.-144 с.
8. Кирай З. Методы фитопатологии / З. Кирай , З. Клемент З., Ф.Шаймоши та ін.-М.: Колос, 1974. -342 с.
9. Мир растений. -Т.2. Грибы. -М.: Просвещение, 1991 - 475 с.
10. Определитель болезней растений / М.К. Хохрякова.- Санкт- Петербург-Москва, 2003.- 591с.
11. Практикум із сільськогосподарської фітопатології: Навчальний посібник /В.Д. Колодійчук, А І. Кривенко, Н.І. Шушківська.- К.: «Центр учбової літератури», 2013.- 232с.
12. Практикум із сільськогосподарської фітопатології / ред. І.Л. Маркова .- К.: “ Урожай”,1998.- 269с.
13. Практикум по сельскохозяйственной фитопатологии/ ред. К.В. Попковой.- М.: Агропромиздат, 1988.- 333с.

14. Фітопатологія: Підручник / ред. І.Л. Марков.- К.: Ліра-К, 2017.- 547с. 61 іл.
15. Пересыпкин В.Ф. Сельскохозяйственная фитопатология: Учебник/ В.Ф. Пересыпкин.- 4-е изд, доп и перераб.- М.: Агропромиздат, 1989.- 480с.
16. Пересыпкин В. Ф. Сільськогосподарська фітопатологія: Підручник/ В. Ф. Пересипкін.- К.: Аграрна освіта, 2000.- 415с.
17. Пересыпкин В.Ф. Атлас болезней полевых культур/ В.Ф. Пересыпкин .- К.: Урожай, 1981.-248 с.
18. Пересыпкин В.Ф. Болезни сельскохозяйственных культур/ В.Ф. Пересыпкин. –Т.1. -К.: Урожай, 1989.-212 с.
19. Пересыпкин В.Ф. Болезни сельскохозяйственных культур/ В.Ф. Пересыпкин.- Т.2. -К.: Урожай, 1990.-245 с.
20. Пересыпкин В.Ф. Болезни сельскохозяйственных культур/ В.Ф.Пересыпкин. -Т.3.- К.: Урожай, 1991.245 с.
21. Тарр С. Основы патологии растений/ С. Тарр. -М.: Мир, 1975. -587 с.
- 22.Тимченко В.Й. Атлас шкідників та хвороб овочевих, баштанних культур і картоплі / В.Й.Тимченко, Т.Г. Єфремова.- К.: Урожай, 1982.- 80с. с ил.
23. Фітосанітарний моніторинг/ ред. М.М. Долі та Й.Г. Покозія. - К.: ННЦ ІАЕ, 2004.- 292с.
24. Черепанова Н.П. Морфология и размножение грибов / Н.П. Черепанова. —Л.: Изд-во ЛГУ, 1981.-120 с. 35.

Нижчі гриби

25. Милько А.А. Определитель мукоральных грибов/ А.А. Милько.-К.: Наук, думка, 1974. -302 с.
26. Морочковский С.Ф. и др. Визначник грибів України -Т.1 / С.Ф. Морочковский.. -К.: Наук.думка, 1967. -251с.
27. Черепанова Н.П. Виды Peronospora - паразиты высших растений/ Н.П. Черепанова. -Л.: Изд-во ЛГУ, 1987.-124 с.

Сумчасті гриби

28. Гелгота В.П. и др. Паразитные грибы степной зоны Украины/ В.П. Гелгота. -К.: Наук, думка, 1987. -280 с.
29. Гелюта В.П. Флора грибов Украины. Мучнисторосяные грибы/ В.П. Гелюта. -К.: Наук, думка, 1989. -256 с.
30. Мережко Т.А. Флора грибов Украины. Диапорทัลные грибы/ Т.А. Мережко,Л.В. Смык -К.: Наук, думка, 1990. -216 с.
31. Морочковский С.Ф. и др. Визначник грибів України Т.2-. Аскомицеты / С.Ф. Морочковский. -К.: Наук. думка, 1969. - 514 с.
32. Смицкая М.Ф. Флора грибов Украины. Гипокреальные грибы/ М.Ф. Смицкая. -К.: Наук, думка, 1991. -88 с.
33. Смык Л.В. Флора грибов Украины. Сферические грибы/ Л.В. Смык. -К.: Наук. думка, 1980.-181с.

Базидіальні гриби

34. Вассер С.П. Флора грибов Украины. Базидиомицеты. Аманитальные грибы/ С.П. Вассер. -К.: Наук, думка, 1992. -166 с.
35. Каратыгин И.В. Головные грибы. Онтогенез и филогенез/ И.В. Каратыгин. -Л.: Наука, 1981.-216 с.
36. Каратыгин И.В. Возбудители головни зерновых культур / И.В. Каратыгин. -Л.: Наука, 1986,-112 с.
37. Страхов Т.Д. Вопросы патогенеза и иммуногенеза головнёвых заболеваний зерновых культур / Т.Д. Страхов, Т.В.Ярошенко, З.Н.Федосеева -Х.: Вища шк., 1981.-176 с.
38. Фиалковская Е.А. Пыльная головня пшеницы/ Е.А. Фиалковская. -К.: 1963. -221с.

Недосконалі гриби

39. Билай В.И. Фузарии/ В.И. Булай. -К.: Наук, думка, 1977. -441с.
40. Мельник В.А. Определитель грибов рода *Ascohyta* Lib/ В.А. Мельник. – Л.: Наука, 1977. -244 с.