

МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ

УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ ЕКСПЕРТИЗИ СОРТІВ РОСЛИН

**НАУКОВО-МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
З ПРОВЕДЕННЯ КОМПЛЕКСУ ЗАХОДІВ ЗА ОЦІНКОЮ
ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ
ПРОТРУЙНИКІВ НА ІНФІКОВАНОМУ ХВОРОБАМИ НАСІННІ**



МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛІТИКИ ТА ПРОДОВОЛЬСТВА УКРАЇНИ

УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ ЕКСПЕРТИЗИ СОРТІВ РОСЛИН

**НАУКОВО-МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
З ПРОВЕДЕННЯ КОМПЛЕКСУ ЗАХОДІВ ЗА ОЦІНКОЮ
ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ
ПРОТРУЙНИКІВ НА ІНФІКОВАНОМУ ХВОРОБАМИ НАСІННІ**

**Київ
2024**

Науково-методичні рекомендації з проведення комплексу заходів за оцінкою ефективності застосування протруйників на інфікованому хворобами насінні / Розробники: В. М. Стефківський, С. І. Мельник, С. М. Гринів, Г. В. Трофімова, Т. М. Хоменко, Ю. Л. Стефківська, Є. Ф. Бобонич. 2024. 130 с.

Науково-методичні рекомендації розглянуто та схвалено Вченою радою
Українського інституту експертизи сортів рослин
(протокол № 12 від 27 червня 2024 року)

Рецензенти: **ДОЛЯ Микола Миколайович**, доктор с.-г. наук, професор,
член-кореспондент НААН України,
ПОЛОЖЕНЕЦЬ Віктор Михайлович, доктор с.-г. наук,
професор, заслужений діяч науки і техніки України

У науково-методичних рекомендаціях наведено принципи проведення комплексу заходів з оцінювання ефективності застосування протруйників на інфікованому хворобами насінні, за яких якісно і кількісно виявляється видовий склад патогенів, що передаються з посівним матеріалом, характер їхньої локалізації в насінні, а також схожість насіння, яка може відрізнятися залежно від ступеня інфікування. Визначення зараженості насіння хворобами дасть змогу завчасно виявити інфекцію насіннєвого матеріалу і не використовувати на посів уражене насіння.

Науково-методичні рекомендації розроблено для використання у роботі спеціалістами Українського інституту експертизи сортів рослин, зокрема у його філіях, агровиробниками, фермерами, а також для слухачів інститутів післядипломної освіти, науковців, студентів під час навчального процесу та проходження технологічних і виробничих практик.

ISBN 978-617-95452-0-7

© Український інститут експертизи сортів рослин, 2024

ЗМІСТ

ВСТУП	4
Розділ 1. СИМПТОМИ ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ РОСЛИН	7
Розділ 2. НАУКОВО ОБҐРУНТОВАНІ МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАРАЖЕННЯ НАСІННЯ ПАТОГЕНАМИ	9
2.1. Макроскопічний метод	9
2.2. Метод обмивання насінин та центрифугування суспензії спор...	11
2.3. Метод відбитків	14
2.4. Метод аналізу зародків (ембріонів)	15
2.5. Біологічний метод	20
2.5.1. Аналіз насіння у вологій камері	20
2.5.2. Аналіз насіння на поживних середовищах	28
2.5.3. Аналіз насіння в рулонах фільтрувального паперу	30
Розділ 3. АНАЛІЗ НАСІННЯ ОКРЕМИХ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ КУЛЬТУР НА ХВОРОБИ	37
3.1. Аналіз насіння пшениці та жита	37
3.2. Аналіз насіння ячменю та вівса.....	38
3.3. Аналіз розвитку хвороб проростків зернових культур	41
3.4. Аналіз насіння кукурудзи	42
3.5. Аналіз насіння рису	44
3.6. Аналіз насіння льону	46
3.7. Аналіз насіння сої	49
3.8. Аналіз насіння ефіроолійних культур	53
3.9. Аналіз насіння гороху	54
3.10. Аналіз насіння квасолі	55
3.11. Аналіз насіння моркви	59
3.12. Аналіз насіння соняшнику	61
Розділ 4. ЛЮМІНІСЦЕНТНИЙ МЕТОД	67
Розділ 5. МЕТОДИ ФІТОЕКСПЕРТИЗИ НАСІННЯ	69
Розділ 6. ТЕТРАЗОЛЬНИЙ ТЕСТ (TETRAZOLIUM TEST)	79
Розділ 7. СХОЖІСТЬ ТА ЕНЕРГІЯ ПРОРОСТАННЯ	110
Розділ 8. РЕКОМЕНДАЦІЇ З ВИКОРИСТАННЯ ПРОТРУЙНИКІВ	119
БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	125
ДОДАТОК	127

ВСТУП

Найважливішою умовою підвищення врожайності та збільшення валових зборів сільськогосподарських культур є захист їх від хвороб, особливо тих, що передаються з насінням, таких як сажки, фузаріози, гельмінтоспоріоз, альтернаріоз, пліснявіння та інші.

Шкідливість і поширеність хвороб залежать від трьох основних чинників: умов довкілля, наявності або відсутності дуже мінливого патогену та відносної стійкості або сприйнятливості господаря рослини. У комбінації, коли ці чинники поєднуються і діють спільно у сприятливих для розвитку хвороб умовах, виникають епіфітотії.

Передача патогенів через насіння є найшвидшим способом поширення захворювань рослин як на земній кулі, так і всередині країни, регіону, господарства. До 60% хвороб рослин передаються з насінням. Мікотоксини є не просто токсичними забруднювачами, але й потужним фактором, що визначає демографічну ситуацію у світі. Багатоцільову дію на організм рослин і трофічні зв'язки рослин і тварин токсиноутворюючих мікроорганізмів визначають основні напрями створення біопрепаратів проти токсиногенних грибів та механізми їх впливу на ураженість зерна токсиногенними грибами.

Контроль ураження насіння токсиногенними грибами за допомогою хімічних методів значною мірою посилюється такими обставинами: наявністю конідіальної та статевий стадій; зазвичай відсутністю домінантних генів стійкості у рослин і, що не менш важливо, відсутністю високоефективних протруйників. Втрата ґрунтами в агроценозах раніше притаманної їм властивості супресивності, що виявляється в збалансованому співвідношенні патогенної, сапротрофної та антагоністичної мікрофлори, значною мірою посилює цей процес й актуалізує використання біологічних методів захисту рослин. У такій ситуації актуальним є використання мікробів-антагоністів. Дослідження факторів еволюції токсиногенних грибів в агроценозах і закономірностей їхнього токсиногенезу за ураження вегетуючих рослин і насіння зернових культур дає змогу здійснювати розроблення біопрепаратів, які за умови малооб'ємного застосування дезорганізують основні життєві процеси розвитку, комунікації токсиноутворення актуальних видів патогенів.

Науковці також відзначають, що біологічний контроль патогенів рослин є стратегією запобігання деградації агроценозів, агроландшафтів і загалом середовища

проживання людини. Завдання біологічного контролю – знижувати вміст інокулюму та інтенсивність зараження патогеном в його активній і спочиваючій стадії в одного або більшої кількості патогенів, що супроводжується спрямованою зміною умов колонізації патогенами господаря і життєдіяльності антагоністів [15, 20].

Застосування протруйників «наосліп», без урахування спектра дії препарату, може завдати більше шкоди, ніж користі. **Саме тому важливо проводити комплекс науково обґрунтованих заходів фітосанітарної експертизи насіння**, завдяки яким якісно та кількісно виявляється видовий склад патогенів, що передаються з посівним матеріалом, характер їх локалізації в насінні, а також схожість насіння, яка може відрізнятися залежно від ступеня інфікування. На цих самих принципах діагностики будується й оцінювання біологічних препаратів. Зокрема, фітосанітарна експертиза дає змогу визначити наявність таких збудників хвороб, як фузаріоз, альтернаріоз, гельмінтоспоріоз, пеніцильоз тощо, а головне – сажкова інфекція. На підставі цих результатів науково обґрунтовують і підбирають найефективніший та економічно вигідніший протруйник, що знижує витрати на 30–40%.

Визначення зараженості насіння хворобами дає змогу завчасно виявити інфекцію насіннєвого матеріалу та не використовувати на посів уражене насіння. Вибір визначається станом насіння – ступенем його зовнішньої та внутрішньої інфікованості. Для цього необхідно провести фітосанітарну експертизу насіння, яка якісно й кількісно виявляє видовий склад збудників, зовнішню заспореність насіння патогенами та внутрішньонасіннєву інфекцію.

На підставі результатів науково обґрунтованих заходів фітосанітарної експертизи можливі такі варіанти використання насіннєвого матеріалу:

- висівати насіння без протруювання – за відсутності або мінімального рівня зовнішньої та внутрішньонасіннєвої інфекції за попередниками з низьким рівнем інфікованості ґрунту;

- знезаражувати посівний матеріал біологічним протруювачем або комплексом біозасобів (їхня вартість на 30–50% нижча від ціни хімічних протруйників);

- висівати насіння, оброблене хімічним протруювачем або композицією хімічних протруйників;

- відмовитися від використання партії насіння через те, що застосування засобів захисту не змінить суттєво її стан.

Зважаючи на вищевказане, для визначення ефективності біологічних протруйників необхідним є проведення науково обґрунтованих заходів фітосанітарної експертизи насіння з виявлення його інфікованості збудниками хвороб.

Розділ 1

СИМПТОМИ ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ РОСЛИН

Інфекційні (інфекція – лат. *infectio* – ураження) хвороби рослин залежно від збудників поділяють на грибні, бактеріальні, вірусні, нематодні та хвороби, збудниками яких є рослини-паразити (омела, вовчок, повитиця тощо) [3].

Збудниками інфекційних хвороб є паразити з нижчих відділів рослинного світу – гриби. Гриби – найбільш поширена група паразитних мікроорганізмів, що спричиняють захворювання сільськогосподарських культур. Зі 160 основних інфекційних хвороб 135, або 83%, спричиняються грибами. На рослинах паразитують гриби, які належать до класів ооміцетів, аскоміцетів, базидіоміцетів та незавершених грибів [2].

Фузаріоз. Захворювання рослин, яке спричиняють гриби роду *Fusarium*. Фузаріоз колоса пшениці, жита, ячменю та кукурудзи – небезпечна інфекційна хвороба злакових культур, причиною якої є недосконалі гриби роду *Fusarium*. Головним джерелом інфекції є уражене насіння та залишки рослин на полі. Гриб поширюється конідіями та аскоспорами, які разносяться вітром, дощем. Інфікування призводить до істотної втрати, погіршення якості врожаю. Мікотоксини, що виробляються грибноцею, роблять його непридатним для вживання людиною і тваринами. На зернівках і частинах проростка з'являється тонка, ніжна сніжно-біла, рожева, малинова грибниця, а іноді й помаранчеві коростинки. Корінці загнивають від основи, стають бурими або склоподібно-прозорими. Відзначають побуріння колеоптилю, стеблинки, закручування стеблинки, деформацію усього проростка.

Гельмінтоспоріоз (бура плямистість). Гельмінтоспоріоз уражує листя кукурудзи збудником *Helminthosporium turcicum* Pass. Крім кукурудзи цей патоген ушкоджує також сорго, суданську траву. Хвороба уражує всю рослину та виявляється у неоднакових формах, зокрема, в плямистості листя, побурінні колоскових плівок, чорноті зародка зерна, кореневій гнилі, ураженні сходів посівів. На зернівках – чорний наліт, корінці буріють, загнивають, від основи покриваються чорним нальотом. Відзначається недорозвинення корінців, побуріння стеблинки та колеоптилю, деформація проростків.

Сапрофіти формують різного роду грибниці або спороношення на зернівках, але не уражують інші невідмерлі органи проростка.

Альтернаріоз – темно-сірий наліт або бархатисті темні дерновинки.

Пеніцильоз – подушкоподібний зелений, зелено-сизий наліт (спочатку яскраво-зелений).

Рожева пліснява – рожевий наліт, який рівномірно покриває зернівку.

Головчаста пліснява – павутинний білий або сірий наліт, в якому неозброєним оком видно чорні цятки. Можливі й інші сапрофіти.

Зараженим слід вважати те насіння, на зернівці якого є наліт; проростки зараховують до уражених, якщо вони мають ознаки кореневої гнилі, корінці, що загнили, плями, штрихи, побуріння колеоптилю та стеблинки.

Бал ураження

0 – проростки здорові; 1 – на зернівках наліт, проростки без видимих змін; 2 – в основі зародкових корінців побуріння (не більше ніж на 1/4 довжини), можливе побуріння колеоптилю або поява штрихів на стеблинці та першій листковій пластинці, проростки розвиваються нормально; 3 – побуріння зародкових корінців більш ніж на 1/4 довжини, проростки відстають у рості або деформовані, можливе ураження й інших органів проростка; 4 – насінини не сходять або проростки гинуть впродовж 7 днів.

На підставі фітоаналізу автори рекомендували здорові партії насіння або партії з мінімальним зараженням (не вище ніж 10%) використовувати як основний і перехідний фонд; в елітно-насінницьких господарствах термічну обробку зараженого насіння (понад 30%) замінювати на протруювання Вітаваксом, 2,5–3,0 л/т; матеріал, що не потребує знезараження проти летючої сажки (із зараженістю понад 30%).

Запропоновано такі нормативи зараженості: перший клас – допускається не більше ніж 30% проростків з ознаками кореневої гнилі (2, 3, 4 бали), а насіння та проростків із загальною зараженістю – не більше ніж 40%; другий клас – відповідно не більше ніж 40 і 50%; третій клас – понад 40 і 50% [17].

Розділ 2

НАУКОВО ОБҐРУНТОВАНІ МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАРАЖЕННЯ НАСІННЯ ПАТОГЕНАМИ

Кожна партія насіння перед посівом повинна бути охарактеризована з погляду ураженості її хворобами. Мікроорганізми, які перебувають на поверхні або всередині насіння, можуть слугувати початком розвитку хвороби, що призводить до втрати врожаю. Проведення аналізу насіння дає змогу встановити ураженість проростків, лабораторну та польову схожість та уникнути імпорту збудників хвороб з партіями насіння в інші локації.

Найчастіше під час проведення фітосанітарної експертизи насіння обмежуються лише виявленням хвороб проростків, зокрема, корневих гнилей. Однак цього недостатньо, науково обґрунтована фітопатологічна експертиза повинна бути повною та включати всі методи: **макроскопічний**, що виявляє сажкові мішечки, склероції ріжків та інших грибів, галли пшеничної нематоди; **метод обмивання насіння і центрифугування** та запропонований нами замість нього **метод відбитків насіння клейкою стрічкою**, що виявляє заспореність насіння видами твердої сажки; **анатомічний метод і метод аналізу ембріонів**, який застосовують для виявлення міцелію різних грибів, особливо міцелію летючої сажки пшениці та ячменю у внутрішніх тканинах насінини, в зародку; **біологічний метод**, який передбачає аналіз насіння у вологій камері, в рулонах фільтрувального паперу, на поживних середовищах для виявлення зовнішньої і внутрішньої зараженості насіння та проростків хворобами. Для попереднього аналізу зараженості насіння патогенами та ступеня його травмованості за наявності апаратури користуються **люмінесцентним і рентгенологічним методом**.

2.1. Макроскопічний метод

Аналіз насіння цим науковим методом дає змогу виявити домішки в насінні, до яких входять залишки уражених рослин, склероції, сажкові утворення (мішечки сажки та насіння, уражене сажкою), галли пшеничної нематоди (Додаток), а також насіння з бульбашками, плямами, без блиску (тьмяне), що свідчить про наявність інфекції. Аналіз проводять одночасно з визначенням чистоти насіння за ДСТУ 4138-2002 Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості [8].

За допомогою цього наукового методу в пробах насіння виявляють:

1) склероції: ріжків (зб. *Claviceps purpurea* Tul.) – у жита (рис. 1) та кормових злаків; білої гнилі (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) – у соняшнику, однорічних і багаторічних бобових та хрестоцвітих культур; сірої гнилі (*Botrytis cinerea* Pers.) – у соняшнику, льону, однорічних і кормових бобових, салату; тифульозу (*Typhula* sp.) – у конюшини;



Рис. 1. Загальний вигляд склероціїв гриба *Claviceps purpurea*, відібраних із колосся жита

2) насіння та його фрагменти, що містять спори збудників твердої сажки пшениці, сажкові мішечки – грибів *Tilletia levis* Kuehn, *T. caries* (D.C.) Tul. (рис. 2) або два види теліоспор збудника карликової сажки – *T. controversa* Kuehn;



Рис. 2. Насіння пшениці здорове (ліворуч) та спорові мішечки – соруси (праворуч)

3) насіння, шматочки листя, плівки, стручки, на яких можуть бути зачатки у вигляді пікнід (спермогоній) *Diplodia zae* (Schw.) Lev. – на насінні кукурудзи; *Septoria sp.* – на льоні, селері, петрушці; *Ascochyta pisi* Lib. – на горосі; *Ascochyta hortorum* (Speg.) Smiht. – на томатах, капусті та інших або як спородохії *Fusarium sp.* на насінні пшениці, кукурудзи;

4) насіння з безбарвними або різнокольоровими плямами: коричнево-попелясті плями на насінні квасолі, зараженому грибом *Colletotrichum lindemuthianum* (Sass. and Msgn.) Br. and Cav. (рис. 3), почорніння в області зародка насіння пшениці («чорний зародок»), спричинене грибами *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) та *Alternaria sp.* (рис. 4);



Рис. 3. Насіння квасолі, уражене антракнозом



Рис. 4. Зерно пшениці з симптомами чорного зародку

5) надламане, пухирчасте, легке насіння без характерного блиску, з відхиленням від нормального кольору, що свідчить про внутрішні інфекції – насіння гороху, заражене *Ascochyta pisi* Lib., насіння квасолі, заражене *Stemphylium botriosum* Wallr., насіння пшениці з інфекцією *Septoria nodorum* Berk.

Зволоження насіння полегшує виявлення пікнід або скупчень міцелію на його поверхні. Під час занурення насіння у воду створюються умови для дослідження спор, що виділяються з пікнід: *Polispora lini* Lafarty в насінні льону або нематод у насінні пшениці та рису – *Anguina tritici* Steinb і відповідно *Aphelenchoides bessei* Christie.

2.2. Метод обмивання насіння та центрифугування суспензії спор

Цей науковий метод застосовують для визначення наявності спор сажкових грибів на поверхні насіння злакових культур і цибулі; спор збудника пасма на насінні льону; спор рамуляріозу на насінні буряків, коріандру; спор іржі на клубочках буряків і насінні анісу; спор і міцелію церкоспорозу на насінні фенхелю. На зернових культурах

цим способом можна визначити заспореність насіння пшениці та жита збудниками стеблової і твердої сажки, ячменю – кам'яної та чорної (несправжньої летючої) сажки. Кукурудзи – збудником летючої сажки, проса – звичайної сажки. Рису – збудниками гельмінтоспоріозу, фузаріозу, сажки.

Відбір проб

Для проведення аналізу з насіння основної культури відраховують поспіль дві робочі проби по 100 насінин у кожній.

Проведення аналізу

Кожну робочу пробу поміщають в пробірку, заливають 10 см³ води і збовтують. Насіння з гладкою поверхнею (пшениця, жито) збовтують протягом 5 хв, насіння з шорсткою поверхнею (буряк та інші) – 10 хв, насіння льону – 1 хв. Отримані суспензії можна обстежити безпосередньо під мікроскопом для ідентифікації патогенів або здійснити центрифугування. У разі центрифугування суспензії спор промивну воду з кожної проби насіння зливають в окремі центрифужні пробірки. Центрифугують протягом 1–5 хв зі швидкістю 600–1000 об/хв відповідно до ДСТУ 4180-2003 [11]. Якщо в центрифuzі не всі пробірки зайняті суспензією, то вільні заповнюють для рівноваги чистою водою до того самого рівня. Після закінчення центрифугування з пробірок обережно відбирають 9 см³ надосадової рідини. Осад, що залишився, збовтують піпеткою і з кожної пробірки готують по 5 препаратів. Для встановлення виду гриба препарати переглядають під мікроскопом.

Кількісний облік спор проводять у камері Горяєва.

Зараженість однієї насінини спорами (X_1) обчислюють в штуках за формулами:

– під час підрахунку в камері Горяєва без попереднього центрифугування

$$X_1 = \frac{N_c \cdot 10}{100} \quad (1)$$

– під час підрахунку в камері Горяєва з попереднім центрифугуванням

$$X_1 = \frac{N_c}{100} \quad (2),$$

де N_c – кількість спор в 1 см³ суспензії, шт.;

10 – об'єм води, яку використовують для змиву, см³;

100 – кількість насіння, відібраного для аналізу, шт.

Величину N_c в 1 см^3 суспензії розраховують, перемножуючи виявлену кількість спор на 250 тис., якщо підрахунок спор здійснюють у великих квадратах камери Горяєва; на 400 тис., якщо спори підраховують в малих квадратах камери; якщо ж обчислення виконують по всій площі камери, то виявлене число спор перемножують на 1111.

Результатом аналізу вважають середнє арифметичне результатів двох проб.

Тютєрев С. Л. [21] описує такі особливості проведення науково обґрунтованої фітосанітарної експертизи насіння:

методи фітосанітарної експертизи насіння. Описано методи визначення зараженості насіння поверхневою та внутрішньою інфекцією, що дають змогу оцінити потенційну кількість хворих проростків. Зазвичай на перегляд від кожного зразка беруть по 400 насінин, проте це число залежить від очікуваного рівня зараженості насіння й пов'язане з нормою висіву;

аналіз сухого насіння на зараженість патогенами. Перегляд насіння під лупою дає змогу визначити його зараженість деякими патогенами, зокрема з характерними симптомами у вигляді забарвлення насіння, некрозів, розростання або наявності плодових тіл на насінні. Наприклад, зараження насіння пшениці альтернаріозом призводить до утворення чорних цяток і потемніння в області зародка.

Зазвичай відсутність симптомів на насініні не означає відсутності патогенів, оскільки утворення некротичних або незвично забарвлених плям і репродуктивних структур патогена відбувається тільки на сильно зараженому насінні.

Насіння, заражене деякими фітопатогенами, здатне флуоресціювати за перегляду в ближньому ультрафіолетовому світлі, наприклад, відома зеленувата флуоресценція насіння пшениці, зараженого септоріозом (зб. *Septoria nodorum*). Однак цей метод дає лише приблизну оцінку;

аналіз змивів насіння. Цей метод можна застосовувати для патогенів, що спричинюють поверхневу інфекцію, де легко можна ідентифікувати спори або міцелії.

Спори або міцелії змивають з поверхні насіння (зразок певної маси) вимірною кількістю рідини (зазвичай води з мийним засобом). Для цього насіння струшують, використовуючи механічну мішалку.

Стандартизація цих процедур за кількістю насіння, води та часу струшування дає змогу порівнювати різні зразки. Внаслідок нерівномірного розподілу інфекції на насінні необхідні зразки певного розміру, змив з яких проводиться один або кілька разів. Промивні води об'єднують та аналізують під мікроскопом на наявність певних спор грибів. Якщо число спор невелике, суспензія може бути сконцентрована центрифугуванням або фільтруванням. Визначають число спор на одиницю маси насіння. Можливий прямий підрахунок теліоспор таких поверхневих насінневих патогенів, як *Ustilago spp.* на насінні зернових культур. Життєздатність спор грибів можна перевірити зараженням рослини-господаря або прижиттєвим фарбуванням. Для фарбування спори поміщають в пробірки, що містять 1 мл дистильованої води, та інкубують протягом 48 год за температури +30 °C. Потім в пробірки додають 1 мл 1-відсоткового розчину хлористого тетразолію та інкубують в темряві впродовж 48 год. Пофарбовані в такий спосіб спори життєздатні.

Певна кількість суспензії, отриманої зі змивів з насіння, може бути нанесена на агарове середовище, що містить бенгальський рожевий. Культивування на середовищах дає змогу ідентифікувати та визначити життєздатність пропагул грибів зі змивів.

2.3. Метод відбитків

Науковий метод відбитків застосовують замість центрифугування для визначення поверхонь заспорованості насіння зернових культур сажковими грибами.

Відбір проб

З насіння основної культури відраховують 10 насінин.

Проведення аналізу

Кожну насінину обгортають відрізком прозорої клейкої стрічки розміром 1 см², щільно притискаючи його по всій поверхні насінини. Потім за допомогою пінцета стрічку відклеюють і поміщають на предметному склі під мікроскопом для ідентифікації патогену та підрахунку спор. Підрахунок спор проводять в 10 полях зору мікроскопа в частинах відрізка стрічки, які стикалися з насіниною, і встановлюють середнє арифметичне кількості спор в одному полі зору мікроскопа.

Для пшениці та ячменю за допомогою окуляр-лінійки під мікроскопом за одноразового збільшення об'єктива вимірюють довжину та ширину насінини з точністю до 0,1 мм.

На підставі даних вимірювання довжини та ширини визначають площу поверхні насінини.

Для насіння інших зернових культур площу поверхні вимірюють накладенням відбитка на міліметровий папір або за допомогою окулярної сітки мікроскопа.

Наукова обробка результатів

Кількість спор на площі відбитка насінини (X_3) обчислюють за формулою

$$X_3 = \frac{N \cdot S_1}{S} \quad (3),$$

де N – середня арифметична кількість спор у полі зору мікроскопа;

S – площа зору мікроскопа, мм²;

S_1 – площа поверхні насінини, мм².

Приклад. Площа поверхні насіння пшениці за довжини 6 мм та ширини 3,5 мм дорівнює 57,7 мм². Якщо в одному полі зору мікроскопа МБС-9 за 42-кратного збільшення налічується в середньому 10 спор, то кількість їх на одній насініні становить:

$$X_3 = \frac{10 \cdot 57,7}{3,2} = 180 \text{ шт.}$$

Примітка. За паспортними даними площа зору мікроскопа МБС-9 за 42-кратного збільшення дорівнює 3,2 мм².

Середню арифметичну кількість спор, що припадає на одну насініну (Y), обчислюють за формулою

$$Y = \frac{\Sigma X_3}{10} \quad (4),$$

де ΣX_3 – сума кількості спор, виявлених на всіх обстежених насінінах;

10 – кількість дослідженого насіння, шт.

2.4. Метод аналізу зародків (ембріонів)

Вказаний науковий метод застосовують для виявлення міцелію летючої сажки (*Ustilago sp.*) в ембріонах насіння пшениці та ячменю, відокремлених від ендосперму.

Відбір проб

Для аналізу використовують насіння основної культури, виділене з наважки масою 100 г для пшениці та 120 г для ячменя.

Проведення аналізу

Перед відділенням зародків (ембріонів) насіння ячменю для відділення плівок поміщають на 40 хв у 50-відсотковий розчин сірчаної кислоти (концентровану хімічно чисту кислоту розбавляють вдвічі, наливаючи кислоту у воду).

Потім насіння ретельно перемішують, промивають проточною водою, а залишки плівок відтирають на решеті капроною щіткою.

Ембріони насіння пшениці та ячменю відокремлюють від ендосперму двома способами.

Перший спосіб. Насіння замочують у скляному або емальованому посуді в 1 дм³ гарячого свіжоприготованого розчину лугу (KOH або NaOH, 100 г на 1 дм³ води), в якому розчинений аніліновий синій барвник для бавовняних тканин у кількості 1 г на 1 дм³ лугу, і залишають в термостаті за температури +24 °C на 12–24 год. Вміст зрідка перемішують скляною паличкою; при цьому зародки відокремлюються у 80–90% насіння. В розчин лугу замість анілінового синього барвника можна додавати тріпановий синій «для мікро» в такій самій концентрації. Потім вміст із посуду пропускають через лабораторні решета з діаметром отворів 5, 3 і 1 мм і промивають проточною водою. Зародки осідають на останньому решеті з діаметром отворів 1 мм. Пофарбовані зародки, що відокремилися, переносять у колбу місткістю 250 см³ із 20-відсотковим розчином лугу (200 г на 1 дм³ води), взятим у кількості 200 см³, і кип'ятять впродовж 10–15 хв. Потім зародки переносять у ситечко, ретельно промивають проточною водою, переносять у колбу з 50-відсотковою молочною кислотою і знову кип'ятять протягом 1 хвилини.

Другий спосіб. Насіння поміщають в емальований або скляний посуд, заливають 3-відсотковим розчином лугу та кип'ятять приблизно 1 год до повного відділення зародків від ендосперму. Потім вміст з посуду пропускають через набір лабораторних решет із діаметром отворів 5, 3 і 1 мм з наступним промиванням їх проточною водою. Зародки, що залишилися на останньому решеті, переносять в колбу місткістю 250 см³ і кип'ятять протягом 40 хв у 15–20%-му розчині лугу, взятому в кількості 200 см³, після чого їх ретельно відмивають від лугу. Відмиті зародки поміщають у скляний бюкс або колбу, де наливо невелику кількість розчину анілінового синього або тріпанового синього барвника в концентрації 0,1%, доводять до кипіння на електроплитці або спиртівці та кип'ятять протягом 10–20 хвилин. Під час роботи з

хімікатами слід дотримуватися запобіжних заходів. Втрата зародків після всіх операцій не повинна перевищувати 20%. Зародки можна зберігати в 50%-му водному розчині гліцерину. Після кип'ятіння кожен зародок переглядають під мікроскопом або біокулярною лупою за 12–15-кратного збільшення. В полі зору має бути один зародок. Покривним склом зародок накривати не слід.

Зародки розташовують в рядки, окреслені восковим олівцем, за допомогою препарувальних голок або невеликого скальпеля і переглядають під мікроскопом на предметному склі або в чашках Петрі. Зародки необхідно переглядати насамперед з боку зародкової бруньки, корінців і колеоптилю, де може розташовуватися міцелій, і з боку щитка. Грибниця сажки за малого збільшення мікроскопа являє собою грудочки поплутаних гіфів міцелію. Гіфи пофарбовані в синьо-блакитний колір, мають товщину 3 мкм. Трапляються рідкісні випадки, коли в тканині щитка є також інші гриби, крім сажки, але вони мають відмінну будову і добре помітні.

Наукова обробка результатів

Підраховують всі інфіковані зародки незалежно від місця локалізації міцелію в органах ембріона та обчислюють їх уміст у відсотках до числа переглянутих зародків. Наприклад, всього проаналізовано 2000 зародків, з них уражених виявилось 10; відсоток ураження становить 0,5.

У науковій публікації Андросової В. М. [5] подано такі аспекти проведення лабораторних аналізів:

методи аналізу насіння пшениці та ячменю на летючу сажку, рекомендовані контрольно-насінневим лабораторіям, полягають у виявленні міцелію гриба в зародку насінини. З цією метою зародки насіння відокремлюють від ендосперму з подальшим фарбуванням в них міцелію патогена. У методі, рекомендованому Міжнародною асоціацією з випробування насіння, міцелій гриба в тканині зародка виявляють способом кип'ятіння в лактофенолі. За літературними джерелами, отримав визнання метод Симондса, Поппі та ін. [14]. Фарбування зародків за цим методом проводять 1%-м розчином анілінового синього барвника в 40–45%-й оцтовій кислоті. Обидві модифікації передбачають зберігання (не більше ніж 2 дні) та перегляд зародків, поміщених у краплі лактофенолу або 40–45%-ї оцтової кислоти, без покривного скла під мікроскопом за малого збільшення. Зародок повинен бути повністю в полі зору.

Для завчасного виявлення інфекції насіння користуються ДСТУ 4138-2002. У ньому докладно описано простий спосіб аналізу зародків для виявлення міцелію летючої сажки (*Ustilago sp.*). Насіння ячменю звільняють від плівок 50%-м розчином сірчаної кислоти, а потім відділяють зародки від насіння та одночасно фарбують їх кип'ятінням у розчині лугу з барвником. Передбачено і другий спосіб з окремою операцією фарбування зародків після їх відділення від насіння, що дає змогу економніше витратити барвник. Як барвники рекомендовано аніліновий синій для бавовняних тканин і тріпановий синій «для мікро».

Запропоновані наукові методи варто було б доповнити та уточнити.

Насамперед бажано розширити асортимент барвників. Варто підібрати менш шкідливе заключне середовище. Так, оцтова кислота, яка використовується в одній з модифікацій як заключна рідина, спричиняє сильне подразнення слизових оболонок. До складу лактофенолу входить фенол, що є отрутою. Обидві рідини у процесі вивчення зародків під мікроскопом розташовані в безпосередній близькості від обличчя оператора.

Зародок ячменю чи пшениці має велику товщину. Тому єдина вимога, яку ставлять в методиках до мікроскопа – мале збільшення, що дає змогу тримати весь зародок у полі зору, здається сумнівною.

Досвід науково-практичних дослідів показує, що ці недоліки можна усунути. Аналізуючи різні партії насіння ячменю на летючу сажку, ми використовували 1%-ві розчини в 40–45%-й оцтовій кислоті таких барвників, як аніліновий синій для лабораторних досліджень, анілінові барвники (синій, червоний, коричневий) для домашнього фарбування вовни, барвники універсальний коричневий і універсальний бордо для домашнього фарбування вовни, а також генціановий фіолетовий. Пофарбовані зародки поміщали в краплі 40–45%-ї оцтової кислоти та суміші гліцерину з водою (1:1). Одні й ті самі препарати зародків аналізували під мікроскопом МБР-1 та МБС-1.

Результати показали, що як заключне середовище можна використовувати безпечну суміш води та гліцерину. Поміщення зародків в цю суміш не змінювало оптичних властивостей аналізованих об'єктів та їхнє забарвлення. Більш того, такий препарат може зберігатися без змін у чашці Петрі не менше ніж 2 тижні та використовуватися, наприклад, у навчальному процесі.

Виявлено можливість застосування інших барвників. Так, аніліновий синій для домашнього фарбування вовни та генціановий фіолетовий можуть бути використані для диференціації міцелію гриба в тканині зародка. У разі використання генціанового фіолетового для видалення надлишку барвника зародки не кип'ятять після фарбування в оцтовій кислоті, а просто витримують у ній протягом 20–30 с. Аніліновий коричневий не фарбує міцелій. Аніліновий червоний, коричневий і бордо для домашнього фарбування вовни забарвлюють міцелій слабо.

За допомогою мікроскопа МБС-1 в таких самих препаратах виявлено на 9,5% більше зародків ячменю, що містять міцелій гриба, ніж за використання мікроскопа МБР-1. Виявилося, що аналіз однієї партії насіння за допомогою мікроскопа МБС-1 можна провести на 3 год швидше, як порівняти із застосуванням мікроскопа МБР-1.

Отже, для аналізу забарвленого та укладеного в водно-гліцеринову краплю зародка необхідно використовувати стереоскопічний мікроскоп типу МБС. Використання інших типів мікроскопів малого збільшення (МБР, МБІ тощо) може призвести до помилкового результату.

У наступній науковій публікації той самий автор зазначає, що метою роботи було усунення деяких недоліків методів аналізу насіння пшениці та ячменю на летючу сажку, а також порівняння результатів аналізу, отриманих за допомогою різних типів мікроскопів.

Для роботи використовували насіння озимого ячменю, ураженого летючою сажкою. Міцелій гриба диференціювали від тканини зародка за методом Кривченка. Крім анілінового синього, рекомендованого для фарбування гриба, використовували низку барвників. Пофарбовані зародки поміщали в краплі 40–45%-ї оцтової кислоти та суміші гліцерину з водою у співвідношенні 1:1. Ті самі препарати зародків досліджували під мікроскопами МБР-1 і МБС-1.

Для визначення ураження зародків насіння ячменю чи пшениці летючою сажкою необхідно використовувати стереоскопічні мікроскопи типу МБС. Використання для аналізу інших типів мікроскопів малого збільшення (МБР, МБІ та ін.) може призвести до помилкового результату. Повноцінними замінниками рекомендованого анілінового синього барвника для лабораторних досліджень можуть бути генціановий фіолетовий та аніліновий синій для домашнього фарбування вовни. Як заключне середовище для пофарбованого зародка на

предметному склі краще використовувати суміш гліцерину та води у співвідношенні 1:1 [5].

Зараженість насіння пшениці можна оцінювати проведенням декількох варіантів фітосанітарної експертизи: 1 – відмивання у воді; 2 – те саме плюс знезараження (стандартний метод фітоекспертизи); 3 – тривале відмивання у воді та стерилізація в AgNO_3 візуально здорового насіння (ВЗН); 4 – те саме, але чорнозародкового (ЧЗ); 5 – передпосівне протруювання ВЗН бенлатом (50% з.п., 2 кг/т). Енергію проростання та схожість обчислювати на 4-й і 7-й день, зараженість – на 15-й (для максимального прояву).

Тривале замочування та знезараження насіння дає змогу істотно знизити його зараженість, але уповільнює відростання листя, що вимірюється протягом 2 тижнів. На фоні високої прихованої зараженості проявляється вплив мікротравмування – за кількістю набряклих, несхожих зерен, без грибної або бактеріальної інфекції ($R = 0,858$, достовірно за $P 01$). За результатами післязбиральної фітосанітарної експертизи сумарна 95,0–97,5%-а прихована зараженість ВЗН (зокрема грибами *Fusarium* до 11–15%) істотно не впливає на посівні якості та може розглядатися як норма, до повторної (передпосівної) експертизи, яка враховує і вплив цвілі на зберігання.

2.5. Біологічний метод

Цей науковий метод застосовують для виявлення зовнішньої та внутрішньої зараженості насіння хворобами. Його засновано на стимуляції розвитку й росту мікроорганізмів у зараженому насінні.

Зараженість насіння визначають, пророщуючи їх у вологій камері, на поживних середовищах, піску або в рулонах фільтрувального паперу.

2.5.1. Аналіз насіння у вологій камері

За пророщування насіння у вологій камері захворювання, спричинені бактеріями, виявляють за розм'якшенням та ослизненням тканин насіння. Захворювання, які провокують гриби на пророслому і непророслому насінні, проявляються у вигляді плям різної форми й забарвлення, нальоту грибниці, пікнід, потворності, деформації або відмирання частин проростків.

Для контролю правильності ідентифікації патогенів застосовують мікроскопіювання.

Відбір проб

Із середньої проби, призначеної для аналізу насіння на зараженість хворобами, виділяють наважку. З насіння основної культури відбирають чотири робочі проби по 50 або 100 насінин залежно від виду аналізованих культур.

Підготовка до аналізу

Для пророщування насіння у вологій камері застосовують стерильні сухі чашки Петрі, Коха або склянки, накриті склом. На дно чашок (склянок) поміщають марлю в три шари або фільтрувальний папір у два шари, чи фільтрувальний папір, покладений на гігроскопічну вату шаром завтовшки не більше ніж 0,25 см.

Марлю, комбінований субстрат чи фільтрувальний папір в чашках Петрі або Коха зволожують за допомогою піпетки, злегка відкриваючи при цьому з одного краю кришку чашки. Зволоження вважають нормальним, якщо під час нахилу чашки з марлевих кружечків або фільтрувального паперу стікає кілька крапель води.

Насінини розкладають на ложе за допомогою пінцета на відстані 1–2 см одна від одної залежно від їхнього розміру.

Закриті чашки Петрі, Коха або склянки із закладеним у них насінням поміщають у термостат для пророщування.

Раз на місяць термостати миють мильним розчином, витирають насухо та обробляють 70% спиртом (Regional Standards for Phytosanitary Measures. EPPO Standard PM 7/84 (1) Basic Requirements for Quality Management in Plant Pest Diagnosis Laboratories, 2007).

Чашки Петрі, марля, фільтрувальний папір, вата, піпетки, які застосовують для аналізу, повинні бути стерильними. Скло, на якому виділяють наважку та відраховують насіння, совки, чашки терезів, ростильні та інші предмети дезінфікують спиртом. Режим стерилізації в сухожаровій шафі за температури 170 °C протягом 1 год (ISO 7218:2007 Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations).

Металеві предмети (пінцети, препарувальні голки та інше обладнання) стерилізують над полум'ям спиртового або газового пальника в процесі роботи. Воду стерилізують в автоклаві протягом 20 хв за температури $+121 \pm 3$ °C під тиском 1 атм.

Допускається використання свіжекип'яченої води. Її кип'ятять у хімічних колбах, закритих ватними пробками, протягом 30 хв від моменту закипання.

Проведення аналізу

Перегляд насіння пшениці, жита, ячменю, кукурудзи, льону, сої, ефіроолійних культур, соняшнику, гороху, овочевої квасолі, моркви проводять в терміни, встановлені цим стандартом; перегляд насіння інших культур проводять в терміни, встановлені для визначення схожості за ДСТУ 4138-2002. Види хвороб насіння, які виявляються за пророщування у вологій камері, подано в таблиці 1.

Таблиця 1

Хвороби насіння, які виявляються за пророщування у вологій камері

Найменування культури	Хвороби насіння
1. Пшениця та ячмінь	Фузаріоз, темно-бура плямистість, смугаста плямистість, сітчаста плямистість, альтернаріоз, септоріоз, пліснявіння
2. Жито	Фузаріоз, гельмінтоспоріоз, септоріоз
3. Овес	Фузаріоз, червоно-бура плямистість
4. Кукурудза	Фузаріоз, диплодіоз, сіра гниль
5. Соя	Фузаріоз, бактеріоз, біла гниль, аскохітоз, церкоспороз, пероноспороз
6. Рис	Гельмінтоспоріоз, пірикуляріоз, фузаріоз, альтернаріоз
7. Горох	Аскохітоз, біла та сіра гнилі, бактеріоз
8. Квасоля	Антракноз, біла та сіра гнилі, аскохітоз, бактеріоз
9. Соняшник	Біла та сіра гнилі, несправжня борошниста роса, септоріоз
10. Льон	Фузаріоз, антракноз, бактеріоз, крапчастість, пліснявіння
11. Морква	Фомоз
12. Коріандр	Бактеріоз, фузаріоз, фомоз, септоріоз
13. Фенхель	Бактеріоз
14. Шавлія	Бактеріоз

Для стимулювання утворення конідієносців і конідій та ідентифікації патогенів деяких грибів, наприклад *Drechslera graminea* (смугаста плямистість), *Drechslera teres* (сітчаста плямистість), *Fusarium nivale* (снігова пліснява) тощо, необхідними є 12 год чергування світла та темряви за пророщування насіння в чашках Петрі, Коха або склянках із фільтрувальним папером (освітленість 750–1250 люкс).

Згідно з дослідженнями, проведеними Войтовою Л. Р. [6], патогенні мікроорганізми на зернівках знижують якість посівного матеріалу, тому разом із визначенням схожості та інших показників необхідно перевіряти, чи не заражене насіння збудниками хвороб. Натепер враховують наявність інфекції сажок, ріжок і пліснявих грибів (під час визначення схожості). Зараженість насіння пліснявими грибами краще визначати біологічним методом за пророщування на живильних середовищах, на вологому фільтрувальному папері або піску. Найзручніше

аналізувати зерно в керамічних ростильнях. У них з боків кладуть дерев'яні планки заввишки 1,5 см, на які поміщають скло, покрите фільтрувальним папером. Все це необхідно простерилізувати в сушильній шафі протягом 1 год 30 хв за температури +160 °С. Перед сівбою в ростильні наливають кип'ячену воду, кінці паперу повинні зануритися в неї на 1 см. Для аналізу одного зразка беруть 400 насінин, на кожне скло розкладають по 50 штук. Пророщують зерно в термостаті за температури +18–20 °С, аналізують на 7-й день.

На зараженому матеріалі з'являються різнокольорові нальоти, що складаються із грибниці та спороношення збудника. Для багатьох грибів, які спричиняють пліснявіння, характер і забарвлення нальоту настільки типові, що, маючи певні навички, вдається визначити рід збудника без мікроскопічного дослідження. У сумнівних випадках наліт, що складається з органів спороношення, аналізують. Необхідно також зважати на проростки з виразками, штрихами і загнілими зародковими корінцями. Окремо враховують всі зерна, уражені кожним видом гриба, а потім, підсумовуючи результати, встановлюють загальний відсоток зараження.

Дуже небезпечними захворюваннями є фузаріоз і гельмінтоспоріоз. Якщо у зразку насіння є збудники цих хвороб, необхідно дати оцінку типу ураження за балами й обчислити відсоток розвитку хвороби:

1 бал – насіння проростає нормально, проростки та корінці без змін;

2 бали – насіння проростає нормально, відзначається побуріння колеоптиле;

3 бали – ненормальні проростки із загнилою підставою стеблинки, гниллю зародкових корінців;

4 бали – насіння не проростає. Відповідний бал часто відображає і глибину ураження зернівки міцелієм гриба.

Ключ для визначення хвороб насіння:

1 (9). На насінні чорний, брудно-сірий, зелений, жовто-зелений наліт або чорні дернинки.

2 (6). На насінні чорний, брудно-сірий наліт або чорні подушечки.

3 (4). Наліт чорний. На проростках побуріння колеоптиле, гнилі зародкових корінців, ненормальне проростання. Гельмінтоспоріоз.

Конідії великі, веретеноподібні, темно-оливкові, з 2–13 поперечними перегородками. Уражуються пшениця, ячмінь, жито, овес. «Чорний зародок» –

Helminthosporium sativum (*Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur; *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker).

Конідії великі, циліндричні, світло-оливкові, з 3–6 поперечними перегородками. Уражується ячмінь.

Смугаста плямистість – *Helminthosporium gramineum* (*Pyrenophora graminea*) Ito & Kuribayashi; *Drechslera graminea* (Rabenh.) Shoemaker).

4 (5). Наліт брудно-сірий, повстятий. Конідії в ланцюжках з 1–5 поперечними та 1–3 поздовжніми перегородками. Альтернаріоз – *Alternaria tenuis*.

5 (4). На насінні чорно-бурі подушечки. Конідії одноклітинні, кулясті, з шипувато-бородавчастою оболонкою. Епікоккоз – *Episcocum* sp. (цятковість насіння пшениці).

6 (1). На насінні зелений або жовто-зелений наліт.

7 (8). Наліт зелено-сизий. Конідієносії вгорі утворюють характерний пензлик, який несе ланцюжки одноклітинних, круглих або овальних конідій. Пеніцильоз – *Penicillium glaucum*.

8 (9). Наліт на насінинах пухкий, жовто-зелений. Спороношення у вигляді головок. Конідії одноклітинні, кулясті в ланцюжках. Жовте пліснявіння – *Aspergillus glaucus*.

9 (1). На насінні білий, сірий, рожевий наліт.

10 (11). Наліт рівний, ніжний пухнастий, білий, білий із рожевим, карміновим або малиновим відтінками. Макроконідії веретеноподібно-серпоподібні з 3–5 поперечними перегородками, мікроконідії одноклітинні. На проростках – гниль зародкових корінців, побуріння колеоптиле, ненормальне проростання. Розвивається на насінинах злаків. Фузаріоз – *Fusarium graminearum*, *F. avenaceum* та ін.

11 (12). Наліт рожевий. Конідії грушоподібні, безбарвні, двоклітинні. Рожева цвіль – *Trichothecium roseum*.

12 (13). Наліт білий, кущикоподібний, гриб із зернівки переходить на корінці та проростки, спричиняючи їхнє загнивання. Конідії циліндричні з 2–7 поперечними перегородками. Уражується тільки овес. Гельмінтоспоріоз – *Helminthosporium avenae* (*Drechslera avenae* (Eidam) Scharif.); *Pyrenophora avenae* (S. Ito & Kurib.).

13 (12). Наліт білий або сірий павутинний із чорними цятками – спорангіями. Спорангії кулясті, заповнені овальними одноклітинними або округлими спорами. *Mucor sp.* і *Rhizopus nigricans*.

Войтова Л. Р. запропонувала шкалу балової оцінки насіння та проростків, уражених збудниками кореневої гнилі та пліснявіння, яка дає змогу визначити необхідність та ефективність протруювання. Для цього насіння зернових культур пророщують у рулонах, без поверхневої дезінфекції. Ступінь зараженості насіння і проростків збудниками кореневих гнилей, пліснявіння (в балах):

0 – проростки здорові;

1 – на зернівках наліт, проростки без видимих змін;

2 – в підставі зародкових корінців побуріння (не більше ніж 1/4 довжини), можливе побуріння колеоптилю або поява штрихів на стеблинці та першій листовій пластинці, проростки розвиваються нормально;

3 – побуріння зародкових корінців більш ніж на 1/4 довжини, проростки відстають у рості або деформовані, можливе ураження й інших органів проростка;

4 – насіння не сходить або гине протягом 7 днів.

Дослідженнями науковців [4] встановлено, що температура в інтервалі від +18 до +22 °C не впливає на енергію проростання та схожість насіння пшениці озимої та ячменю. Водночас зараженість насіння найбільш повно проявлялася за температури +22 °C. Так, у пшениці озимої Миронівська 808 під час пророщування за +18 °C загальна кількість зараженого насіння та проростків (сума балів 14-2 + 3-1-4 за шкалою, запропонованою Л. Р. Войтовою) становила 49%. Число уражених проростків (сума балів 2 + 3 + 4) – 39%, за +22 °C ті самі показники збільшувалися відповідно до 64 і 54%. У зв'язку з цим вченими запропоновано показник «ефективності протруювання», який є сумою балів 0 + 1 + 2 + 3 та об'єднує здорове насіння і те, життєздатність якого повністю відновиться після протруювання відповідним препаратом. У першому випадку цей показник становив 88%, у другому – 90%. За температури +22 °C не тільки збільшувалася кількість ураженого насіння та проростків, але й хвороби проявлялися інтенсивніше (зменшувалася кількість проростків, ураженість яких оцінювали 1 балом, і водночас збільшувалася чисельність у групі з ураженням, що оцінювали 2 балами). На цьому добу за +22 °C за сформованими конідіями можна ідентифікувати *Bipolaris sorokiniana*. Гриби з роду *Fusarium* – за характерним міцелієм і рідше –

макроконідіями. За +18 °C визначення патогенів ускладнювалося. Надалі рулони рекомендовано залишити розгорнутими ще на чотири–п'ять діб у слабозволоженому стані за кімнатної температури та освітлення, що сприяє яскравому спороношенню й точнішому діагностуванню.

Науковими дослідженнями [13] встановлено, що септоріоз зернових культур інтенсивно розвивається в роки надмірного зволоження. Хвороба уражує всі надземні органи рослин, зумовлюючи зменшення асиміляційної поверхні, відставання в рості, передчасне відмирання листя, зменшення довжини та озерненості колоса, щуплість зерна. За ураження колоса маса 1000 зерен може знижуватися на 16–32%, втрати врожаю зерна досягають 8,0–19,0%.

Уражене септоріозом зерно не має зовнішніх ознак ураження, а достовірно діагностувати наявність грибів роду *Septoria fr.* можна лише за допомогою спеціальних методів. Виявлення інфекції в насіннєвому матеріалі особливо важливе через можливість системного ураження рослин і збереження інфекції протягом 2-х років. Крім необхідності проведення передпосівного фітосанітарного контролю, оцінювання ураженості насіння пшениці озимої септоріозом має велике значення і для випробування ефективності протруйників. Відомі методи виявлення *Septoria spp.* на зернівках полягають у пророщуванні їх на фільтрувальному папері в чашках Петрі або в рулонах з подальшим оглядом проростків за допомогою лупи. Визначення наявності насіннєвої інфекції *Septoria spp.* за допомогою цих методів нині не дає змоги отримати достовірні результати через додаткове інфікування насіння грибами інших родів (*Fusarium* Link або *Alternaria* Nees).

Характерною особливістю росту грибів роду *Septoria in vitro* є світлозалежність. За даними дослідників [12], можна стимулювати розвиток генеративних структур збудників септоріозу способом підбору оптимального режиму світлової дії. Значне збільшення споруляції гриба *Septoria nodorum* Berk спостерігають за дії УФ-випромінювання [4]. Однак оптимальні для спороношення режими культивування та освітлення грибів роду *Septoria* не встановлено.

Сучасні біохімічні та молекулярно-генетичні методи виявлення *Septoria spp.* у тканинах рослин (ІФА, PCR) дають змогу отримати достовірні результати в короткі терміни [16]. Однак вони вимагають складного устаткування та спеціальної

підготовки персоналу, що разом із високою вартістю аналізів робить їх непридатними для масового використання в сільському господарстві.

Отже, виникає необхідність оптимізації умов культивування гриба-збудника септоріозу колоса з метою отримання спороношення для подальшого використання отриманих результатів у процесі вдосконалення технології фітопатологічної експертизи насіннєвого матеріалу зернових культур, що дає змогу швидко і точно визначати наявність і відсотковий вміст насіння, яке містять *Septoria spp.*

Підібрано оптимальне поживне середовище – сусло-агар, що дає змогу отримати рясне спороношення гриба *Septoria nodorum*. Визначено оптимальну температуру (+22 °C) для росту та розвитку мікроміцета *in vitro*. Встановлено, що освітлення лампами Philips 20W/12RS або Philips LT 40W/05 дає змогу індукувати спороутворення досліджуваних грибів. Отримані результати використано для вдосконалення методу фітопатологічної експертизи насіння зернових культур, яка передбачає використання ламп Philips TL 40W/05 (або Philips TL 20W/05 × 2 шт.) або Philips TL 20W/12RS для стимуляції спороношення грибів роду септорія, а також пригнічення росту та розвитку інших патогенів і сапрофітів.

Із середньої проби зерна з партії, що аналізується, відбирають 100 зернівок і проводять поверхневу стерилізацію способом занурення у свіжоприготований 0,5%-й розчин KMnO_4 або 70%-й етиловий спирт на 1–2 хвилини, з подальшим просушуванням між шарами фільтрувального паперу.

З фільтрувального паперу вирізають диски діаметром 90 мм, стерилізують у сухожаровій шафі загорнутими в пергаментний папір, після чого укладають в стерильні чашки Петрі в 3 шари, зволожуючи водопровідною водою, по 5–7 мл/чашку. Потім насіння розкладають у чашки Петрі на поверхню фільтрувального паперу по 10 штук у чашку. Закриті чашки, не перевертаючи, поміщають для інкубації під світлоустановку в один ярус. На інфікованих зернівках утворюються пікніди *Septoria spp.* – напівзанурені, кулясті, темно-коричневі, 65–170 мкм в діаметрі, стінки тонкі, продихи округлі, оточені шаром темніших клітин (рис. 5).

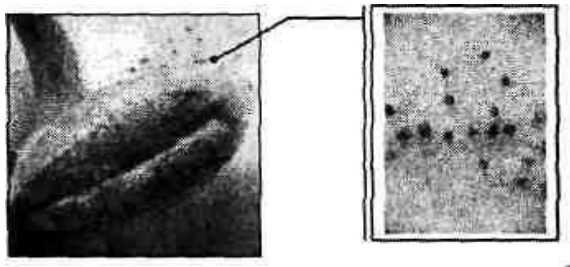


Рис. 5. Інфіковані зернівки: утворення пікнід *Septoria spp.* на фільтрувальному папері

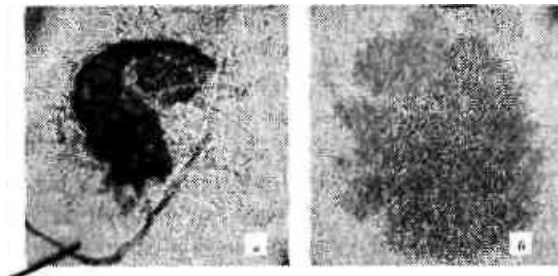


Рис. 6. Мікроскопіювання мікропрепарату «Розчавлена крапля»

Пікніди можуть утворюватися поодинокі або групами, безпосередньо на зернівці чи на фільтрувальному папері. Облік насінневої інфекції проводять, переглядаючи насіння в чашках під стереомікроскопом на сьому добу від початку інкубації.

Враховують кількість насінин із пікнідами в кожній чашці, після чого обчислюють відсоток вмісту інфікованих зернівок в аналізованому зразку. За потреби таксономічну приналежність патогену уточнюють, додатково виділяючи окремі пікніди способом приготування та мікроскопіювання мікропрепарату «розчавлена крапля». Конідії з 1–3 перегородками, циліндричні або паличкоподібні, прямі чи зігнуті, на кінцях закруглені $13\text{--}39 \times 2\text{--}3$ мкм, безбарвні.

2.5.2. Аналіз насіння на поживних середовищах

Відбір проб

Із середньої проби, призначеної для визначення зараженості, виділяють наважку насіння основної культури, з якої відбирають чотири робочі проби по 50 насінин у кожній і поміщають їх у стерильний посуд із поживним середовищем.

Підготовка до аналізу

Приготування картопляного агару

200 г вимитої, очищеної, нарізаної скибочками картоплі заливають 1000 см^3 води і кип'ятять протягом 40 хв, потім рідину фільтрують. У відфільтровану рідину доливають воду до 1000 см^3 , додають 20 г агару та підігрівають до його повного розчинення. Після розчинення агару розчин фільтрують у гарячому стані через кілька шарів марлі з ватною прокладкою і стерилізують під тиском $0,09807\text{ МПа}$ (1 атм) протягом 30 хв або плинною парою двічі по 1 год через добу. Після стерилізації в поживне середовище додають стерильний 50%-й розчин лимонної кислоти з

розрахунку $0,1-0,05 \text{ см}^3$ (одна крапля) на 10 см^3 або концентровану молочну кислоту (4 см^3 кислоти на 1000 см^3 середовища); рідину розливають по чашках.

Приготування картопляно-глюкозного агару

На 1 дм^3 приготовленого агару перед стерилізацією додають 20–30 г глюкози, а після стерилізації – лимонну або молочну кислоту.

Приготування середовища з сухого агару Чапека

На 1 дм^3 беруть 45–50 г сухого агару Чапека та стерилізують під тиском $0,09807 \text{ МПа}$ (1 атм) протягом 30 хв.

Стерилізація поживних середовищ

Стерилізацію поживних середовищ проводять в автоклаві під тиском, без тиску (плинною парою).

Поживні середовища без глюкози стерилізують під тиском $0,09807 \text{ МПа}$ (1 атм) протягом 30 хв, поживні середовища з глюкозою стерилізують під тиском $0,04904 \text{ МПа}$ (0,5 атм) протягом 25 хв.

Стерилізацію поживних середовищ текучою парою проводять у два прийоми по 1 год через добу. У перерві між першим і другим прийомами рідини, що стерилізуються, тримають за температури $+25-30 \text{ }^\circ\text{C}$.

Проведення аналізу

У стерильні чашки Петрі діаметром 9,5–10 см наливають $20-25 \text{ см}^3$ середовища простерилізованого агару.

Розливання поживних середовищ в чашки та закладання насіння проводять у бактеріологічній камері (стерильному боксі). Розкладання насіння здійснюють на застиглому поживному середовищі пінцетом, періодично стерилізуючи його методом фламбування.

Перед стерилізацією зразок промивають під струменем водопровідної води протягом 15–20 хв [9] і дезінфікують 1%-м розчином марганцевокислого калію або 0,1%-м розчином азотнокислого срібла, чи 96%-м спиртом протягом 1–2 хв. Потім насіння промивають у стерильній або кип'яченій воді і просушують між листами стерильного фільтрувального паперу. Насіння поміщають у чашки Петрі по 10–25 шт. залежно від культури, ставлять його для пророщування (у термостат за температури $+22-25 \text{ }^\circ\text{C}$).

Для контролю правильності визначення хвороб у процесі перегляду насіння невелику частину колонії, що утворилася, досліджують у краплі води під мікроскопом.

2.5.3. Аналіз насіння в рулонах фільтрувального паперу

Для пророщування насіння використовують два шари зволоженого до повної вологомісткості фільтрувального паперу.

Якщо аналізують чотири робочих проби по 100 насінин, то розмір смужок фільтрувального паперу для кожної проби повинен бути 10×110 см (± 2 см), якщо аналізують чотири робочих проби по 50 насінин, то 10×55 см (± 2 см).

Насіння розкладають в одну лінію з інтервалом 1–2 см і на відстані 2–3 см від верхнього й бічних країв паперу зародками вниз (округле насіння – без орієнтації зародка). Розкладене на папері насіння накривають такою самою смужкою зволоженого фільтрувального паперу, поверх якого накладають смужку поліетилену, і згортають в рулон. Рулони розміщують вертикально в посудини і поміщають в термостат за температури +22–25 °С.

Вирощуючи насіння, не можна допускати підсихання рулонів. Воду в піддоні термостата слід міняти кожні 3–5 діб.

Проведення аналізу

Насіння розкладають на двох шарах зволоженого фільтрувального паперу розміром 10×115 см (± 2 см), якщо аналізують 100 насінин, та 10×55 см (± 2 см) – якщо аналізують 50 насінин, в одну лінію з інтервалом 1 см на відстані 2–3 см від верхнього і бічних країв паперу зародками вниз, крім насіння округлої форми, яке не має орієнтації зародка. Насіння накривають такою самою смужкою зволоженого фільтрувального паперу, поверх якої накладають смужку поліетилену, після чого всі смуги згортають в рулон і поміщають його у вертикальному положенні в ростильню, яку ставлять в термостат за температури +20 °С на 7–8 днів. Під час пророщування насіння в рулонах необхідно стежити за станом їхнього зволоження, тобто за наявністю води в піддоні термостата, яку слід міняти через кожні 3–5 діб.

Перший перегляд проводять одночасно з визначенням енергії проростання на 3–4 день, другий – одночасно з визначенням схожості на 7–8 день. Після закінчення зазначеного терміну на насінні з'являються характерні ознаки хвороб [9].

Для поліпшення повітрообміну можна накривати насіння наполовину його величини вдвічі складеною неширокою смужкою фільтрувального паперу (ширина –

4–5 см у складеному вигляді), ліпше місцем згину. Це забезпечує економію паперу. Для цих самих цілей замінили одну смугу паперу ложа на поліетиленову плівку. Це дало змогу знизити витрати паперу вдвічі та спростити аналіз. У підсумку: на смугу поліетиленової плівки розміром 16×100 см або 10×100 см накладають смужку фільтрувального паперу такого самого розміру та зволожують її. Уздовж стартової лінії, проведеної на відстані 5 см від верхнього краю смуги, розкладають 100 насінин (або 50 для крупнонасіньневих культур) і зверху накривають їх удвічі складеною неширокою смужкою фільтрувального паперу. Потім, притримуючи верхній шар паперу, згортають (легко, без натискання) рулон, який встановлюють нижнім кінцем у посудину з водою, наливою шаром 1,5–2 см.

Наукова обробка результатів

Дані аналізу насіння заносять у робочу картку. Для кожної з чотирьох проб підраховують кількість насіння, зараженого кожною хворобою, і загальну кількість зараженого насіння.

Зараженість насіння (X_4) у відсотках обчислюють за формулою

$$X_4 = \frac{N_1}{n} \cdot 100 \quad (5),$$

де N_1 – сумарна кількість зараженого насіння в чотирьох пробах, шт.;

n – загальна кількість насіння, взятого для аналізу, шт.

Достовірність результатів аналізу обчислюють за формулою

$$\chi^2 = \frac{4n \cdot \left[(A_1^2 + A_2^2 + A_3^2 + A_4^2) - \left(\frac{N_1^2}{4} \right) \right]}{[N_1 \cdot (n - N_1)]} \quad (6),$$

де A_1, A_2, A_3, A_4 – кількість зараженого насіння в кожній з чотирьох проб;

$N_1 = A_1 + A_2 + A_3 + A_4$;

n – загальна кількість насіння, взятого для аналізу, шт.

Аналіз вважають закінченим, якщо χ^2 менше за 16,27. Якщо χ^2 більше або дорівнює 16,27, то аналіз повторюють до отримання достовірного результату. Якщо кількість зараженого насіння у всіх пробах 5 і менше, перевірку достовірності аналізу не проводять.

Приклад. У чотирьох пробах по 100 насінин знайдено таку кількість зараженого насіння:

$$A_1=0; A_2=10; A_3=1; A_4=11; N_1=0+10+1+11=22;$$

$$n = 4 \cdot 100 = 400;$$

$$\chi^2 = \frac{4 \cdot 400 \cdot [(02 + 102 + 12 + 112) - (\frac{22^2}{4})]}{[22 \cdot (400 - 22)]} = 19,43.$$

Отримане значення 19,43 перевищує 16,27, отже, аналіз потрібно повторити.

Якщо в сумі за всіма пробами зараженого насіння більше, ніж здорового, то у формулу підставляють число здорового насіння по пробах.

«Польова» схожість прямо або побічно залежить від багатьох складників. Важливу роль у створенні дружніх і вирівняних сходів відіграє якість посівного матеріалу, що характеризується сортовими та посівними показниками. Одними з найголовніших посівних якостей насіння є лабораторна схожість та енергія проростання. Якщо проростки не видаляються, і поставлене завдання за їхнім розвитком, то за пророщування насіння на фільтрувальному папері в чашках Петрі проростки часто викривляються, переплітаються, на ложе вільно поширюється інфекція від ураженого насіння. У такому разі важко судити про джерела інфікування насіння, виникають складнощі під час відбору зразків для оцінювання розвитку корінця, гіпокотилі і сім'ядоль. Пророщування ж на піску незручне тим, що виключено можливість спостереження за ростом підземної частини проростка.

Також використовують рулонний метод для пророщування дрібного, плоского і довго проростаючого насіння польових та овочевих культур. Однак зазначена методика придатна здебільшого для пророщування зернових і зернобобових культур, що відрізняються досить великими розмірами та масою насіння, яке до того ж доволі сильно збільшує свій об'єм у процесі набухання, забезпечуючи доступ кисню до насіння між стрічками в рулоні [19].

Основне завдання пророщування насіння в лабораторних умовах – отримання найбільш достовірних відомостей про кількість якісного проростаючого насіння та проростків, а також наближення результатів лабораторного експерименту до польових умов. Під час зіставлення отриманих даних щодо пророщування насіння овочевих і польових культур рекомендованими методами та запропонованим варіантом рулонного методу не виявлено суттєвих відмінностей по енергії

проростання та схожості. За пророщування на піску та ложе з фільтрувального паперу в чашках Петрі показники, що враховуються, були дещо вищими, однак перевищення виявилось незначним – у межах 0,5–5,0% по енергії проростання та 0,5–7,5% по схожості. Варіювання значень по повтореннях найвище у процесі визначення енергії проростання, але вирівняність даних по всіх варіантах значно зростає під час підрахунку схожості, що характерно і для значень показників розвинених проростків у столового буряка. На п'яту добу індекс проростання (енергія проростання) клубочків буряка в умовах обох методів був однаковим, а на десяту – пророщування в рулонах виявилось ефективнішим, оскільки приріст значення індексу в рулонному методі більш ніж у 2 рази вищий, як порівняти з варіантами в ростильнях. Відмінності зумовлені тим, що клубочки в рулоні жорстко закріплені та не виштовхуються на поверхню, водночас за пророщування на піску вони виштовхуються зростаючим гіпокотилем на поверхню ґрунту разом із сім'ядолями, що не вийшли з насінневих оболонок, і пересихають. З цієї причини пророщування на піску не дає достовірних відомостей про продуктивний потенціал клубочка та його поведінку в польових умовах. Під час визначення енергії проростання (3 доби) між порівнюваними методами не виявлено відмінностей по сирій масі надземних органів і кореневої системи у ріпаку та льону. В пізніші терміни (7 діб пророщування) маса надземних органів у рулонах була значно вищою. Сира вага кореневої системи в ріпаку в той самий термін у рулонах виявилася також більшою, що можна порівняти з варіантами в чашках Петрі. Однак швидкість росту проростків в умовах рулонного методу значно вища, ніж в чашках Петрі. Можливо це пов'язано з досить сприятливими умовами пророщування насіння в рулоні.

Отже, результати досліджень свідчать про те, що ріст проростка в рулоні інтенсивніший, ніж за пророщування стандартними методами. Найбільш чітко це простежується у перші 3–7 діб. Так, за обліку енергії проростання в моркви довжина корінця у варіанті рулонного методу перевищувала контроль на 71,6%, у перцю – 131,8%, кропу – 44,4%, льону – 127,2%, ріпаку – на 106,0%. Довжина надземної осі була вищою відповідно на 72,9; 37,0; 104,4; 79,2; 48,3%. До моменту визначення схожості відмінності згладжувалися та становили за довжиною кореневої системи у перцю 131,5%, кропу – 37,4, льону – 70,5, ріпаку – 37,2%, за довжиною надземної осі в моркви – 66,1%, ріпаку – 51,2% на користь рулонного методу. Вибір методу пророщування

насіннєвого матеріалу істотно впливає на швидкість росту та розвитку осьової частини проростка, особливо в перші 3–7 діб. Водночас в умовах рулонного методу спостерігається суттєве перевищення за сирою масою проростка, що формується в пізніші терміни пророщування. Це побічно вказує на ефективніше використання запасів насіння для росту та розвитку проростка за рулонного способу пророщування.

Невелике зниження схожості насіння в умовах рулонного методу компенсується швидким його проростанням, вищим індексом утворення проростків, швидшим ростом і розвитком осьових складових. Доступність методу, а також можливість отримання лінійно вирівняних, з добре розвиненими морфоструктурами проростків дає змогу успішно використовувати метод у біологічній практиці для проведення біометричних, анатомічних та інших досліджень [6].

Методика вивчення умов, що сприяють найповнішому виявленню гельмінтоспоріозного патогенного комплексу в насінні ячменю, складається з таких етапів: перший – насіння дезінфікують 96%-м спиртом протягом 1 хв; другий – у стерильних умовах його розкладають у чашки Петрі на стерильні фільтри, змочені водою, обов'язково борозенкою вгору; третій – перші 24 год інкубацію чашок проводять в темряві за 20–24 °C; четвертий – чашки Петрі переставляють на 48 год під УФ-лампи з піком випромінювання 320–360 нм (для ламп типу ПРК-2, ПРК-4 фотоперіод – 2 год), температура повітря – +20–22 °C; п'ятий – чашки Петрі витримують у темряві за +15 °C протягом 48 год.

Облік проводять на шосту добу, переглядаючи зернівки під мікроскопом МБС-10. Аналізують по 200 зерен з кожної партії.

Порівняльний аналіз ефективності виявлення патогенів на насінні ячменю, проведений за допомогою трьох методів – рулонного, поживних середовищ і вищеописаного, вказує, що ступінь зараженості зерна темно-бурим гельмінтоспоріозом, альтернаріозом та пеніцильозом був майже однаковим за використання всіх цих методів. Збудник сітчастого гельмінтоспоріозу найповніше проявився лише після УФ-опромінення. Ступінь ураження насіння за аналізу УФ-методом становив від 6 до 75%, тоді як результативність аналізу тих самих зразків рулонним і методом поживних середовищ була нижчою (0–4% та 0–12,5% відповідно).

Зараженість зерна збудниками фузаріозу достовірно можна оцінювати методом поживних середовищ і рулонним, причому останній кращий, оскільки на поживних

середовищах при аналізі сильно забрудненого зерна розвивається *Mucor sp.*, що пригнічує ріст збудників фузаріозу. Однак при ідентифікації видів патогенних грибів, метод поживних середовищ незамінний [10].

Для удосконалення методики фітопатологічної експертизи насіння рису можна використовувати діафаноскоп – прилад, призначений для просвічування зерен у процесі визначення їхньої склоподібності. Діафаноскоп має освітлювальний пристрій і збільшувальну лінзу ($\times 2,5$). Для посилення освітленості лампу потужністю 40 Вт треба замінити на дзеркальну фотолампу в 100 Вт. Методика відбору насіння така: із середнього зразка беруть наважку 30 г (понад 1000 шт.) і поміщають на освітлювальний столик діафаноскопа. Прилад дає змогу досить швидко відокремити хворе насіння від здорового: кондиційне під час просвічування має світлий вміст, хворе – темний, тьмянний [18].

Винятковим є спосіб визначення зараженості посівного матеріалу збудниками захворювань, заснований на усуненні симбіотичних взаємовідносин між патогенами та зовні здоровими проростками соняшника. Спочатку визначають лабораторну схожість насіння, яке пророщують у рулонах із фільтрувального паперу. Отримані зовні здорові паростки продовжують вирощувати ще протягом 2–10 днів в умовах, що забезпечують їм проходження процесу фотосинтезу, але повністю усувають надходження мінерального живлення, необхідного для подальшого розвитку рослин після використання запасів, що були в насініні. Для цього кореневу систему і гіпокотиль 5-денних зовні здорових проростків занурюють у склянки або інші ємності з дистильованою водою та залишають рости на світлі за кімнатної температури. Оптимальна кімнатна температура для росту більшості грибів – $+20-23\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Утворення в рослин вуглеводів – продуктів фотосинтезу – та відсутність мінерального живлення змушують патогени, що були в тканинах проростків, добувати живлення для свого подальшого розвитку з клітин рослини-господаря. Поява побуріння тканин або перетяжки на гіпокотилі вказують на початок патологічного процесу, який у досліджуваних рослин настає неодноразово. В одних він проявлявся через 2 дні, у других – через 8–10 днів. Максимальна кількість проростків, що мають патогени в прихованій формі, гине впродовж 6 днів. Інші продовжують вегетацію в таких умовах понад 20 днів. Облік та видалення уражених проростків з посудини здійснюють кожні два дні. В інших здорових рослин промивають кореневу

систему та замінюють дистильовану воду, тому що сапрофітні бактерії потрапляють у воду і, використовуючи продукти обміну проростків, спричиняють процес бродіння. Передача інфекції від ураженого проростка до здорового протягом двох днів (інтервал між проявом захворювання та видаленням хворої рослини) не відбувається, бо міцелій патогенів та органи спороношення після прояву патологічного процесу формуються пізніше в умовах вологої камери.

Витягнуті із судин рослин уражені ділянки поміщають в чашки Петрі на зволожений фільтрувальний папір так, щоб вони не зіштовхувалися одна з одною. Чашки Петрі витримують в термостаті за температури +22–24 °C впродовж двох–трьох днів до появи спороношення у патогенів. Видову приналежність їх уточнюють під час мікроскопічного перегляду. Загальну зараженість насіння встановлюють способом додавання зараженості, виявленої у процесі визначення лабораторної схожості, до зараженості проростків прихованою формою розвитку патогенів. Уражене фітопатогенними бактеріями насіння під час визначення лабораторної схожості гинуло [16].

Розділ 3

3. АНАЛІЗ НАСІННЯ ОКРЕМИХ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ КУЛЬТУР НА ХВОРОБИ

3.1. Аналіз насіння пшениці та жита

Для аналізу беруть чотири робочі проби по 100 насінин, які не дезінфікуються.

Зараженість насіння пшениці та жита фузаріозом, темно-бурым гельмінтоспоріозом, альтернаріозом визначають, пророщуючи насіння в рулонах з фільтрувального паперу або на поживних середовищах.

Ознаки фузаріозу (*Fusarium sp.*)

За пророщування насіння в рулонах розвивається дуже тонкий, ніжний, пухнастий міцелій, що швидко розростається (рис. 7), спочатку сніжно-білого або яскраво-малинового з прожилками кольору. Нерідко насінина забарвлюється в рожевий або малиновий колір і на ній проявляються коростинки спороношення гриба. Гриби роду *Fusarium* характеризуються утворенням мікроконідій і макроконідій. Мікроконідії одноклітинні, рідше з 1–2 перегородками, овальні, яйцеподібні. Макроконідії з 3–9 перегородками, різної форми, кривизни, зігнутості та розмірів.



Рис. 7. Насіння пшениці, уражене фузаріозом під час проростання

Ознаки темно-бурого гельмінтоспоріозу (зб. гриб *Bipolaris sorokiniana* Shoem)

Для зараженого насіння характерна бура пігментація різних відтінків, аж до коричневого кольору. Насіння покривається густим чорним нальотом, що складається зі спороношення гриба. Конідієносці поодинокі або в пучках по 2–3, бурі, завдовжки 110–150 мкм і завширшки 6–8 мкм, зазвичай з 5–6 перегородками. Конідії веретеноподібні, злегка зігнуті, темно-оливкові, з 3–10 перегородками, на кінцях закруглені, завдовжки 60–120 мкм і завширшки 15–20 мкм.

Ознаки альтернаріозу (*Alternaria sp.*)

На насінні утворюється павутинний міцелій, що надає насінині темно-сірого забарвлення. Часто на зародковій частині розвивається темно-оливковий наліт, що складається з конідієносців і конідій. Конідії оливкові або чорно-бурі, булавоподібні, в ланцюжках, з 3–6 поперечними та однією або декількома поздовжніми перегородками, завдовжки 30–50 мкм і завширшки 14–18 мкм, неоднакової форми, частіше циліндричні або овальні.

Ознаки септоріозу (*Septoria sp.*)

Зараженість насіння пшениці та жита септоріозом визначають, пророщуючи насіння у вологій камері, в піску без дезінфекції або на поживних середовищах.

Пророщування насіння у вологій камері. Насіння розкладають в чашки Петрі без дезінфекції. Інкубування триває 14 діб за температури +10 °С у темряві. Ознаки інфекції такі: окремі коричневі плями на колеоптилі, на паростках з'являються дрібні чорні горбики. Іноді відзначається скручування проростків.

Пророщування насіння у вологому піску. Підготовку піску до аналізу проводять за ДСТУ 4138-2002. Насіння розкладають в пісок на глибину 2–3 см без дезінфекції. Інкубація триває 14 діб за температури +14 °С. Ознаки інфекції такі: окремі коричневі плями на колеоптилі, водночас проростки можуть бути викривленими. Іноді на оболонці насіння утворюються пікніди.

Пророщування насіння на поживному середовищі. Насіння дезінфікують. Для пророщування використовують картопляно-декстрозний агар, який містить 500 мг стрептоміцину на 1 дм³. Картопляно-декстрозний агар готують так само як картопляно-глюкозний, тільки замість глюкози беруть 15 г на 1 дм³ розплавленого картопляного агару. Інкубація триває 7 діб за +20 °С у темряві. Колонії гриба правильно-концентричні, ростуть повільно, міцелій тонкий, білий, кремовий, повітряний. Зворотний бік колоній жовтого (коричневого) кольору, з часом темніє.

3.2. Аналіз насіння ячменю та вівса

Аналіз проводять способом пророщування насіння у вологій камері на світлі і в темряві, де визначають зараженість насіння ячменю смугастою та сітчастою плямистістю, вівса – червоно-бурою плямистістю.

Зараженість насіння ячменю та вівса темно-бурим гелмінтоспоріозом (*Bipolaris sorokiniana* Shoem.) визначають, пророщуючи насіння в рулонах з фільтрувального паперу.

Для аналізу використовують чотири робочі проби по 50 насінин без дезінфекції.

Насіння попередньо замочують у воді кімнатної температури протягом 3 годин і розкладають борозенкою догори на скло або керамічні плитки, загорнуті фільтрувальним папером. Скло або плитки поміщають у ростильні й наливають воду так, щоб вона не змила насіння (можна використовувати звичайні будівельні керамічні плитки без осередків). Під час інкубації підливають воду, не допускаючи підсихання паперу та насіння. Інкубацію проводять протягом перших 2 діб за освітлення лампами денного світла ЛД-40 або ЛБ-40 та температури +22–25 °С.

Збудники смугастої плямистості ячменю та червоно-бурої плямистості вівса утворюють спороношення тільки за інкубації насіння у відкритих ростильнях (не накритих склом).

Для ідентифікації збудників сітчастої плямистості дві ростильні з насінням кожної проби ячменю закривають склом, а дві залишають відкритими. Збудник сітчастої плямистості утворює спороношення в обох випадках.

Подальшу інкубацію (протягом доби) проводять у темряві, в закритих ростильнях за температури +12–16 °С (у холодильнику). У цих умовах добре формується конідіальне спороношення патогенів.

Огляд насіння проводять на 4-ту добу від дня закладення у вологу камеру. Заражене насіння переглядають під мікроскопом типу МБС за 24-кратного збільшення. Насіння разом зі склом (плиткою) переносять під мікроскоп. Близько до зараженого насіння роблять позначку на папері кольоровим олівцем або фломастером, а потім підраховують кількість відміток. Одночасно обліковують чисельність насіння, ураженого темно-бурим гелмінтоспоріозом, який також може проявитися під час аналізу цим методом.

Ознаки збудника смугастої плямистості (*Drechslera graminea* Ito)

Гриб утворює спороношення на зернівках у вологій камері на світлі (сонячне світло або лампи денного освітлення). Скло затримує частину спектра, що стимулює утворення спороношення.

Конідієносці з конідіями утворюються переважно на нижній квітковій лусці, із зародкового кінця (міцелій та спороношення також формуються на фільтрувальному папері біля ураженої насінини) та легко виявляються під бінокулярною лупою або мікроскопом.

Конідієносці поодинокі, злегка зігнуті або прямі, біля основи світлі, розширені, завдовжки 150–350 мкм і завширшки 15–25 мкм (частіше 210–270 і 18 мкм), кількість перегородок – 3–8 (частіше 4–6). На конідієносцях можуть утворюватися ланцюжки конідій.

Конідії майже циліндричні, іноді дещо розширені біля основи, спочатку майже безбарвні, за дозрівання світло-оливкові або жовто-бурі, сильно варіюють за довжиною – 60–70 мкм; шириною – 15–35 мкм; кількістю перегородок – від 0 до 6, частіше 3.

Ознаки збудника сітчастої плямистості (*Drechslera teres* Ito)

Спороношення на зернівках зовні мало відрізняється від спороношення збудника смугастої плямистості, але утворюється на світлі, під склом майже так само добре, як і без скла.

Конідієносці на зернівках частіше поодинокі, завдовжки 188–189 мкм і завширшки 8–10,5 мкм, з 4–9 перегородками. Конідії циліндричні, кількість перегородок – від 2 до 8. Спочатку вони безбарвні, в зрілому стані зеленувато-бурі або жовті, завдовжки 46–134 мкм і завширшки 12,6–21 мкм.

Ознаки червоно-бурої плямистості (*Drechslera avenae* Ito)

Спороношення гриба проявляється на четверту добу інкубації під бінокулярним мікроскопом. Конідієносці зеленувато-оливкові, з численними перегородками. Їхня довжина – 200–400 мкм, ширина – 8–9 мкм. Конідії зеленувато-оливкові з 2–7 перегородками, завдовжки 55–151 мкм і завширшки 13–18 мкм.

У разі зараження смугастою та сітчастою плямистістю обробку результатів проводять за формулами:

$$X_5 = \frac{(N_2 - N_3)}{n_1} \cdot 100 \quad (7),$$

$$X_6 = \frac{N_3}{n_1} \cdot 100 \quad (8),$$

де X_5 – зараженість смугастою плямистістю, %;

X_6 – зараженість сітчастою плямистістю, %;

N_2 – кількість зернівок зі спороношенням збудників смугастої та сітчастої плямистості в ростильні без скла;

N_3 – кількість зернівок зі спороношенням збудника сітчастої плямистості в ростильні під склом;

n_1 – всього зернівок в аналізі;

$N_2 - N_3$ – кількість зернівок, заражених смугастою плямистістю.

3.3. Аналіз розвитку хвороб проростків зернових культур

Аналіз проводять з метою виявлення хвороб колоса та кореневих гнилей за балами ураження.

Відбір проб (ДСТУ 4138-2002)

З насіння основної культури відбирають чотири робочі проби по 50 насінин.

Проведення аналізу (ДСТУ 4138-2002)

У кожній із чотирьох робочих проб підраховують кількість проростків насіння та ставлять такі бали ураження:

0 – насіння добре проросло, хвороби на насінні та проростках відсутні;

1 – насіння добре проросло, є слабкий наліт із грибниці та спороношення патогену, корінці і паросток без зміни забарвлення, без плям і бурих штрихів або вони виражені дуже слабо;

2 – насіння добре проросло, крім нальоту грибів або без нього відмічається побуріння у вигляді штрихів чи плям на корінцях або паростку;

3 – проростки з дефектами, корінці та паросток відстають у рості, сильний наліт із грибниці та спороношення грибів, сильне побуріння корінців, паростка та колеоптилю, місцями тканина загниває;

4 – загнило насіння, паросток і корінці загнивають і гинуть від грибів і бактерій.

Показник розвитку хвороби проростків насіння (P) розраховують за формулою:

$$P = \frac{\Sigma(a \cdot b)}{4m_2} \cdot 100 \quad (9),$$

де a – середнє арифметичне значення кількості ураженого насіння по кожному балу; b – відповідний бал зараження; m_2 – кількість насінин в одній робочій пробі; 4 – найвищий бал.

Приклад обчислення показника розвитку хвороби проростків (P) представлено в таблиці 2.

Таблиця 2

Обчислення показника розвитку хвороби проростків

Робочі проби	Кількість проростків насіння за балами ураження, шт.					Показник розвитку хвороби проростків P , %
	0	1	2	3	4	
1	22	19	7	1	1	–
2	21	17	12	1	0	
3	17	18	12	2	1	
4	23	12	9	2	3	
Середнє арифметичне з 4 проб	20,75	16,5	40,0	1,5	1,25	23,0

3.4. Аналіз насіння кукурудзи

Зараженість насіння кукурудзи червоною гниллю, бактеріозом і нігроспорозом виявляють його зовнішнім оглядом. За потреби здійснюють мікроскопічний аналіз грибів.

Для цього наважку насіння масою 200 г, призначену для аналізу на зараженість, переглядають і виділяють насіння з явними ознаками зараженості хворобами.

Ознаки червоної гнилі (*Fusarium graminearum* Sir)

Насіння цілком або частково червоно-коричневе, крихке, часто з пустотами, заповненими сплетінням грибици. На його поверхні яскраво-рожевий наліт.

Макроконідії гриба веретеноподібно-серпоподібні, злегка зігнуті, переважно білувато-рожеві, охряно-рожеві, золотисто-жовті, з 3–5, а іноді й більше перегородками. Мікроконідії зазвичай відсутні.

Ознаки бактеріозу (*Bacillus mesentericus* pv. *vulgatus* Flugge)

На верхній частині насіння одна або кілька вдавнених плям блідо-сірого кольору, діаметром 2–3 мм. Плями обмежені вузькою темно-сірою облямівкою, добре помітною у білих зерен і слабо – у жовтих. За сильного розвитку хвороби плями стають зморшкуватими, суцільно покривають.

Ознаки білі (непаразитарне захворювання)

На насінні глибокі, сильно розкидані тріщини (рис. 8) з виступаючим із них ендоспермом борошністо-білого кольору. Рідше тріснутою виявляється тільки насіннева оболонка, і з неї виступає ендосперм.



Рис. 8. Різні форми проявлення білі на зернівках кукурудзи

Як вторинне явище на тріщинах можуть розвиватися збудники фузаріозу, пліснявіння тощо та спричиняти формування нальотів різного забарвлення.

Ознаки нігроспорозу (*Nigrospora orizae* Pech)

Уражене насіння тьмяного кольору, злегка сірувате, зморщене, недорозвинене. Біля основи, в місцях прикріплення насінин до качана (з боку зародка), видно чорні купки спор гриба, помітні неозброєним оком. Під мікроскопом спори округлі, майже кулясті, напівпрозорі в незрілому стані, в зрілому – чорні, непрозорі.

Зараженість насіння диплодіозом, фузаріозом, сірою гниллю виявляють, пророщуючи його у вологій камері.

Для цього з наважки насіння після виділення насінини з явними ознаками зараженості відраховують чотири робочі проби по 50 насінин у кожній. Відраховане насіння зважують і пророщують за температури +25–30 °С. У кожную чашку Петрі, Коха поміщають по 10 насінин.

Для виявлення фузаріозу та сірої гнилі насіння пророщують протягом 7 діб, для виявлення диплодіозу – протягом 10 діб.

Насіння перед закладанням на пророщування не дезінфікують.

Ознаки диплодіозу (сухої гнилі) (*Diplodia zeae* (Shw) Lev.)

На зараженому насінні спостерігають білий пухнастий наліт грибниці. Надалі на насінні (рідше на проростках) виявляють дрібні, помітні неозброєним оком чорні цятки – округлі пікніди (спороношення гриба). Утворені в пікнідах спори довгасті, двоклітинні. Проростки заражених насінин загнивають.

Ознаки фузаріозу (*Fusarium moniliforme* Sheld.)

На насінні грибний наліт білого або блідо-рожевого кольору (рис. 9). Сильно заражене сухе насіння легко ламається та кришиться, на зламі воно брудно-білого кольору.

Мікроконідії дрібні, безбарвні. Макроконідії відсутні або є в невеликій кількості, безбарвні, слабо серпоподібні, з 3–5 перегородками.



Рис. 9. Зернівки кукурудзи: здорові (верхній ряд) та уражені фузаріозом (нижній ряд)

Ознаки сірої гнилі (*Rhizopus maydis* Burd)

На насінні густий щільний наліт грибниці сірого кольору, іноді плівкоподібний. Сильно уражене насіння буре, легко кришиться. Міцелій із поодинокими або груповими спорангіями з добре вираженими столонами та ризоїдами. Спори гладкі, еліптичні, жовто-бурого кольору.

Обробка результатів

Підраховують кількість ураженого насіння, виявленого під час зовнішнього огляду, та перераховують його вміст у штуках на 1 кг насіння. Після закінчення терміну пророщування підраховують заражене насіння, виявлене у вологій камері, і також перераховують його вміст у штуках на 1 кг насіння. Результати обчислення зараженості насіння за зовнішніми ознаками та у вологій камері підсумовують.

3.5. Аналіз насіння рису

Для визначення наявності на насінні рису збудника твердої сажки використовують метод обмивання насіння та центрифугування суспензії спор.

Для визначення зараженості іншими хворобами насіння пророщують у вологій камері. Для аналізу використовують чотири робочі проби насіння основної культури – по 100 шт. у кожній, без дезінфекції.

Насіння попередньо замочують протягом доби у воді кімнатної температури, потім розкладають у чашки Петрі. У кожену чашку Петрі закладають по 25 насінин.

Пророщування проводять в термостаті за температури +26–28 °С, в темряві, протягом 7 діб.

Ознаки пірикуляріозу (*Piricularia oryzae* Br. et Cav.)

За пророщування насіння у вологій камері з'являється спороношення гриба, що має вигляд світло-сірого нальоту.

Спороношення складається з прямих, нерозгалужених конідієносців оливкового або димчастого кольору завдовжки 90–100 мкм і завширшки 4,6 мкм. На конідієносцях розвиваються конідії грушоподібної форми з більш-менш витягнутою верхівкою, з 1–3 поперечними перегородками, завдовжки 24–32 мкм і завширшки 8–9 мкм. До конідієносців вони прикріплені широкою основою. Конідії можуть формуватися поодинокі, але зазвичай розташовуються по 3–5 і більше, утворюючи головки.

Ознаки гелмінтоспоріозу (*Helminthosporium* sp.)

На ураженому насінні розвивається темно-оливковий наліт гриба. Захворювання спричиняється двома патогенами з роду *Helminthosporium*, які й утворюють спороношення, що складається з конідієносців і конідій. Конідієносці в пучках, по 2–5 шт., світло- і темно-бурі, злегка зігнуті, завдовжки 150–350 мкм, завширшки 6–8,5 мкм, з 2–8 перегородками. Конідії, що утворює *H. sativum*, великі, темно-оливкові, подовжено-яйцеподібні, веретеноподібні, на кінцях закруглені, завдовжки 56–90 мкм і завширшки 19–22 мкм, з 5–7 перегородками. *H. zizania* утворює конідії сигароподібні, циліндричні, світло-оливкові, на кінцях закруглені, завдовжки 40–118 мкм, завширшки 11–20 мкм, з 5–11 поперечними перегородками.

Ознаки фузаріозу (*Fusarium* sp.)

Уражене насіння змінює забарвлення. Квіткові луски стають брудно-сірими, частіше бурими, як обпалені. За підвищеної вологості насіння загниває, на ньому розвивається пишній білий, світло-рожевий, кремовий, жовтуватий (залежно від виду гриба) міцелій із рясним спороношенням. Захворювання спричиняють два патогени з роду *Fusarium*. *Fusarium oxysporum* утворює мікроконідії, серпоподібні з поперечними

перегородками. *Fusarium graminearum* утворює переважно макроконідії з 3–5 перегородками, веретеноподібні, серпоподібні, еліптичні, вигнуті, з рівномірно звуженою конічною, дещо подовженою верхньою клітинкою, з чітко вираженою ніжкою біля основи нижньої клітинки. Макроконідії завдовжки 25–75 мкм і завширшки 3,5–6 мкм.

Ознаки альтернаріозу (*Alternaria* sp.)

Заражене насіння за пророщування покривається дернинками темно-сірого кольору. Конідієносці прості або розгалужені, колінчасті, оливково-бурі, з перегородками. Конідії в ланцюжках зворотно-булавоподібні, оливково-бурі, з 3–7 поперечними і декількома поздовжніми перегородками, завдовжки 16–35 мкм і завширшки 8–16 мкм.

3.6. Аналіз насіння льону

Зараженість насіння льону хворобами визначають пророщуванням насіння у вологій камері, а також висіваючи його на поживні середовища.

З насіння основної культури відбирають чотири робочі проби по 50 насінин у кожній.

Пророщення у вологій камері

Для визначення зараженості насіння льону фузаріозом, антракнозом, крапчастістю і бактеріозом насіння пророщують у вологій камері протягом 7–8 діб за температури +22–25 °С. Перед закладанням на пророщування насіння не дезінфікують. Використовують комбіноване ложе – марлю в три шари і фільтрувальний папір в один шар. Допускається використання фільтрувального паперу в три шари. Після закінчення терміну пророщування переглядають кожну пророслу насінину (сім'ядолі, стебло, корінець) і все непроросле насіння. Якщо сім'ядолі проростків не звільнилися від насінневої шкірки, то її видаляють голкою, а самі сім'ядолі ретельно розглядають із зовнішнього та внутрішнього боків.

Ознаки фузаріозу (зб. *груб Fusarium oxysporum* Schl. f. *lini* Bilai, синонім *Fusarium lini* Bolley та інші види роду *Fusarium*).

На пророслому та непророслому насінні фузаріоз проявляється залежно від виду патогену у вигляді ніжною білою, рожевою або жовтою грибниці (міцелій гриба), схожої на клаптик вати, на якій утворюються серпоподібні з перегородками макроконідії, одноклітинні мікроконідії, іноді округлі хламідоспори.

На пророслому насінні грибниця утворюється на сім'ядолях або огортає весь проросток, тканини якого під грибницею загнивають. Іноді загнивання спостерігають без розвитку міцелію. На відміну від бактеріальної гнилі, відсутнє ослизнення.

Ознаки антракнозу (*Colletotrichum lini* Manns et Bolley)

У разі захворювання насіння антракнозом на сім'ядолях утворюються чітко облямовані іржаво-помаранчеві плями, часто з присохлою до сім'ядоль насінневою шкіркою.

На коренях і кореневій шийці проростків проявляються штрихи помаранчевого кольору, які пізніше засихають. Уражені тканини не розм'якшуються та не ослизнюються. На їхній поверхні формуються тісно скупчені конідіальні ложа, які містять щетинки та довгасті з притупленими кінцями конідії.

Ознаки крапчастості проростка (*Fungus sterilis* Winogradov)

Збудник крапчастості утворює тільки грибницю. На сім'ядолях спостерігається цегляно-червона крапчастість, на стеблах і корінцях – штрихи такого самого забарвлення.

За сильного зараження проростків видно суцільний червоний візерунок, що складається зі штрихів, локальних плям, та утворення зовні пухкого сіруватого міцелію. Під мікроскопом видно досить грубі розгалужені нитки міцелію, багаті на масло, з перегородками між клітинами або здуттями неправильної форми.

Ознаки бактеріозу (*Bacillus macerans* Schard.)

На проростках (сім'ядолях і корінцях), уражених бактеріозом, утворюються склоподібні бурі плями, тканини ослизнюються, буріють і загнивають.

На сім'ядолях з країв або посередині спостерігають утворення виразок різних розмірів, часто з темно-червоною облямівкою, потворність і потовщення кореня, затримку в рості, відмирання та забарвлення кінчика кореня в темно-червоний колір, помилкове проростання (проростання сім'ядоль без кореня).

На непророслому насінні утворюється слиз різних відтінків, виникає гниття та розм'якшення насінини.

Ознаки пліснявіння

На поверхні ураженого насіння гриби-сапротрофи (сапрофіти) утворюють плісняву (наліт) різного забарвлення.

Чорне пліснявіння спричиняють гриби *Alternaria sp.* та *Cladosporium sp.*

На ураженому насінні гриби роду *Alternaria* утворюють колонії – спочатку темно-сірі, а потім темні, навіть чорні. Спори великі, зворотно-булавоподібні, з поздовжніми та поперечними перегородками. Гриби роду *Cladosporium* утворюють темно-оливкові або коричневі колонії. Їхні конідії 1–5-клітинні, яйцеподібні, циліндричні, оливкові або коричневі.

Зелене пліснявіння, спричинене грибами роду *Penicillium*

Колонії цих грибів спочатку білі, потім поступово зеленіють і швидко поширюються по всьому субстрату. Грибниця безбарвна, з перегородками. Конідієносці розгалужуються догори вертикально або під гострим кутом у вигляді пензлика. Спори одноклітинні, дрібні, кулясті, гладенькі, безбарвні або злегка зеленуваті.

Сіре пліснявіння

Грибниця світло-сіра, нитки міцелію потовщені, швидко поширюються у вологій камері. Спори гриба розвиваються у спорангіях – чорних тілах, помітних неозброєним оком.

Рожеве пліснявіння, спричинене грибами роду *Trichothecium*

На ураженому насінні патоген утворює рожевий наліт, який складається з грибниці, конідієносців і конідій. Конідієносці прості, видовжені і мають на вершині по кілька конідій, зібраних в невеликі головки. Конідії яйцеподібні або грушоподібні, двоклітинні з перетяжками, різнобокі.

Визначення зараженості насіння льону хворобами на поживних середовищах

Для визначення зараженості насіння льону поліспорозом, аскохітозом, фузаріозом та антракнозом його пророщують у чашках Петрі на картопляному підкисленому агарі. Для визначення зараженості насіння льону септоріозом (пасмо) його пророщують на картопляно-глюкозному агарі протягом 7 діб у термостаті за температури +22–25 °C.

Ознаки поліспорозу (*Polyspora lini* Laff)

Під час перегляду зараженого насіння під мікроскопом виявляють колонії збудника поліспорозу: слизові, кремово-молочного або тілесного кольору, іноді темні, схожі на бактеріальні. Але на відміну від останніх вони більш матові, ніжні і мають по

краях облямівку з променистих ниток міцелію. Конідії гриба безбарвні, одноклітинні, дрібні, різноманітної форми – овально-довгасті, циліндричні, на кінцях закруглені.

Ознаки аскохітозу (*Ascochyta linicola* N. Naum et Vass.)

Колонії збудника аскохітозу коричнево-бурі, зірчасті, різко ограновані, з променеподібно розбіжними нитками грибниці. На сьому добу на колоніях утворюються пікніди. Вони кулясті, плескаті або подовжені й темно-пофарбовані, конідії спочатку одноклітинні, потім стають двоклітинними. За перегляду під мікроскопом видно, що спори з'єднані слизом, який виходить із продиху пікніди великою змієподібною стрічкою.

Ознаки фузаріозу (*Fusarium lini* Bolley)

Колонії гриба, що спричиняють фузаріоз, розвиваються у вигляді ніжної біло-рожевої або лілової пухнастої грибниці. Мікроконідії одноклітинні, макроконідії – серпоподібні, подовжені, з перегородками, іноді утворюються хламідоспори.

Ознаки антракнозу (*Colletotrichum lini* Mann.)

Колонії збудника антракнозу слизові або злегка опушені, оранжевого кольору, поступово темніють. Конідії одноклітинні, безбарвні, поодинокі, овальні, з пофарбованими крапельками масла.

Ознаки септоріозу (пасмо) (*Septoria linicola* Sped.)

Колонії гриба, що спричиняє хворобу пасмо, дрібні, підняті, з білим або сіруватим міцелієм і помаранчевими краплями, що містять спори.

Обробка результатів

Кількість насіння, зараженого кожною хворобою, записують у робочу картку. По кожній пробі підраховують загальну кількість насіння, зараженого бактеріями. За наявності на насінні та проростках двох і більше хвороб облік зараженості проводять через хворобу, ознаки якої переважають. Якщо хвороби виражені рівною мірою, то обліковують за найбільш шкідливим захворюванням. Хвороби льону за їхньою шкідливістю розташовують так: фузаріоз, антракноз, крапчастість, бактеріоз.

Зараженість насіння сапротрофними грибами родів мукор, тріхотеціум, монілія тощо враховують окремо і в загальну зараженість не включають.

3.7. Аналіз насіння сої

Для визначення зараженості насіння сої фузаріозом, бактеріозом, аскохітозом, білою гниллю, церкоспорозом і пероноспорозом з насіння основної культури

відраховують чотири робочі проби по 50 насінин і пророщують його у вологій камері в пластмасових або фаянсових ростильнях з піском. Ростильні можна поміщати в поліетиленові пакети. Насіння закладають у пісок на глибину 2–2,5 см, з інтервалом 2 см, розміщуючи не більше ніж 25 насінин у ростильні. Пророщують насінини в термостаті за температури +23–28 °С. Переглядають на дев'яту добу.

За потреби уточнення отриманих результатів насіння пророщують у чашках Коха на двох шарах зволоженого фільтрувального паперу, покладеного на гігроскопічну вату завтовшки 0,25 см, протягом восьми діб за температури +23–28 °С або в рулонах.

Перед закладанням у чашки Коха промивають стерилізованою або свіжокип'яченою водою насіння дезінфікують 96%-м розчином спирту або 1%-м розчином марганцевокислого калію протягом 1 хв. Потім просушують між шарами стерильного фільтрувального паперу.

Для швидшого проведення аналізу насіння пророщують у ростильні на керамічних плитках.

Керамічні плитки перед закладанням на них насіння стерилізують у сушильній шафі за температури +130–140 °С. Після цього їх поміщають у ростильні, заповнені дистильованою або свіжокип'яченою водою. Воду наливають у такій кількості, щоб плитки були занурені в неї на $\frac{3}{4}$ своєї висоти. На кожній плитці розміщують по 50 насінин сої. Насіння попередньо дезінфікують 1%-м розчином марганцевокислого калію впродовж 1 хв та промивають стерилізованою водою. Ростильні накривають склом, попередньо продезінфікованим спиртом, і ставлять у термостат за температури +24–28 °С, насіння переглядають на четверту добу. Після закінчення зазначеного терміну насіння проростає, і на ньому проявляються характерні ознаки хвороб.

Ознаки фузаріозу (*Fusarium sp.*)

Внаслідок ураження насіння фузаріозом воно набуває білого кольору, стає щуплим. Якщо ступінь зараження сильний, насіння втрачає схожість, загниває, покривається білуватим-рожевим нальотом грибниці. Проростки мають буро-коричневі круглі виразки, зазвичай розташовані по краях сім'ядоль.

Часто шкірка щільно прилипає до сім'ядоль, заважаючи їхньому розкриттю. На виразках утворюється біло-рожевий наліт гриба. Уражене підсім'ядольне коліно

нерівномірно потовщується, закручується навколо насінини та розтріскується вздовж.

Ознаки бактеріозу (*Pseudomonas solanacearum* Smith)

На пророслому насінні бактеріоз проявляється у вигляді округлих або кутастих вдавлених плям сірого кольору. На сім'ядолях утворюються різного розміру та форми плями буро-коричневого, сірого або темно-сірого кольору, наскрізні або глибоко вдавлені виразкоподібні, м'які, часто з дуже характерною коричневою або темно-коричневою вузькою облямівкою.

Бактеріоз може проявлятися і у вигляді почорніння країв сім'ядолей. На підсім'ядольному коліні іноді виникають широкі довгасті світло-коричневі вдавлені смуги.

За сильного ступеня зараження насіння загниває, ослизнюється і виділяє неприємний запах.

Ознаки білої гнилі (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary)

Інфіковане насіння знебарвлюється та втрачає блиск. Також воно може мати різний ступінь щуплості (рис. 10). На зразку насіння можна виявити склероції патогену (рис. 11). Вони різних форм і розмірів, чорного кольору (рис. 12).

У вологій камері (під час пророщування) насіння загниває, вкривається білою ватоподібною грибницею. Пізніше на поверхні насіння утворюються білі горбики, які з часом перетворюються на чорні склероції гриба.



Рис. 10. Загальний вигляд насіння сої з різним ступенем ураження білою гниллю



Рис. 11. Склероції гриба *Sclerotinia sclerotiorum* серед насіння сої



Рис. 12. Різні за формою та розмірами склероції збудника білої гнилі, відібрані з уражених рослин сої

Ознаки аскохітозу (*Ascochyta sojaecola* Abramov)

У разі захворювання аскохітозом насіння стає щуплим, трухлявим із чорними крапками пікнід гриба. На ураженій тканині сім'ядолей утворюються глибокі плями темно-коричневого та сірого кольору, вкриті білим нальотом грибниці, іноді на місці плям утворюються наскрізні отвори.

На уражених частинах сім'ядолей видно темно-коричневі плескаті кулясті пікніди гриба. Під мікроскопом видно отвори, з яких виходять спори гриба суцільною стрічкою. Спори безбарвні, циліндричні, з округлими кінцями, спочатку одноклітинні, потім з перегородкою.

Ознаки церкоспорозу (*Cercospora soja* Hara)

Захворювання на церкоспороз проявляється на насінні у вигляді неправильно округлих світло-коричневих плям з чітким коричневим обідком або у вигляді темно-коричневих плям без ясно вираженого обідка, з розпливчастими краями у формі потьоків; поверхня ураженої тканини ніби випинається над загальною поверхнею насіння. На сім'ядолях церкоспороз проявляється у вигляді виразок з темно-коричневим обідком, розташованих зазвичай по краях. На виразках утворюється темно-сірий наліт спороношення гриба.

Ознаки пероноспорозу (*Peronospora manshurica* (Naum.) Syd.)

Хворе насіння вкрите кремовою оболонкою, що складається з ооспор гриба, стає матовим, білуватим, втрачає властиву здоровому насінню глянцевість. Ооспори округлі, діаметром 26,5–52,2 мкм.

3.8. Аналіз насіння ефіроолійних культур

Для визначення зараженості насіння коріандру фузаріозом, бактеріозом, фомозом, септоріозом, кмину – септоріозом і фузаріозом, фенхелю і шавлії – бактеріозом і фузаріозом з насіння основної культури відраховують чотири робочі проби по 50 насінин.

Насіння пророщують у вологій камері в чашках Петрі на фільтрувальному папері або на поживному середовищі, яким є агар Чапека.

Насіння попередньо стерилізують: коріандру – 1%-м розчином хлорного вапна протягом 25 хв; кмину та фенхелю – 96%-м розчином спирту протягом 1 хв, і промивають у стерильній воді, надалі обсушуючи стерильним фільтрувальним папером.

Пророщування проводять у термостаті за температури +22–25 °С протягом 7 діб. Аналізу піддають кожну насінину.

Ознаки фузаріозу (*Fusarium* sp.)

Унаслідок зараженості насіння коріандру, кмину, фенхелю, шавлії фузаріозом на насінні утворюється пухнастий, білий або блідо-рожевий наліт грибниці зі спорами.

Ознаки бактеріозу (бактерії з родів *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*)

На поверхні насіння коріандру, шавлії та фенхелю з темними втиснутими і маслянистими плямами виділяються краплі бактеріального екsudату. На проростках

утворюються штрихи, виразки, потворність, побуріння, склоподібність, загнивання або перетяжки гіпокотила та первинного кореня.

Ознаки фомозу (*Phoma anethi* Sacc.)

На насінні коріандру гриб утворює чорні пікніди, кулясті або плескаті, тонкостінні з вираженим отвором. Конідії одноклітинні, безбарвні, яйцеподібні або циліндричні.

Ознаки септоріозу (*Septoria petroselini* Desm.)

На насінні коріандру та кмину утворюються чорні пікніди гриба сочевицеподібної форми. Пікніди тонкостінні з вираженим отвором і вихідною стрічкою конідій. Конідії безбарвні, одно- або двоклітинні, ниткоподібні, вигнуті.

3.9. Аналіз насіння гороху

Насіння може бути інфіковане такими патогенами: *Ascochyta pisi* Lib., *Ascochyta pinodes* Jones., *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Xanthomonas* sp.

Визначають зараженість насіння гороху аскохітозом, фузаріозом, альтернаріозом, бактеріозом, пророщуючи його на гофрованому фільтрувальному папері.

З насіння основної культури відбирають чотири робочі проби по 50 насінин.

Підготовка до аналізу

Фільтрувальний папір ріжуть на смужки завширшки 120 мм і завдовжки 1000–1050 мм. Смужки паперу, складені по дві, гофрують, тобто складають гармошкою з висотою одного зубця 20 ± 1 мм.

Таких зубців на смужці завдовжки 1000 мм має вийти 25 ± 2 шт.

Гофрований папір умочують у свіжокип'ячену воду, дають воді стекти та укладають в ростильні.

Проводять попередню поверхневу дезінфекцію насіння 0,5%-м марганцевокислим калієм або спиртом етиловим 96% (ДСТУ 4138:2002) протягом 5 хв, потім промивають стерильною водою і розкладають у гофрований папір. У кожную складку поміщають по дві насінини. Ростильні з насінням ставлять у термостат за температури $+22-25$ °C, на шосту добу насіння переглядають. Ознаки бактеріозу: на насінні з'являється ексудат жовтого кольору. Ознаки альтернаріозу: на насінні утворюється бархатистий наліт темно-сірого кольору, що складається з конідій гриба. На насінні, ураженому аскохітозом, утворюється білий пухнастий міцелій, іноді

спостерігається загнивання паростка, за сильного ураження насіння не проростає. Насіння, уражене фузаріозом, покрите добре розвиненим пухнастим білим або рожево-білим міцелієм, з тонкими серпоподібно-подовженими конідіями. Для уточнення виду гриба проводять мікроскопіювання.

3.10. Аналіз насіння квасолі

Під час визначення зараженості насіння квасолі хворобами виявляють бактеріоз, антракноз, білу та сіру гнилі.

Зараженість насіння визначають, пророщуючи його у вологій камері або на поживних середовищах.

Для аналізу з насіння основної культури відбирають чотири робочі проби по 50 насінин.

Пророщення у вологій камері

Для пророщування насіння у вологій камері застосовують чашки Петрі або Коха. На дно чашок поміщають кільця з фільтрувального паперу у два шари, покладені на гігроскопічну вату шаром завтовшки 0,25 см.

Попередньо насіння квасолі дезінфікують 1%-м розчином перманганату калію протягом 1 год або 1,5–2%-м розчином гіпохлориту натрію протягом 15 хв. Після обробки насіння промивають 5–6 разів стерильною водою.

Отримання гіпохлориту натрію

Гіпохлорит натрію можна отримати в лабораторії в такий спосіб: 100 г хлорного вапна впродовж 15–20 хв перемішують із водопровідною водою (170 см³). До отриманої суспензії додають розчин вуглекислого натрію з розрахунку 70 г на 170 см³, ретельно перемішують і дають відстоятися протягом 30 хв. Розчин фільтрують через подвійний фільтр із двох шарів полотна на воронці Бюхієра, а потім через скляний фільтр № 3. Фільтрат має зеленуватий колір, повинен бути прозорим, містити 4% гіпохлориту натрію в концентрації за хлором. Гіпохлорит натрію готують безпосередньо перед застосуванням, зберігають його в холодильнику в банці з темного скла.

Проведення аналізу

Насіння розкладають на зволожений фільтрувальний папір в чашки Петрі по 10 насінин в кожную і пророщують за +22–28 °С. Огляд насіння проводять на 9–10-ту добу, за потреби залишають на 16-ту добу.

Ознаки бактеріозу (*Xanthomonas phaseoli* E. F. Sm. Dowson)

Насіння, уражене бактеріозом, часто буває щуплим і недорозвиненим, може мати різні плями бурого, жовтуватого, іржаво-коричневого, кремового або рожевого кольору різного розміру і контурів, іноді з чорними прожилками на уражених ділянках.

На проростках (сім'ядолях і корінцях) утворюються скляні бурі або червонуваті плями, на сім'ядолях з'являються виразки різних розмірів, спостерігається потворність або потоншення кореня, ослизнення та відмирання кінчика кореня. Потім на уражених ділянках починає виділятися бактеріальний ексудат, проростки покриваються бактеріальним слизом, стають м'якими.

На непророслому насінні утворюється слиз різних відтінків, виникає гниття і розм'якшення насіння.

Ознаки антракнозу (*Colletotrichum lindemuthianum* Br. et Cav.)

У разі захворювання антракнозом на сім'ядолях утворюються коричнево-червоні плями, найчастіше з чіткими контурами, так само в центрі плями утворюються рожеві або білуваті подушечки, які складаються з конідієносців і конідій гриба. На підсім'ядольному коліні з'являються дещо вдавлені, бурі або коричневі плями неправильної форми з рожевим слизом на їхній поверхні.

Конідієносці гриба безбарвні або слабозабарвлені, циліндричні, на обох кінцях закруглені, прямі або іноді всередині звужені. Між конідієносцями розташовуються прямі або злегка зігнуті щетинки з 1–4 перегородками.

Ознаки білої гнилі (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de By)

У вологій камері на зараженому насінні утворюється біла ватоподібна грибниця. Пізніше також формуються чорні (до 1 см в діаметрі) склероції (рис. 13), білі на зламі.



Рис. 13. Уражене білою гниллю насіння квасолі під час пророщування (помітно білий міцелій та чорні склероції)

Ознаки сірої гнилі (*Botrytis cinerea* Pers.)

Заражене насіння у вологій камері вкривається щільним сірим попелястим нальотом. Надалі можуть формуватися неправильної форми, дрібні, чорні склероції. Хворе насіння буріє і загниває.

Пророщування насіння на поживних середовищах

Визначення зараженості насіння квасолі за пророщування його на поживних середовищах проводять за потреби уточнення результатів, отриманих під час пророщування насіння у вологій камері, а також для виявлення внутрішньої інфекції насіння.

Для визначення зараженості насіння квасолі бактеріозом його пророщують на квасолевому або картопляному агарі. Для визначення зараженості насіння антракнозом, білою та сірою гниллю його пророщують на підкисленому картопляному агарі.

Приготування квасолевого агару

50 г насіння квасолі заливають 1 дм³ водопровідної води і залишають на 10–12 год для набухання. Потім кип'ятять протягом 20–30 хв, після охолодження фільтрують. В отриману рідину додають 2,5 г пептону, 10 г цукру і 15–20 г агару; після цього середовище слід прокип'ятити, профільтрувати і розлити по колбах. Отримане середовище стерилізують за 0,04904 МПа (0,5 атм) протягом 30 хв.

Перед аналізом насіння квасолі дезінфікують. Спочатку його обробляють 1,5–2%-м розчином гіпохлориту натрію впродовж 10 хв, промивають 5–6 разів

стерильною водою, а потім обробляють протягом 10 хв 30%-м розчином перекису водню.

Після обробки перекисом водню насіння знову промивають 1–6 разів стерильною водою.

Проведення аналізу

Продезінфіковане насіння поміщають в стерильні колби, заливають 30 см³ стерильної води та залишають його до повного набухання. Набрякле насіння пересипають в стерильні чашки Петрі з 6–7 шарами фільтрувального паперу, щоб видалити надлишок води з поверхні насіння. Потім насіння розкладають по 10 шт. в кожную чашку Петрі на поверхню агару так, щоб воно не торкалося одне одного.

Чашки з розкладеним насінням ставлять в термостат для пророщування за температури +22–28 °С. Обліки проводять на 9-ту добу пророщування.

Для контролю правильності визначення хвороб проводять мікроскопіювання.

Ознаки бактеріозу

Навколо насіння на агарі та на поверхні самого насіння з'являються колонії бактерій. Кількість їх збільшується, і насіння часто не встигає наклюнутися, повністю покривається бактеріальним слизом різних відтінків. Особливо сильно бактеріальним слизом покривається насіння, що втратило здатність проростати. На сім'ядолях, уражених бактеріозом, з'являються різні плями і виразки, з яких бактеріальна маса переходить на весь паросток, і проросла насінина через 5–13 діб стає м'якою, повністю згниває з неприємним запахом.

Ознаки антракнозу

На насінні та навколо на агарі гриб утворює безбарвний міцелій. Конідіальне спороношення типу ложа. Ложа спочатку темно-бурі, пізніше світло- або брудно-бурі, розташовані концентричними колами, нерідко зливаються, пізніше покриваються м'ясо-червоним, блідо-червоним або світло-бурым слизом, що складається з маси конідій; щетинки загострені, темно-оливкового, сірого або чорного кольору, прямі або злегка зігнуті, догори тоншають, з 1–4 перегородками, завдовжки 40–110 мкм і завширшки 4–6 мкм.

Конідієносці безбарвні або в нижній частині слабо забарвлені, здебільшого циліндричні, нерозгалужені, завдовжки 20–55 мкм і завширшки 3,5–5 мкм. Конідії переважно довгасто-циліндричні, безбарвні, на обох кінцях закруглені, іноді всередині

звужені чи неправильні, прямі або зігнуті, завдовжки 10,5–23 мкм і завширшки 3,5–6,5 мкм.

Ознаки білої гнилі

Насіння, заражене білою гниллю, покривається щільним білим нальотом міцелію, на якому пізніше розвиваються склероції з білою серцевиною, неправильної форми, великих розмірів. Міцелій гриба швидко поширюється по агару, тому облік зараженості насіння треба проводити до появи склероціїв на насінні.

Ознаки сірої гнилі

На насінні, а дещо пізніше на агарі утворюється пухнастий попелястий наліт міцелію. Під лупою на ньому помітні потовщення у вигляді булавоподібних головок – спороношення гриба.

Конідієносці деревоподібно-розгалужені, коричневі, на вершині майже безбарвні. Конідії (рис. 14) яйцеподібні або округлі, світло-димчасті, розташовані групами на вершині конідієносців завдовжки 9–12 мкм і завширшки 7–10 мкм. Пізніше на грибниці утворюються чорні склероції гриба. Вони відрізняються від склероціїв білої гнилі меншими розмірами та утворюються не завжди.



Рис. 14. Конідії гриба *Botrytis cinerea*

3.11. Аналіз насіння моркви

Визначають зараженість насіння фомозом (*Phoma rostrupii* Sacc.).

Для визначення зараженості насіння моркви фомозом застосовують такі методи: макроскопічний, біологічний.

Макроскопічний метод

Для аналізу використовують чотири робочі проби по 100 насінин основної культури. Метод застосовують для виявлення на насінні ознак ураження фомозом у вигляді пікнід гриба на поверхні насінин. Насіння моркви переглядають під біокуляром (МБС-1) за 12,5-кратного збільшення.

Насіння розкладають на зволожений фільтрувальний папір по 25 шт. у чашки Петрі. Інкубація триває 1–2 год за +15 °С. Дослідження насінин на зараженість фомозом проводять під біокуляром за 12,5-кратного збільшення. Кожну насінину переглядають з усіх боків на наявність пікнід цього гриба. Пікніди чорні, кулясті, до 0,5 мм в діаметрі. У разі травмування оболонок пікнід з них виходять конідії у вигляді нитки, які довільно закручуються, склеєні слизом рожевого кольору.

Біологічний метод

З насіння основної культури відбирають чотири робочі проби по 50 насінин.

Зараженість насіння визначають способом пророщування його у вологій камері.

Підготовка до аналізу

Для пророщування насіння використовують чашки Петрі, на дно яких кладуть кільця з фільтрувального паперу в два шари.

Перед аналізом насіння моркви стерилізують. Спочатку його обробляють спиртом протягом 1 хв, потім 2%-м водним розчином гіпохлориту натрію впродовж 5 хв, після чого промивають чотири рази по 11 хв в 50 см³ стерильної дистильованої води та підсушують у чашках Петрі з 6–7 шарами сухого фільтрувального паперу.

Проведення аналізу

Простерилізоване насіння розкладають у чашки Петрі на зволожений фільтрувальний папір по 25 насінин у кожному та поміщають на пророщування в термостат за температури +22 °С.

Обліки проводять на 10-ту добу, за потреби чашки залишають для другого перегляду на 16-ту добу. Під час кожного обліку відзначають зовнішні ознаки фомозу на насінні, підраховують кількість насіння, зараженого патогеном.

Ознаки фомозу

На ураженому насінні з'являється темно-сірий наліт, на якому проглядаються темні смуги, з початку плодоношення плями набувають рожевого відтінку. Для

уточнення збудника міцелій пересівають мікологічною голкою на агарове середовище, де він росте до часу утворення пікнід.

Визначення зараженості насіння моркви фомозом під час пророщування на поживному середовищі

Для аналізу беруть чотири робочі проби насіння по 50 шт. у кожній.

Підготовка до аналізу

Приготування моркв'яного агару

На 1 дм³ води беруть 500 г моркви. Моркву подрібнюють і варять до м'якого стану, потім фільтрують і додають 15 г агар-агару, заздалегідь замоченого у воді. Рідину з агар-агаром поміщають на повільний вогонь, щоб агар-агар поступово розчинився. Отримане середовище розливають в колби і стерилізують в автоклаві під тиском 0,09807 МПа (1 атм) протягом 30 хв або текучою парою два рази по 1 год через добу.

Перед аналізом насіння моркви стерилізують.

Простерилізований агар розливають в стерильні чашки Петрі. У кожную чашку Петрі кладуть 10 насінин і ставлять для пророщування в термостат при температурі +22 °С.

Проведення аналізу

Перегляд (не відкриваючи чашки) проводять по колоніях на 5–7-у добу.

Ознаки захворювання. Міцелій гриба зазвичай розвивається на 5-ту добу після розкладання насіння в чашки Петрі. Спочатку він яскраво-білий, потім поступово втрачає яскравість і з часом (приблизно на 10–15-у добу з дня посіву) стає брудно-кремовим або жовтим, ущільненим.

Чашки, в яких (на 5–7-у добу) виявлено міцелій, треба виставити на світло при кімнатній температурі (близько +20 °С), на світлі на 10–14-у добу з дня висіву на міцелії утворюються пікніди гриба у вигляді дрібних чорних крапок. Іноді пікніди краще проглядаються з дна чашки. Для встановлення точного виду пікніди переглядають під мікроскопом при малому збільшенні. Під мікроскопом буде видно темну пікніду з масою дрібних спор, що виходять з неї.

3.12. Аналіз насіння соняшнику

Зараженість насіння білою і сірою гниллю визначають за пророщування його в рулонах фільтрувального паперу, поміщених у скляні посудини.

Відбір проб

З насіння основної культури відбирають чотири робочі проби по 50 насінин.

Підготовка до аналізу

Перед закладанням в рулони насіння промивають під струменем води протягом 20–30 хв, потім дезінфікують 1%-м розчином марганцевокислого калію або спиртом етиловим 96%-м (ДСТУ 4138:2002) протягом 10–15 хв. Після дезінфекції насіння ретельно промивають стерилізованою або свіжокип'яченою водою.

Проведення аналізу

Для пророщування використовують смужки фільтрувального паперу розміром 73×20 см, змочені стерильною водою до повної вологості (надлишку води дають стекти). Насінини кожної проби розкладають гострим кінцем донизу на смужку паперу, відступаючи від нижнього краю на 2 см. Потім її накривають другою змоченою смужкою фільтрувального паперу, корексом і згортають в рулон. Рулон поміщають у скляний посуд. Для підтримання рулонів у вологому стані посудину закривають зверху скляною пластинкою, залишаючи проміжок для доступу повітря. Посуд з рулонами поміщають в термостат за температури +22–23 °С.

Огляд насіння проводять на 10-ту добу, за потреби повторюють на 14-ту добу.

Для контролю правильності визначення збудника сірої гнилі невелику частину колонії, що розвинулася, зі спороношенням досліджують у краплі води під мікроскопом.

Ознаки білої гнилі (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary)

Захворювання проявляється у вигляді білої щільної грибниці. На сім'ядолях на головному корені та підсім'ядольному коліні з'являються світло-коричневі розмиті плями, які покриваються білим нальотом грибниці. Надалі утворюються чорні склероції різної величини та конфігурації, білі на зламі. Часто насіння не проростає, а вкривається грибницею та склероціями.

Ознаки сірої гнилі (*Botrytis cinerea* Pers.)

На сім'ядолях захворювання проявляється в області кореня і підсім'ядольного коліна у вигляді розмитих плям коричневого кольору з бурим відтінком, які покриваються попелясто-сірим пухнастим міцелієм (рис. 15). Міцелій із поодинокими прямостоячими деревоподібними розгалуженими оливково-бурими конідієносцями, які чітко видно через лупу. Конідії яйцеподібні або округлі, світло-димчасті,

завдовжки 8–15 мкм і завширшки 6–10 мкм (у середньому 10 і 6 мкм). Склероції утворюються рідко.



Рис. 15. Насінина соняшнику, уражена сірою гниллю

Наукова обробка результатів.

Із середньої проби досліджуваного зразка (50 г) на аналіз беруть 200 насінин. Їх промивають під струменем водопровідної води (1 година), потім поверхнево дезінфікують 0,1%-м розчином азотнокислого срібла за експозиції 1 хв. Потім ретельно промивають у стерильній або дистильованій воді, можна використовувати свіжокип'ячену та охолоджену воду. Після промивання насіння просушують між шарами стерильного фільтрувального паперу і розкладають (дотримуючись правил стерильності) по 10 штук на поверхню агаризованого поживного середовища Чапека в чашки Петрі. Чашки інкубують за температури +23–25 °С в термостаті, ліпше за чергування світла і темряви. На 5–7 добу враховують зараженість насіння видами грибів роду *Fusarium* (кількість інфікованих зернівок, що припадають на 100 аналізованих насінин досліджуваного зразка). Потім колонії грибів роду *Fusarium* відсівають в чашки Петрі на поверхню агаризованого картопляно-декстрозного агару (КДА) або середовища Чапека. Види грибів ідентифікують на 15 або 30 добу і встановлюють зараженість зразка тим чи іншим збудником. Частоту (поширеність) видів обліковують за кількістю зразків насіння, в яких він зустрічався, і виражають у відсотках від загальної кількості зразків насіння, які досліджуються.

Для інкубації грибів роду *Fusarium* ліпше використовувати пластикові чашки (стерильні, одноразові). Інтенсивному спороношенню та забарвленню повітряного міцелію сприяє 12-годинне чергування світла і темряви.

Морфолого-культуральні ознаки

Морфолого-культуральні ознаки видів секції *Sporotrichiella* описані відповідно до визначників Gerlach, Nirenberg (1982), Nelson, Tous-soun, Marasas (1983) і за результатами проведених досліджень.

До культуральних ознак (на КДА) належать швидкість росту, колір повітряного міцелію, колір колонії тощо.

Швидкість росту (за +25 °C):

а) швидка – 0,9–2,2 см в діаметрі на 2-й день інкубації, 7,0–9,0 см на 7-й день інкубації (*F. sporotrichioides*, *F. poae*);

б) повільна – 0,7–1,3 см в діаметрі на 2-й день інкубації, 2,8–4,2 см на 7-й день інкубації

Колір повітряного міцелію:

а) найчастіше білий на 2-гу добу інкубації; на 7-му добу одні білі або мають рожевий пігмент, інші (рідше) золотисті, біло-кремові (*F. poae*);

б) біло-рожевий на 2-гу добу інкубації, на 7-му добу різні відтінки червоного кольору (карміновий, винно-червоний, темно-червоний). Часто в старій культурі на тлі червоного кольору з'являється жовтий пігмент;

в) різні відтінки червоного кольору на 2-й день інкубації, на 7-му добу інтенсивно-малиновий або вишневий кольори; в середині колонії іноді з'являється жовтий пігмент; в старій культурі часто присутній білий пігмент (*F. tricinatum*).

Колір колонії зі зворотнього боку чашки (реверзум):

а) білий, біло-рожевий на 2-гу добу інкубації. Різні відтінки рожевого кольору, карміновий червоний, часто кільцеподібний на 7-й день інкубації (*F. poae*);

б) біло-рожевий на 2-гу добу інкубації. Різні відтінки червоних і рожевих тонів, карміновий на 7-й день інкубації (*F. sporotrichioides*);

в) завжди інтенсивне, густе забарвлення; червоно-малинові тони (*F. tricinatum*).

Структура колоній:

а) пухнасті, високі колонії (шапочною) на 2-й день інкубації; пухнастий або ватоподібний високий повітряний міцелій на 7-й день інкубації. Краї колонії рівномірно віддалені від її середини (*F. poae*, *F. sporotrichioides*);

б) павутино-повітряний міцелій на 2-гу добу інкубації; не пухнастий, швидше шерстистий повітряний міцелій і компактні колонії на 7-й день інкубації. Краї колонії

нерівномірно окреслені, часто утворюючи схоже на лопаті; іноді, навпаки, чітко окреслені крайовою смугою інтенсивнішого кольору (*F. tricinatum*).

До морфологічних ознак належать:

Мікроконідії:

а) рясні, за інтенсивністю утворення переважають над макроконідіями; округлі, з характерним сосочком (ріпоподібні) і без нього (майже круглі), грушоподібні (*F. roae*);

б) рясні, двох типів: ріпоподібні, грушоподібні; округлі та веретеноподібні (*F. sporotrichioides*);

в) лимоноподібні (мають з двох сторін характерний сосочок), грушоподібні, іноді трапляються серпоподібно-зігнуті, закруглені з двох сторін, паличкоподібні (*F. tricinatum*).

Макроконідії:

а) переважно рідкісні, слабо зігнуті, досить широкі по усій довжині, часто з вакуолями, загалом 3-клітинні. Базальна клітина у вигляді нечіткої ніжки (сосочка) – *F. roae*;

б) серпоподібні, переважно слабо зігнуті. Широкі у верхній третині, звужені до кінців, з 3–5 перегородками. Базальна клітина часто не має чіткої ніжки. Апікальна клітина порівняно коротка і зігнута (*F. sporotrichioides*);

в) тонкі, серпоподібно-зігнуті, навіть місяцеподібні, ширші в центрі та звужені до кінців. Зазвичай 3–5-клітинні. Апікальна і базальна клітини довші (*F. tricinatum*).

Конідіогенні структури:

а) конідіофори латеральні, утворюються в повітряному міцелії, спочатку не розгалужуються, потім густо розгалужуються; фіаліди – завжди монофіаліди, які часто утворюються прямо на повітряному міцелії; фіаліди характерні, потовщені і короткі (*F. roae*);

б) конідіофори латеральні, утворюються на повітряному міцелії, спочатку не розгалужуються, потім безладно або вертицильозоподібно розгалужуються. Вторинні конідіофори – густо розгалужуються. Конідіогенні клітини монобластичні та полібластичні, іноді – монофіаліди (*F. sporotrichioides*);

в) конідіофори латеральні в повітряному міцелії, такі, що спочатку не розгалужуються, потім слабо розгалужуються, вторинні конідіофори густо

розгалужуються. Фіаліди – завжди монофіаліди, часто зібрані на конідіофорі в рихлу мутовку (*F. tricinatum*).

Хламідоспори:

а) спостерігаються рідко. Частіше утворюється потовщення в міцелії (*F. roae*);

б) рясно формуються. Поодинокі, в ланцюжках або зібрані в групу (*F. sporotrichioides*);

в) утворюються рідко. Частіше спостерігається потовщення в міцелії (*F. tricinatum*).

Основні відмінні ознаки між видами секції *Sporotrichiella*, які необхідно враховувати під час діагностики:

F. roae – швидке міцеліальне зростання, пухнастий міцелій. Багато культиварів мають характерний різкий запах, утворення мікроконідій та їх переважання над макроконідіями. Характерні пляшкоподібні фіаліди.

F. sporotrichioides – швидке міцеліальне зростання, густий, пухнастий міцелій, з віком в культурі з'являються розкидані по поверхні чашки спородохії. Два типи мікроконідій: типові для секції, округлі (з носиком і без) і веретеноподібні. Монобластичні та полібластичні конідіогенні структури.

F. tricinatum – компактні колонії, часто з нерівними краями, щільний невисокий повітряний міцелій. Завжди яскраве забарвлення (червоно-малинові відтінки) повітряного міцелію і реверзumu. Часто утворює зону пригноблення інших грибів (чітко помітно за фітоекспертизи насінин). Присутність характерних саме для цього виду лимоноподібних мікроконідій; присутність серпоподібно-зігнутих закруглених із двох кінців паличкоподібних мікроконідій. Місяцеподібні, тонкі макроконідії із загостреними базальною та апікальною клітинами; наявність зібраних у рихлу мутовку монофіалід.

Розділ 4

ЛЮМІНЕСЦЕНТНИЙ МЕТОД

Метод базується на властивості багатьох органічних і неорганічних речовин під впливом синьо-фіолетових променів з довжиною хвилі 360–420 нм світитися, тобто безпосередньо відбивати назад частину поглиненої енергії у вигляді світіння (флуоресценції) різноманітних кольорів і відтінків. Світіння, що виникло після попереднього забарвлення речовин флуорохромами, називається вторинною люмінесценцією. Метод дає змогу вирішувати багато питань біології мікроорганізмів без порушення нативного стану тканин і клітин; має практичне значення для діагностики хвороб рослин, що спричиняються різними збудниками, а також дозволяє побачити неоднорідність і різний хімічний склад конідій і міцелію грибів. Останніми роками накопичено матеріали за люмінесцентними властивостями грибів, виділених з насіння злаків, і виявлено різну їхню здатність до флуоресценції.

Застосування люмінесцентного методу обмежується сухим насінням зі світлозабарвленою оболонкою; насіння з темнозабарвленою оболонкою не має флуоресценції. Аналіз заснований на різних здібностях, виявлених за флуоресценції тканин зерна і гриба, світитися під впливом ультрафіолетових променів. У навішуванні насіння, відібраного з середнього зразка, виділяють насіння основної культури. Проби розсипають в один шар на чорному папері, поміщають під кварцову лампу та переглядають. Вивчення флуоресценції насіння проводиться за допомогою стереомікроскопа ШЗС-1 і люмінесцентного освітлювача ОП-18, джерела УФ-променів з ртутно-кварцовою лампою СЕД-120А і світлофільтрами УСЗ-3, СЗС-7, СЗГ-14 завтовшки 3 мм або використовуються люмінесцентні мікроскопи Ш1-І, 101-2, Ю1-3. Відстань між лампою та об'єктом регулюється у процесі випробування (15–30 см). В ультрафіолетовому світлі видимі плівчасті зернівки, дегуміроване насіння або зрізи насіння через зародок. Наприклад, насіння пшениці починає яскраво та рівно флуоресціювати через декілька секунд. Колір і тон флуоресценції здорового насіння пшениці залежать від сорту насіння. Нормальне і здорове насіння пшениці в ультрафіолетовому світлі випромінює синьо-блакитний або синьо-фіолетовий колір. Насіння пшениці, сильно заражене летючою сажкою, не флуоресціює, виглядає темним і тьмяним. Проте зниження флуоресценції насіння внаслідок зараженості його грибом *Ustilago tritici* не є специфічним для цього гриба. Ураження насіння пшениці

грибами з роду *Fusarium*, *Helminthosporium*, а також патогенними бактеріями теж спричиняє зниження флуоресценції. Насіння, що мало низьку схожість, з наявністю на ньому сапротрофної мікофлори теж флуоресціює. Для виявлення безпосередньо летючої сажки в насінні пшениці слід переглядати препарати зі зрізами насіння пшениці через зародок, розглядаючи його в ультрафіолетових променях люмінесцентного мікроскопа. За наявності зараження насіння виразно виділяється в міжклітинниках міцелій летючої сажки з характерним здуттям на кінцях гіф. Після просочення (зрізу) еозином виникає вторинна флуоресценція у зародка та ендосперму насінин. Зародок флуоресціює зеленувато-жовтим кольором, а білок клейковини – жовтим. Щиток зародка та алейроновий шар не міняють кольору флуоресценції; міцелій летючої сажки флуоресціює яскраво-жовтим кольором. Без забарвлення еозином флуоресценція блідо-голубого кольору. Характер кольору люмінесценції визначається за шкалою Бондарцева А. З. (1954) або Eidgway (1912).

Здорове насіння гороху флуоресціює блакитнувато-зеленим кольором, а в місцях зараження аскохітозом, фузаріозом світиться тьмяним, коричнево-червоним кольором.

Уражене насіння буряка виявляється завдяки білим матовим крапкам, що світяться на його поверхні. Це просвічують безбарвні спори через строми пікнід, розташованих на поверхні насіння.

Насіння кукурудзи, уражене фузаріозом, флуоресціює яскравим помаранчевим або малиновим кольором в місцях залягання гриба.

Насіння лучних трав, уражене гельмінтоспоріозом і фузаріозом, не люмінесціює. Яскраво-блакитне світіння зародків насіння свідчить про його пліснявіння, фіолетове вказує на відсутність яких-небудь захворювань.

Здорове насіння сої світиться ясно-блакитним кольором.

Люмінесцентний метод рекомендовано як орієнтовний для попереднього аналізу зараженості насіння хворобами, коли дають укладення про наявність або відсутність захворювань насіння. Випадки застосування його у фітоекспертизі наразі нечисленні, але безперечною є його перспективність у сенсі швидкості та автоматизації методу фітоекспертизи.

Розділ 5

МЕТОДИ ФІТОЕКСПЕРТИЗИ НАСІННЯ

Методи виявлення теліоспор збудників твердої сажки пшениці. Для визначення заспорення насіння теліоспорами твердої сажки застосовують метод обмивання. Для аналізу беруть 2 проби насіння по 100 зерен кожна. Пробу засипають в 1 пробірку. Насіння заливають теплою водою (10 мл на пробірку) і струшують впродовж 5 хв. Потім воду з пробірок зливають в центрифужні пробірки і центрифугують протягом 5 хв. Воду швидко зливають, стінки пробірок висушують фільтрувальним папером. На дні пробірок залишаються спори сажки, до них додають 0,5 мл води. Беруть одну краплю суспензії спор для перегляду за допомогою мікроскопа. Навантаження спор на 1 зернівку визначається за формулою:

$$X = \frac{AK}{100} \quad (10),$$

де X – число спор на одній зернівці; A – середнє число спор в одному полі зору мікроскопа; K – коефіцієнт, який визначається за особливою формулою; 100 – число зернівок в навішуванні.

Під час мікроскопування визначається кількість спор у 10 полях зору в кожній пробі, потім виводиться середнє на одне поле зору.

Коефіцієнт $K = a \cdot b$, де a – число полів зору в покривному склі; b – число крапель в 0,5 мл. Для визначення a площу покривного скла ділять на площу одного поля зору. Для цього за допомогою окуляр-мікрометра визначають діаметр поля зору і за формулою πr^2 обчислюють площу одного поля зору; потім площу покривного скла, а вона відома ($18 \times 18 = 324 \text{ мм}^2$), ділять на площу одного поля зору; результат покаже число полів зору в покривному склі (a). Для встановлення числа крапель в 0,5 мл (b) спочатку підраховують за допомогою піпетки число крапель в 50 мл, потім обчислюють середнє число крапель в 1 мл, потім в 0,5 мл. Наявність спор на зерні визначає необхідність використання препаратів проти сажки. Слабкою вважається заспореність насіння, коли кількість спор на одне зерно не перевищує 15, проте при вирощуванні зернових культур навіть низьке заспорення (менше ніж 15 спор на зернівку) потребує обов'язкового протруювання. За даними ВІЗР, сівба непротруєним насінням пшениці озимої за початкової зараженості посівів 0,5% забезпечувала ураження в 20% (Чувашія, Цивільський район, пшениця сорту Миронівська 808).

Для визначення зараження насіння пшениці та ячменю збудниками летючої сажки проводять анатомо-морфологічне дослідження зернівок. Зараження насіння встановлюють за диференціацією фарбування тканин зародка і міцелію. Для відділення зародка від ендосперму застосовують такий метод: 50 г насіння пшениці або ячменю поміщають у колбу місткістю 0,5 л і заливають 2–3%-м розчином лугу (NaOH, KOH) у кількості 400 мл. Колби покривають плівкою і витримують насіння не менше ніж 3–5 днів, коли зародок мимоволі відділяється від ендосперму. Вміст колби виливають через набір лабораторних сит з діаметром осередків 5–3–1 мм. Відокремлені зародки тонким шпателем переносять в колбу місткістю 200 мл і заливають розчином, що складається з 15% лугу (NaOH) та 10% спирту, у кількості 100 мл, потім кип'ятять впродовж 40 хв на повільному вогні, а потім вміст колби виливають на ситечко (ліпше з м'якою капроною сіткою), промивають проточною водою, поміщають зародки в колбу місткістю 50–100 мл і заливають розчином оцтової кислоти зі спиртом (1:3) у кількості 20–30 мл. У цьому розчині їх кип'ятять 1–2 хв, після чого зародки стають білосніжними та пружними. Потім вміст колби виливають на ситечко, ретельно промивають водою і забарвлюють. Розчин барвника складається з 20% молочної кислоти і 0,2% тріпанового синього барвника або 0,06–0,07% анілінового барвника. Зародки поміщають в колби місткістю 50 або 100 мл, заливають розчином барвника і доводять до кипіння. Потім барвник зливають у колбу для подальшого вживання, зародки промивають, заливають 5%-м розчином молочної кислоти, закривають пробкою. Так вони можуть зберігатися тривалий час.

За потреби термінового аналізу насіння можна не витримувати 3–5 днів в NaOH. У колбу місткістю 300–500 мл поміщають 50 г насіння, заливають 2–3% NaOH у кількості 200–250 мл і кип'ятять на повільному вогні впродовж 60–80 хв. Вміст колби потім зливають у набір лабораторних сит із діаметром осередків 5–3–1 мм. Зародки, що осіли на останньому ситі, промивають водою і далі діють так само, як описано вище.

Для аналізу забарвлені зародки поміщають у чашку Петрі з тонкого скла і заливають декількома краплями 5% молочної кислоти. При сильному ураженні, коли в кожній пробі (100 насінин) спостерігають 2–3 уражених зародки, переглядають 300–500 зародків, при слабкому ураженні (десяті й соті частки відсотка) – 1000–2000. Число уражених зародків, виражене у відсотках, відповідає відсотку ураження насіння:

$$G = \frac{n \cdot 100}{N} \quad (11),$$

де G – відсоток ураження насіння;

n – число уражених зародків;

N – загальне число зародків.

Зараженість насіння ячменю летючою сажкою (аналог методу дослідника-науковця Кривченка В. І.) можна визначати й іншим способом. Робочу пробу складають з двох повторень по 100–120 г, залежно від маси 1000 насінин, що містить по 2000–4000 насінин. Її поміщають в 1 л свіжоприготованого 5%-го водного розчину NaOH і витримують за +20 °C впродовж 24 год, потім пробу переносять у відповідну посудину і промивають насіння в теплій воді, щоб відокремити зародки, які показалися з розм'якшеного перикарпію. Зародки збирають у сито з отворами 1 мм і поміщають в суміш з рівної кількості лактофенола (1/3 гліцерину, 1/3 фенолу та 1/3 молочної кислоти) та води, в якій вони можуть бути відокремлені від оболонок. Зародки переносять в хімічну склянку з 75 мл свіжого зневодненого лактофенола і витримують за точки кипіння приблизно 30 с у витяжній шафі. Для перегляду їх поміщають у свіжий, трохи підігрітий гліцерин.

Переглядають 1000 зародків із кожної повторності за 16–25-кратного збільшення. У зародках насіння, заражених *Ustilago nuda*, видно характерний золотисто-коричневий міцелій.

За ступенем зараженості сажковими грибами та змогою надалі використовувати зерно для сівби можна скласти картину і за даними обліку в польових умовах. Апробація насіннєвих посівів на сажкову інфекцію за стандартами є обов'язковим заходом.

Аналіз насіння на зараженість збудниками корневих гнилей.

Гельмінтоспоріозну та фузаріозну інфекцію насіння виявляють у вологій камері за використання паперових рулонів. Насіння проростає в умовах, оптимальних для розвитку зародка, а також розвитку життєздатної інфекції, що знаходиться усередині та на поверхні. Зразки насіння для аналізу відбирають за відповідними ДСТУ [7, 8] від 1–2 партій кожного сорту в кожному господарстві. Для його пророщування беруть смужки фільтрувального паперу завширшки 20–25 см, завдовжки 75–100 см. Уздовж паперової смужки на відстані 6–8 см від верхнього краю простим олівцем проводять

лінію. Потім папір змочують до повного зволоження. По накресленій лінії розкладають насіння зародком вниз (відстань між насінинами 1,5–2 см), по 100 шт. на кожному стрічку. Насіння покривають другою смужкою фільтрувального паперу, змоченого водою до повного зволоження, потім покривають поліетиленом або калькою. Укладені смуги змотують в рулон, ставлять вертикально в склянку з водою (350 мл на зразок) і поміщають в термостат за +20 °С. У такий спосіб при визначенні схожості й енергії проростання визначають заселеність насіння і проростків грибними патогенами. Потім ділять проростки на здорові та уражені, визначають ступінь розвитку хвороб. Ураження проростків грибами оцінюють за 5-бальною шкалою: 0 – проростки здорові, наліт відсутній; 1 – проростки здорові, на насінні і проростках наліт грибниці; 2 – слабе потемніння тканин проростків у вигляді штрихів або дрібних плям; 3 – викривлення проростків, плями суцільні, тканина загниває; 4 – при проростанні насіння загниває і гине. Ступінь розвитку хвороби X розраховують за формулою:

$$X = \frac{(a \cdot v) \cdot 100}{AK} \quad (12),$$

де a – число рослин з певним балом ураження; v – бал ураження по кожній групі рослин; A – число рослин загалом; K – найвищий бал шкали обліку. Наявність видів *Fusarium* на насінні проявляється у вигляді ніжного білого або біло-рожевого та малинового нальоту. Грибниця переходить на папір, забарвлюючи його у відповідний колір. Вид фузаріуму визначають за методиками, наведеними у праці В. Й. Білай (1977).

Гельмінтоспоріозна інфекція – найбільш поширена на насінні ячменю, яке здебільшого залишається життєздатним, проте польова схожість його може знижуватися. При витримуванні насіння в рулонах чітко видно побуріння основи корінців. Величина зони побуріння буває різною, до почорніння усіх коренів. Ступінь буріння колеоптиле біля основи різних. На плівках зернівки виразно видно грибницю у вигляді чорного бархатистого нальоту, який часто переходить на папір. Навіть без нальоту побуріння корінців біля основи свідчить про наявність інфекції (рис. 16). Схожі ознаки може мати гельмінтоспоріоз і септоріоз. При глибокому ураженні зернівок спостерігається їхнє проростання, але корінці нечисленні, бурі, без кореневих волосків, проростки потворні, з розривами і тріщинами, часто загнивають.



Рис. 16. Відмирання кореневої системи у 12-денного проростка ячменю внаслідок ураження грибом *Bipolaris sorokiniana*

Альтернاریоз насіння проявляється у вигляді нальоту від димчасто-сірого до чорного кольору, який зазвичай переходить від проростаючого насіння на папір. На вигляд схожий з нальотом *Helminthosporium*. Головна відмінність – відсутність аномалій при проростанні насіння, навіть якщо уся зернівка покрита міцелієм гриба.

На підставі результатів експертизи насіння приймається рішення про можливість використання партії зерна для сівби, необхідності протруювання препаратами.

На рис. 17 наведено хвороби зернових, проти яких ефективна обробка насіння фунгіцидами (Шпаар, Елмер, Протасов та інші, 2000)

Тверда сажка (пшениця) *Tilletia caries*

Септоріоз (пшениця) *Septoria tritici*

Стеблова сажка (жито) *Urocystis occulta*

Гельмінтоспоріоз (овес)

Pyrenophora avenae

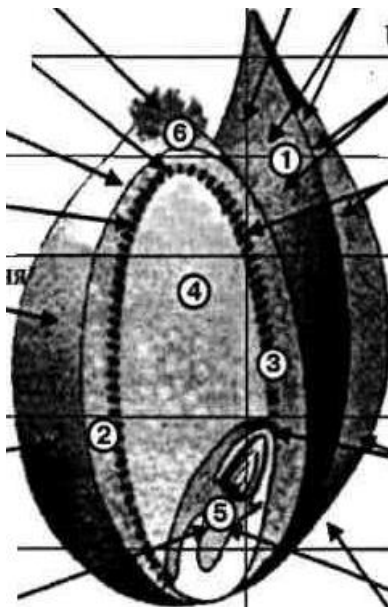
Карликова сажка (пшениця)

Tilletia controversa

Сітчаста плямистість (пшениця, ячмінь) *Pyrenophora teres*

Летюча сажка (пшениця, ячмінь) *Ustilago nuda*

Чорна сажка ячменю *Ustilago nigra*



1 – насіннева оболонка; 2 – навколоплідник; 3 – алеїроновий шар; 4 – ендосперм;
5 – зародок; 6 – волосяний чубок

Рис. 17. Місця локалізації збудників хвороб в зерні злакових культур

Хвороби кореневої системи (пшениця, ячмінь) *Drechslera sorokiniana*

Тверда сажка (ячмінь) *Ustilago hordei* f. sp. *hordei*

Покрита сажка (овес) *Ustilago hordei* f. sp. *avenae*

Смугастий гельмінтоспоріоз ячменю *Pyrenophora graminea*

Снігова пліснява (пшениця, ячмінь, жито, тритикале)

Monographella nivalis (*Microdochium nivale*)

Фузаріози кореневої системи (пшениця, ячмінь) *Fusarium* spp.

Летюча сажка (овес) *Ustilago avenae*

Рінхоспоріоз (озимий ячмінь, жито) *Rhynchosporium secalis*

Основними критеріями правильного вибору протруйника для насіння хлібних злаків є його висока ефективність проти збудників різних видів сажки (більше 98%), корневих гнилей, пліснявіння насіння, а також ранньо-сезонної аерогенної інфекції борошнистої роси (*Blumeria graminis* (DC.) Speer; син. *Erysiphe graminis* DC.), видів іржі (*Puccinia* spp.), плямистостей (*Septoria* spp., *Rhynchosporium* spp., *Helminthosporium* spp.), широкий спектр дії проти фітопатогенів, відносно низька вартість, покращені препаративні форми (водно-суспензійний концентрат, концентрат суспензій та інші), результати фітосанітарної експертизи насіння і дані обліку фітосанітарного стану попереднього сезону. Для оцінювання інтенсивності ураження сходів озимих зернових культур сніговою пліснявою і кореневою гниллю можна використовувати шкалу, наведену у таблиці 3.

Таблиця 3

Шкала інтенсивності ураження сніговою пліснявою та кореневою гниллю сходів зернових культур (у балах)

Бал	Показники ураження	
	Снігова пліснява	Коренева гниль сходів
0	Здорові рослини	Здорові рослини
1	Рідкісні плями на нижньому листі (2–3 плями) при загальній ураженості до 10% усіх листків	Одиничні штрихи на колеоптилі або підземному міжвузлі

2	Нижні листки уражені повністю, на верхніх 2–3 плями при загальній ураженості до 50%	Слабке побуріння колеоптилю або підсім'ядольного міжвузля
3	Уражені нижні і верхні листки при загальній ураженості більше 50%, відмирають бокові пагони	Сильне побуріння колеоптилю або підсім'ядольного міжвузля
4	Усі листки і пагони уражені, рослини загинули	Повне відмирання проростка

Визначення насіннєвої інфекції [1]

Патогени можуть передаватися насінням трьома способами:

1. Домішка: патогени незалежні від насіння, але супроводжують його. Склероції ріжок попадають до здорового насіння під час збирання.

2. Зовнішній: патоген може бути присутнім на поверхні насіння у вигляді спор, ооспор і хламідоспор, як у випадку з карликовою сажкою пшениці, летючою сажкою (іржею) та несправжньою борошнистою росою ячменю і ін.

3. Внутрішній: патогени виявляються всередині насіння в прямій залежності від його частини.

Насіннєві патогени призводять до втрати схожості, знебарвлення і зморщування, розвитку хвороб рослин, поширення патогена на нові території, інтродукції (впровадженню) нових штамів або фізіологічних рас патогена з інших країн, утворенню токсинів в інфікованому насінні тощо. Розглядаючи важливість насіннєвих інфекцій Central Seed Certification Board призначив сертифікаційні стандарти для організацій і сертифікував насіння за декількома захворюваннями.

I. Індійська сажка пшениці і тритикале. Збудник – *Neovossia indica* Mundkur.

Порядок дій: метод вимочування насінин в гідроксиді натрію (NaOH)

1. Насіння пшениці замочують в колбі/склянці, що містить 500 мл 0,2%-го розчину гідроксиду натрію (2 г NaOH/1000 мл води), впродовж 24 год при температурі +20–30 °C.

2. Після 24 год розчин зливають.

3. Насіння ретельно промивають проточною водою.

4. Насіння розміщують на поверхні фільтрувального паперу для того, щоб прибрати надлишки води з поверхні насіння.

5. Насіння оглядають візуально за допомогою освітлення.

6. Насіння з насиченим чорним блискучим зовнішнім виглядом з порожнинами (вм'ятинами) або без них відділяють.

7. Зібране у такий спосіб насіння окремо руйнують в краплі води і візуально оглядають на предмет вивільнення потоку спор грибів.

8. Кількість насіння, що вивільняє потік грибних спор, розглядають як інфіковане насіння.

9. Результат виражають у відсотках.

Інфекцію індійської сажки можна легко відрізнити від чорного зародка, що викликається переважно *Alternaria alternata*. Насіння, що уражене чорним зародком, проявляє темно-коричневу до чорнуватого зміну кольору, яка найбільше зосереджена у верхівці зародка. В цьому випадку внутрішні тканини насіння не перетворилися на чорну порошкоподібну масу. Це насіння при руйнуванні не вивільнює потік грибних спор. Вищеописану методику застосовують і для партій хімічно протруєного насіння, і для не обробленого.

II. Сажка рису (Bunt of Paddy). Збудник – *Neovossia horrida*.

1. Насіння рису замочують у колбі/склянці, що містить 250 мл 0,2% розчину гідроксиду натрію (2 г NaOH/1000 мл води), впродовж 24 год за температури +20–30 °C.

2. Після 24 год розчин зливають.

3. Насіння ретельно промивають проточною водою.

4. Насіння розміщують на поверхні фільтрувального паперу для того, щоб надлишки води з поверхні насіння увібралися.

5. Насіння оглядають візуально за допомогою освітлення.

6. Блискуче насіння насиченого чорного кольору відділяють.

7. Таке блискуче чорне насіння окремо руйнують проколюванням в краплі води і візуально оглядають на предмет вивільнення потоку спор грибів.

8. Кількість насіння, що вивільняє потік грибних спор, розглядається як інфіковане насіння.

9. Результат виражають у відсотках.

Насіння блискучого і насичено чорного кольору містить сажкову інфекцію. А те, що змінило колір на коричневий або слабо-чорний (темно-сірий) – не містить сажкової інфекції. Це симптом коричневої сажки рису.

III. Ріжки of Pearlmillet. Збудник – *Claviceps fusiformis* (= *Claviceps microcephala*).

Ріжки сорго, збудники *Sphacelia sorghi* і *Claviceps spp.*, та ріжки тритикале, збудник *Claviceps purpurea* Tul.

Порядок дій: Візуальний огляд сухого насіння.

1. Насіння оглядається візуально за допомогою освітлення на предмет присутності склероцій ріжок. Ці склероції мають багряно коричневий колір, різноманітну форму, тверду структуру і насіння, що їх утримує, в два-три рази більше за здорове насіння. Партія насіння, що перемішана з розвиненими або зруйнованими склероціями, вважається зараженою (is called an ergotted seed lot). Проте партію насіння, що перемішана з грудочками (шматочками) медяної роси (honey dew lumps), які містять міцеліальний килимок з конідіями, не слід вважати зараженою.

2. Склероції відділяються і підраховуються.

3. Результат виражається у відсотках (по числу).

IV. Летюча сажка (Loose Smut) пшениці, збудник – *Ustilago tritici* Jens.

Порядок дій: метод підрахунку зародків.

1. Замочити 2000 насінин в 5,0% гідроксиді натрію і 0,02% розчині тріпана синього (1 л) впродовж 24 год при температурі +25–30 °C.

2. Пропустити вимочений матеріал через сито з 10 отворами (10 mesh sieve) і помістити матеріал в сито з 20 отворами під проточною водопровідною водою.

3. Зібрати зародки, що відокремилися (екстраговані), в скляночку.

4. Зневоднити (дегідратувати) зародки в ректифікованому спирті впродовж 5–10 хвилин.

5. Помістити зневоднені зародки разом з половиною (висівками) і ін. в скляночку, що містить 50 мл лактофенолу.

6. Долити в скляночку 100 мл води і розмішати.

7. Залишити матеріал на 5 хв для осаду полови на дно.

8. Зібрати зародки, що спливли, в іншу скляночку, що містить 25 мл свіжого лактофенолу.

9. Кип'ятити вищезгаданий матеріал впродовж 2 хвилин.

10. Вилити зародки в чашки Петрі і збудувати в лінії разом з невеликою кількістю лактофенолу.

11. Переглядати зародки під стереобінокулярним мікроскопом на предмет присутності міцелію.

12. Міцелій з'явиться у вигляді блакитної (синьої) ниткоподібної вузлуватої структури в області зародкового щитка.

13. Підраховується загальне число зародків і кількість інфікованих ембріонів.

Таблиця 4

**Стандарти максимального зараження основного та сертифікованого насіння, %
(Tunwar and Singh, 1998)**

Сільськогосподарська культура	Захворювання	Збудник	Стандарт, %	
			Основне насіння	Сертифіковане насіння
Ячмінь	Ріжки	Claviceps fusiformis	0,02	0,04
Рис	Сажка рису	Neovossia horrida	0,01	0,50
Сорго	Ріжки	Sphacelia sorhi	0,02	0,04
Пшениця	Жовтий слизовий бактеріоз пшениці	Anguina tritici	ні	ні
	Індійська сажка пшениці	Neo vossia indica	0,05	0,25
	Рак бактеріальний	Corynebacterium michiganense	ні	ні
Тритикале	Індійська сажка пшениці	Neovossia indica	0,05	0,25
	Ріжки	Claviceps purpurea	0,02	0,04

Таблиця 5

Кількість насіння для тесту на ураження сертифікованого насіння

№ зп	Рівень інфікованого насіння, %	Кількість насіння для тесту, шт.
1	Ні	5000
2	0,02	5000
3	0,04	2500
4	0,05	2000
5	0,1	1000
6	0,25	400
7	0,5	200
8	1,0	100
9	3,0	33
10	5,0	20

Розділ 6

ТЕТРАЗОЛЬНИЙ ТЕСТ (TETRAZOLIUM TEST)

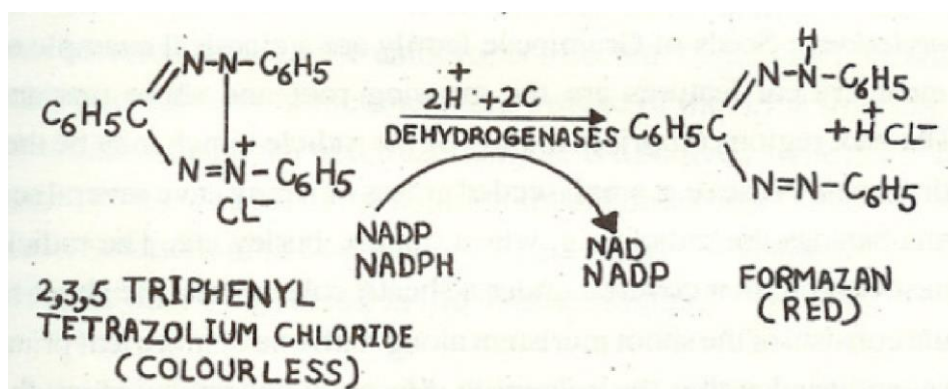
Тетразольні тести дають змогу швидко оцінити енергію проростання партії насіння. Це біохімічний тест, в якому жива тканина забарвлюється в червоний колір, водночас мертва тканина залишається безбарвною. Результати зазвичай отримують впродовж 24–36 годин.

TZ тест для життєздатності та енергії проростання насіння

Тест на схожість – це найкращий показник потенціалу партії насіння в польових умовах. Проте потрібні дні й тижні, а подекуди й місяці для його завершення. *Tetrazolium* тест, зазвичай іменований TZ тест, для життєздатності насіння був розроблений для швидкого надання оцінок схожості насіння. Цей тест дуже потрібний за обробки, транспортування, зберігання і торгівлі великими партіями зерна в короткі терміни; визначення насіння, що перебуває в стані спокою; енергії проростання партій насіння; доповнення результатів тестів на схожість і з'ясування причин псування зерна.

Механізм реакції

TZ тест – доступний і широко використовуваний метод, розроблений німецьким ученим Лаконом в середині минулого століття (1939–1958). Учений виявив, що усі живі тканини, які дихають, здатні перетворити (редувати) безбарвний хімічний реактив 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride or bromide в забарвлене в червоний колір з'єднання formazan шляхом реакцій перенесення атомарного водню H, що каталізується ферментами дегідрогеназами:



Formazan, який є недифундуючим, забарвлює живі клітини в червоний колір. Отже, живі частини життєздатної насінини повинні забарвлюватися в червоний колір при інкубації в розчині цього хімреагенту.

Велике значення цього тесту усвідомлено вченими і технологами в усьому світі, доповнено, модифіковано і вдосконалено для оцінювання якості зерна в перекладі на його життєздатність.

Оскільки тканини усередині насінини можуть перебувати в різних станах життєздатності, то й забарвлюватися вони будуть по-різному. У своїх дослідях науковець Мур (Moore) (1973) описав ефективніше використання TZ фарбування на основі топографічної моделі насінини.

Точність tetrazolium тесту потребує:

1. Глибокого і детального знання структур насінини та проростка.
2. Розуміння механізмів реакції, що призводять до фарбування насінини.
3. Уміння інтерпретувати забарвлений зразок способом детального обстеження топографії насінини і зважаючи на інші видимі показники якості насіння, такі як щільність тканини, ненормальні або відсутні структури та ін.
4. Досвіду, накопиченого через непідробний інтерес і природну майстерність.

Найважливіші структури насінини, що оцінюються за допомогою TZ тесту

Насіння можна згрупувати в однодольне, дводольне і багатодольне, зважаючи на наявність у ньому однієї, двох чи більше сім'ядоль. Структури зародка або структурні примордії (зародкові листки) відносно схожі у зародків усередині кожної групи, хоча вони можуть відрізнятися за формою, розміром і диференціацією/розвитком структур ембріона. Найважливіші особливості насіння цих груп описані нижче.

Однодольне. Насіння родини *Gramineae* є характерним прикладом цього класу. Найважливіші особливості: зростаючі кінчики кореня і паростка (growing root and shoot tips) і щиток. Коренева ділянка містить головним чином корінець, який в окремих випадках може бути єдиним кореневим примордієм, наприклад, у дрібно насінневих трав, або може мати декілька насінневих (зародкових) (seminal) корневих примордіїв, окрім корінця, як, наприклад, у пшениці, кукурудзи, ячменю та ін. Корінець розміщений нижче області мезокотилія, покритий оболонкою з колеоризи. Паросткова частина, або плюмула (первинна листкова брунька) (plumule), складається з паросткової меристеми разом з одним чи більше листових примордіїв біля основи,

що розташовані в колеоптиле. Мезокотиль відділяє плюмулу від місця зіткнення зі щитком.

Дводольне. У дводольному насінні з низьким ступенем диференціації зародок поміщений (embedded) в поживні тканини й складається з корінця і двох сім'ядоль. У насінні з більш високим ступенем диференціації ембріон займає більшу частину насінини. Корінець – частина зародка, яку добре видно, тоді як коренева меристема з першим листовим примордієм зазвичай лежить сплюснута поміж двох сім'ядоль.

Багатодольне. Менш поширене. Цей тип насіння виявляється у родини *Pinaceae* та інших хвойних. Зародок не дуже добре диференційований, за винятком корінця, і має понад дві сім'ядолі. Живі поживні речовини тканини оточують зародок, тоді як коренева меристема оточена основою сім'ядоль.

Устаткування, необхідне для проведення TZ тесту

1) Посуд для фарбування, наприклад скельця (watch glasses) для невеликого насіння або чашки Петрі.

(2) Лабораторні склянки місткістю від 100 до 250 мл для більш великого насіння.

(3) Одностороннє лезо (Single edge razor blade).

(4) Голки.

(5) Пінцети.

(6) Збільшувальні прилади.

(7) Медична піпетка (Medicinedropper).

(8) Розподільний флакон (Dispensing bottle).

(9) Фільтрувальний папір і паперові рушники для пророщування.

(10) Термостат (Oven) або інкубатор.

Приготування забарвлювального розчину

Хімічний реактив, який використовують для цього тесту, є порошком кремового або яскраво-жовтого кольору, розчинним у воді та іменованим 2,3,5-трифенілтетразолію хлорид.

Декілька концентрацій tetrazolium розчину, що варіюють від 0,1 до 100%, застосовують з порівняними результатами. Зазвичай використовують 1,0%-й розчин для насіння, яке не ділиться навпіл через зародок. Іноді замість 0,1%-го розчину застосовують нижчі концентрації – приблизно 0,2% і 0,5%. Для того, щоб приготувати

1,0%-й розчин, потрібно розчинити 1 г tetrazolium солі в дистильованій або водопровідній воді, щоб отримати 100 мл, рН розчину має бути орієнтовно 7,0 для належного фарбування. Розчин з рН 4 або нижче не забарвить навіть живі зародки, а розчин з рН понад 8 призведе до занадто інтенсивного фарбування.

Якщо рН води не лежить в нейтральному діапазоні, tetrazolium сіль слід розчинити в розчині фосфатного буфера. Буферний розчин готують так:

Розчин А – розчинити 9,078 г Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) у воді і довести до 1000 мл.

Розчин В – розчинити 11,876 г Disodium hydrogen phosphate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) і довести до 1000 мл.

Узяти 400 мл розчину А і 600 мл розчину В і змішати їх в 1 л буферного розчину, приготованого за вищеописаною методикою, розчинити 10 г tetrazolium солі. В результаті отримують 1,0% tetrazolium розчин з рН 7,0.

Зберігати розчин слід в темному або бурштинового кольору флаконі, щоб запобігти реакції, що відбувається також за наявності світла. Розчини можна зберігати впродовж декількох місяців в холодильнику.

Приготування розчину для очищення (clearing solution)

Розчин лактофенола може бути використаний як агент для очищення, якщо пігмент усередині насінневої оболонки або лема (lemma), заважає чіткому баченню після фарбування. За допомогою такого агента видно зародок через насінневу оболонку або лему. Він складається з молочної кислоти – 20, фенолу – 20, гліцерину – 40 і води – 20 частин.

Температура

Температура впливає на реакцію фарбування. Воно відбувається вдвічі швидше за температури +30 °C порівняно з +20 °C та удвічі швидше при +40 °C, ніж при +30 °C. Температура між +20 і +40 °C не впливає на точність tetrazolium тесту, але фарбування відбувається швидше за вищої температури. Тести можна проводити також і за кімнатної температури.

Робочий зразок (проба) (Working Sample)

Необхідно протестувати принаймні 100 насінин в повтореннях (replicates) по 50 чи менше. Насіння має бути випадково відібране від чистої насінневої складової

(component) і підраховане в повтореннях перед створенням відповідних умов (conditioning).

Щоб забезпечити контакт tetrazolium розчину із зародком, можуть знадобитися деякі обмежуючі і попередні (підготовчі) дії. Вони залежать від типу насінини, проникності і товщини насінневої оболонки, місця розташування зародка тощо.

Передпідготовка (Preconditioning)

Передпідготовку проводять для того, щоб:

- зробити можливою повну гідратацію усіх тканин;
- запобігти ушкодженню осей сім'ядоль і зародка при розрізанні насінини;
- ініціювати та активізувати процес проростання;
- забезпечити належне проникнення tetrazolium розчину.

Деякі типи насіння можна розмішувати безпосередньо у воді, тоді як інші слід зволожувати поступово. Повільне поступове зволоження переважно практикують для великих бобів або для сухих, крихких чи старих зразків насіння, щоб уникнути пошкодження тканин внаслідок швидкого поглинання води. Це досягається за розміщення насіння на поверхні або між шарами вологого фільтрувального паперу чи відповідних паперових рушників.

Дрібне насіння або насіння з проникною оболонкою можна звожити прямим вимочуванням без негативних наслідків. Час вимочування можна суттєво скоротити, розмістивши насіння в умови з вищою температурою (в межах +40 °C) під час водопоглинання.

Підготовка до фарбування

Як доповнення до зволоження більшість типів насіння вимагають деяких підготовчих заходів перед фарбуванням, щоб:

- забезпечити достатнє проникнення забарвлювального розчину всередину насінини;
- підвищити швидкість фарбування;
- полегшити оцінювання результатів.

Таким чином, залежно від типу насінини, точності і досвіду дослідника можна прийняти один з нижчеперелічених методів:

(а) не потрібно ні зволоження, ні підготовки (дрібнонасінні бобові з м'якими оболонками);

(b) повільне зволоження без будь-якої підготовки (великонасінні бобові з м'якими оболонками);

(c) протикання (буравлення), проколювання або розрізання насінневої оболонки (дрібнонасінні трави);

(d) розрізання насінин вздовж через мідель (midsection) зародка і через частину ендосперма, залишаючи дві половинки сполученими в основі або розрізання насінин повністю, зберігаючи одну половинку для фарбування і відкидаючи за непотрібністю другу;

(e) поздовжнє розрізання насінин ближче до периферії (slightly off - centre), щоб уникнути розрізання зародка;

(f) видалення насінневої оболонки (за допомогою пінцета/голок/лез та ін.) з мінімальним ушкодженням тканин. Іноді тонка мембрана пристає (прилипає) до сім'ядоль навіть після видалення насінневої оболонки, її можна зняти ковзаючим рухом після додаткового 30-хвилинного вимочування (дводольні зі щільними насінневими оболонками).

Фарбування

Насіння можна забарвлювати на скельцях, у чашках Петрі або в скляночках. Розчину має бути достатньо для покриття насіння і його поглинання (абсорбції). Зазвичай емпірично (a rule of thumb) концентрований (1,0%) розчин можна використовувати для бобових, бавовни і трав, які не розрізані навпіл через зародок, а розбавлений (0,25 або 0,50%) розчин – для трав і злакових, які розрізані навпіл через ембріон.

Пропонований метод підготовки до фарбування, концентрація розчину, час фарбування при +35 °C і оцінювання кількості важливих індійських культур наведено у додатку С ДСТУ 4138-2002 з урахуванням температури забарвлення +30 °C. Треба піклуватися про те, щоб не перефарбувати насіння, оскільки це веде до дегенерації, роблячи інтерпретацію (трактування) складною і сумнівною (невизначеною).

Загалом насіння поміщають у розчин і витримують при +35 °C до повного фарбування. Після знаходження в розчині, тривалість якого варіює залежно від стану насіння, виду, температури і концентрації розчину, насіння витягують з tetrazolium розчину, промивають 2–3 рази у воді, згодом оцінюють (характеризують) відповідно до забарвленої моделі (staining pattern). Під час оцінювання насіння треба залишити в

невеликій кількості води, щоб запобігти його висиханню. Якщо насіння не підлягає негайній оцінці, його слід зберігати в невеликій кількості води в холодильнику.

Щоразу, за потреби, 2–3 краплі розчину лактофенола можна додати до 100 насінин дрібнонасінневих трав після повного видалення tetrazolium розчину. Дрібне насіння оглядають під стереомікроскопом, тоді як велике насіння можна розглядати тільки за допомогою збільшувальних лінз (луп). Насіннєві оболонки бобових зазвичай слід видалити перед оглядом.

Характеристики тканин

(I) Міцні тканини (Sound tissues)

Фарбування відбувається поступово і рівномірно від відкритих (незахищених) поверхонь всередину. Зміни в інтенсивності фарбування послідовні без помітних (визначених) меж. Інтенсивність кольору менша, але яскравіша (блискуча, глянцева) (lustrous) в міцних тканинах порівняно з пошкодженими, зруйнованими або старими тканинами. Поступове зменшення інтенсивності кольору від поверхні насінини до серцевини є показником повільної абсорбції і щільності (firm), міцні незабарвлені тканини вказують на недостатність проникнення tetrazolium розчину.

(II) Нежиттєздатні тканини (Weak viable tissues)

Такі тканини мають тенденцію до забарвлення в сірувато-червоний або яскравіший від нормального червоний колір. Апікальні кінці листя, колеоптилей і корінці псуються раніше. Слабкі і старі тканини також втрачають набрякання міцних тканин, стають м'якими (flaccid) і поплямованими.

(III) Неміцні нежиттєздатні тканини (Weak non - viable tissues)

Колір тканин часто строкатий, він може бути пурпуровим, коричневим або сіруватим і його інтенсивність може варіювати від аномально темного до блідо-рожевого. Розітнута поверхня може бути білуватою (off white) тоді, як внутрішні тканини можуть бути темно-червоними. Незабарвлені мертві тканини виглядають м'якими, рихлими, просоченими рідиною, такими, що розпливлися або матовими.

Чітка межа не обов'язково трапляється між нежиттєздатними, ненормально забарвленими, забарвленими і незабарвленими тканинами. Обидва типи тканин, таким чином, вважаються мертвими, незважаючи на відмінності в кольорі.

Структура насінини і насінина, загалом, мають бути враховані при оцінюванні забарвленого зразка (staining pattern). Насінина може бути прийнята за несхожість,

навіть коли є тільки одна тріщинка (fracture) або одна маленька нерівна (broken), або відсутня пляма в життєво важливому місці, такому, як точка зіткнення корінців і сім'ядоль. Насінина вважається мертвою, коли незабарвлені зони включають мезокотиль, зародкові корінці у трав і верхівки колеоризи у пшениці і рису. До життєво важливих зон при інтерпретації забарвленості зразка в однодольних відносять кінчики плюмули, частину зародка, прилеглу до щитка і область зародкових корінців. У бобових ушкодження, нанесені зростаючим органам, необхідно помітити (зафіксувати) з більшою ретельністю, ніж ушкодження інших органів. Незабарвлені кінчики корінця у бобових можуть не дозволити корінцю рости. Неправильне фарбування в таких зонах, як зони розвитку корінців і гіпокотіля, область сім'ядоль і плюмули вказує на те, що насінина нездорова.

The tetrazolium відсоток – це відсоток схожого насіння, який очікується при пророщуванні партії насіння в дуже сприятливих умовах.

Результати правильно проведених tetrazolium тесту і тесту на схожість зазвичай дуже близькі.

Інтерпретація результатів TZ тесту

Лабораторія технології зернових Університету штату Міссісіпі (The Seed Technology Laboratory, Mississippi State University) розробила наукові моделі фарбування деяких з найважливіших видів с.-г. культур для інтерпретації результатів TZ тесту. Більшість інших культур можна оцінити, керуючись будь-якою з цих моделей фарбування. Проте, для деяких культур, може знадобитися уперше стандартизувати (еталонізувати) фарбування. Була описана стандартизація TZ методів для ragi (*Eleusine coracane*) і khesari (Agarwal and Kaur, 1975; Agrawal and Negi. 1977. Згідно з ДСТУ 2240-93 [7] примітка 7 до табл. 1 «Норма життєздатності для насіння озимих культур, яке висівається у рік збирання врожаю, на 3% вища від норми схожості». Проте розбіжності між двома результатами можуть виникнути внаслідок декількох чинників (Agrawal and Dadlani, 1987), зокрема:

(1) Відмінність зразків (Sample difference).

(2) Неправильне тестування схожості.

(3) Неправильне TZ тестування.

(4) Згідно з ДСТУ 4138-2002, п. 8.1.1. метою аналізування є швидке визначення життєздатності насіння, що перебуває у стані фізіологічного спокою.

(5) Наявність твердого насіння (hard seeds).

(6) Наявність внутрішньонасінневих організмів (Presence of seed - borne organisms).

(7) Хімічні ушкодження такі, як фумігаційне та обробка (excess-treatment) фунгіцидами, які містять ртуть, та ін., які можуть не інгібувати TZ фарбування, але можуть впливати на нормальне проростання.

Для зручності насінневих фахівців (seed analysts) ознаки життєздатного насіння систематизовані (coded) the Tetrazolium Committee of the ISTA(1985).

Найуживаніші терміни

Забарвлений. Відноситься до життєздатних (що функціонують) тканин, як показали особливості фарбування (as established by staining) і/або набряк тканини (tissue turgidity).

Некроз (омертвіння). Належить до нежиттєздатних (що не функціонують) тканин, як показали особливості фарбування і/або недолік (відсутність) набряку тканини.

Оцінювальні коди для забарвлених моделей життєздатних насінин різних видів.

(I) Зародок

А. Повністю забарвлений.

В. Повністю забарвлений, за винятком нижчеперелічених типів некрозів:

Корінець

1. Дистальний кінець.

2. Дистальний 1/3.

3. Дистальний 1/2.

4. Дистальний 2/3.

5. Повний

Зона меристеми кореня (Root initial area)

6. Меристема первинного корінця (Primary root initial) або навколишня зона за умови, що принаймні дві кореневі меристемні клітини забарвлені і розташовані поряд з функціональною (що функціонує) плюмулою.

Сім'ядолі

7. Поверхневий (Superficial).

8. Дистальний 1/4.

15. Ізольовані поверхневі некрози Isolated superficial necroses, other than at junction with cmbry

Щиток

16. Некроз зачіпає не більше 1/3 верхнього і нижнього кінців (upper and lower ends).

17. Дистальний 1/4.

Колеоптиле

18. Дистальний 1/2.

(II) Тканина, яка накопичує поживні речовини (Nutritive storage tissue)

D. Повністю забарвлена.

E. Забарвлена, за винятком маленьких поверхневих некрозів, що не контактують з порожниною зародка (embryo cavity).

Переваги TZ тесту

(a) Швидкий і досить точний;

(b) Може також в короткі терміни визначити життєздатність партії насіння, що перебуває в стані спокою;

(c) Насіння не пошкоджене (у дводольних) і може бути схожим.

Недоліки TZ тесту

(a) Складне розпізнавання здорових і уражених проростків;

(b) Не дозволяє розрізнити (диференціювати) насіння, що знаходиться в стані спокою;

(c) Правильна (коректна) оцінка можлива тільки після тривалого досвіду роботи;

(d) Мікроорганізми, шкідливі (згубні) для проростання (появи) паростків, залишаються невиявленими.

Tetrazolium тест для оцінки енергії проростання (for vigour assessment)

Після розпізнання життєздатного насіння від нежиттєздатного, групу життєздатного насіння можна перекласифікувати в декілька груп за енергією проростання на підставі інтенсивності фарбування і моделі фарбування різних частин насіння. Найпростіша класифікація полягає в тому, щоб розділити (роздрібнити) партію життєздатного насіння, яка містить найбільшу кількість здорового насіння, з вищою енергією проростання.

Висока оцінка енергії проростання може бути отримана колориметричним визначенням формазау. Дослідники Kittock and Law (1968) описали науковий метод оцінки енергії проростання насіння на підставі інтенсивності кольору забарвленого зародка або насінини. Цей метод описано нижче:

1. Приготувати тетразольний (tetrazolium) розчин, як було описано раніше;
2. Помістити 100 насінин в чашку Петрі, вистелену (lined with) фільтрувальним папером і витримати при $+25 \pm 1$ °C впродовж ночі;
3. Видалити (Excise) зародкові осі (embryonic axes) і додати 1 мл tetrazolium розчину до 25 осей в чотирикратному повторенні (in quadruplicate);
4. Інкубувати (вирощувати) в темряві при $+30$ °C впродовж 4 годин. Час інкубації варіює залежно від виду культури. Проте для отримання однорідності (одноманітності, вирівнюваності) тривалість повинна підтримуватися постійно для культури, що вивчається;
5. Видалити надлишок розчину і промити в дистильованій воді.
6. Вимочувати осі в 10 мл метилцеллобзолюва (methyl cellosolve) впродовж 4–6 год, періодично помішуючи (збовтуючи), до завершення екстракції (виділення) забарвленого в червоний колір формазау (extraction of red coloured formazan) is complete, тобто до моменту знебарвлення осей.
7. Декантувати екстракт та обчислити інтенсивність кольору при 480 нм в спектронометрі, використовуючи целлобзолюв як blank (початкового)

Чим вища інтенсивність екстрагованого формазау, тим більша енергія проростання.

Table 14.1 Tetrazolium testing guide for some important crop species (adapted from Moore, 1985)

Crop	Moistening period(h)	Preparatory method after moistening	Staining time(h)	Staining evaluation (refer to the text)
1	2	3	4	5
Cereals				
Barley	6-18	(a) Cut the seed longitudinally through the mid-section of the embryonic axis	3-24	B6
Maize	18	— do —	3-24	B5, B17
Oat	6-18	— do —	2-24	B6
Paddy	18	— do —	6-24	B4
Pearl Millet	6-18	— do —	6-24	B4
Ragi	6-18	— do — or cut laterally	6-24	B4
Sorghum	6-18	(a)	6-24	B4, B17
Wheat	6-18	— do —	3-24	B6, B17
Pulses				
Chick pea	18	(b) Cut through the seed coat near midsection	6-24	B4, B11, B18
Cowpea	18*	— do — entire seed length	18-24	B3, B13, B18
Green Gram	18*	— do —	18-24	B3, B13, B18
Lathyrus	18*	— do — & (c) Severe a distal end of cotyledon	6-24	B3, B13
Lentil	18*	(b)	6-24	B3, B13, B18
Pea	18-24	— do —	6-24	B4, B13, B18
Pigeon pea	18	(b) & (c)	6-24	B3, B13
Soybean	18*	(b) or no seed coat preparation needed	6-24	B3, B13, B18
Oilseeds				
Castor	18	(b) & (c)	6-24	A, D
Groundnut	18*	(b)	6-24	B2, B8, B18
Linseed	18*	Treat with alum to remove seed coat sliperiness & (b)	6-24	B2, B9

1	2	3	4	5
Mustard	18	(d) Puncture the seed coat, cut as in (b) including 1/2 of circumference.	18-24	B2,B16
Safflower	18-24	(e) Cut longitudinally through the midsection of distal end.	6-24	B2,B14
Sesame	18	— do —	6-24	B1,B8
Sunflower	6-18	— do —	6-24	B2,B14
Fibre crops				
Cotton	18*	— do —	6-24	B3,B7,B10
Jute	18	— do —	24-48	A,C
Sunn hemp	18	(f) Cut through the coat near midsection of entire cotyledon length & (c)	18-24	B3,B13
Forage				
Alfa alfa	6-18	— do —	6-24	B3,B11
Berseem	18	— do —	6-24	B3,B13
(Trifolium)				
Guinea grass	6-18	(g) Cut through the midsection of distal end and expose the embryonic axis.	6-24	B4
Vegetables				
Amaranthus	18	(b)	18-24	B2,B9
Beet root	18	Puncture the seed coat and remove the cap covering embryo.	24-48	B2,B9
Bitter gourd	6-18	Remove the wings & (g)	6-24	B2,B12
Brinjal	18	Puncture and (h) Cut laterally or longitudinally through the entire depth.	6-24	A,C
Broad bean	24*	(b) & (c)	16-24	B4,B13,B18
Carrot	18	(e)	16-48	A,C
Chillies	18	(h)	6-24	A,C
Cucumber	6-18	Remove the Wings & (g)	6-24	B2,B12
Dolichos bean	18	(f)	6-24	B3,B13,B18
Lettuce	6-18	(e)	6-24	B2,B17
Luffa	6-18	Remove the wings & (d)	16-24	B2,B16
Onion	6-18*	(h)	6-24	A,D

1	2	3	4	5
Pumpkin	6-18	Remove the wings & (g)	6-24	B2,B12
Radish	18	(d)	6-24	B2,B16
Roundgourd	6-18	Remove seed coat sliperiness by drying & (g)	6-24	B2,B12
Tomato	18	Puncture & (h)	18-24	B2,B14
Flowers				
Aster	6-18	(c)	6-24	B2,B14
Begonia	18	(c)	18-24	A
Canna	18	Remove hard seed-edness & (c)	24-48	A,D
Coleus	18	Treat with alum to remove seed coat sliperiness & (b)	18-24	B2,B11
Dahlia	6-18	(c)	6-24	B2,B14
Gladiolus	18	Severe through the distal end of the seed	24-48	A,C
Rose	18	Severe wings & (c)	24-48	
Others				
Citrus	18	Remove seed coat sliperiness by drying. Remove or punture the inner coat.	6-24	B2,B12
Coffea	18	(g)	24-48	A,C
Pine	18	Cut off centre through the coat & nutritive tissues to expose the embryo outline.	24-48	A,D
Rubber	18	— do —	2 at 40°C	—
Tobacco	24	(b)	24-48	A,C

Note :

* = Slow moistening recommended.

Preparatory methods as indicated in col. 3 are as follows :

a = Cut the seed longitudinally through the midsection of the embryonic axis.

b = Cut through the seed coat near midsection.

c = Severe a distal end of the cotyledon.

d = Puncture the seed coat, cut as in (b) including 1/2 of circumference.

e = Cut longitudinally through the midsection of distal end.

f = Cut through the seed coat near midsection of entire cotyledon length.

g = Cut as in (d) and expose the embryonic axis by spreading the cut surfaces slightly apart.

h = Cut of seed laterally full depth from the centre outward between the radicle and the cotyledons.

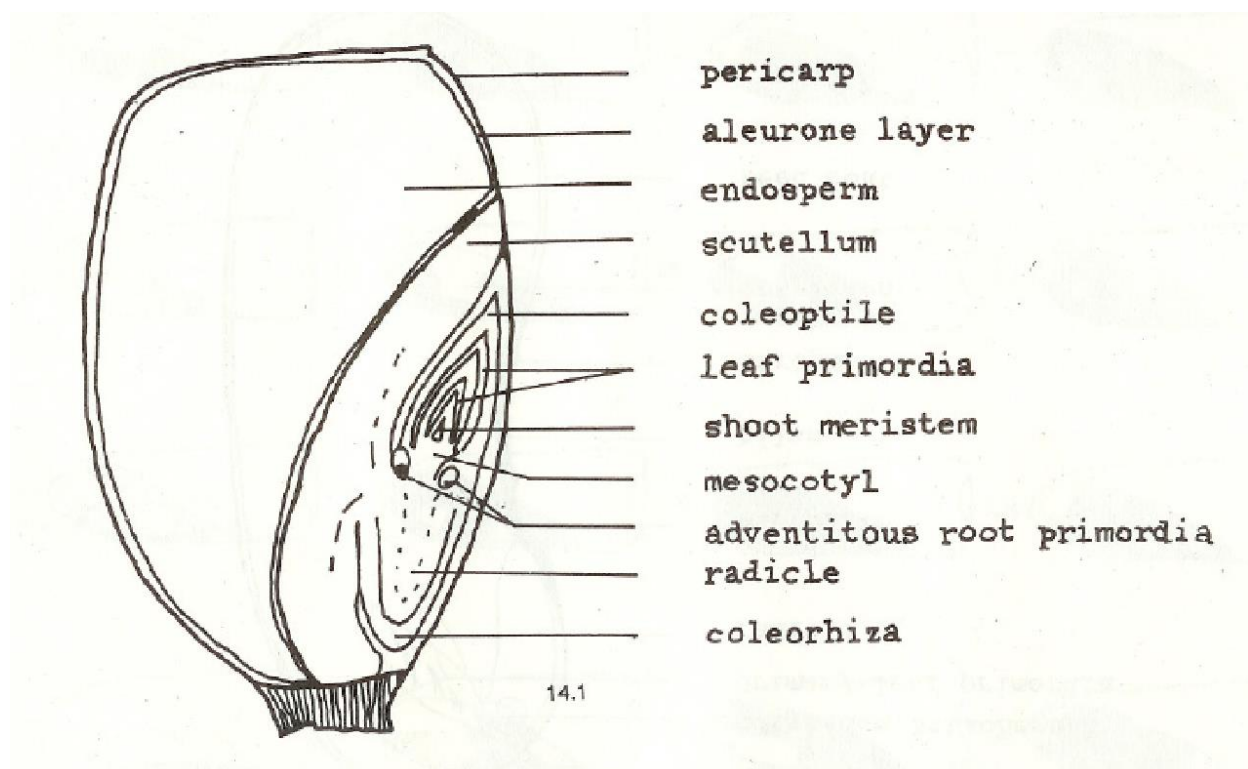


Рис. 18. Основні зародкові структури кукурудзи

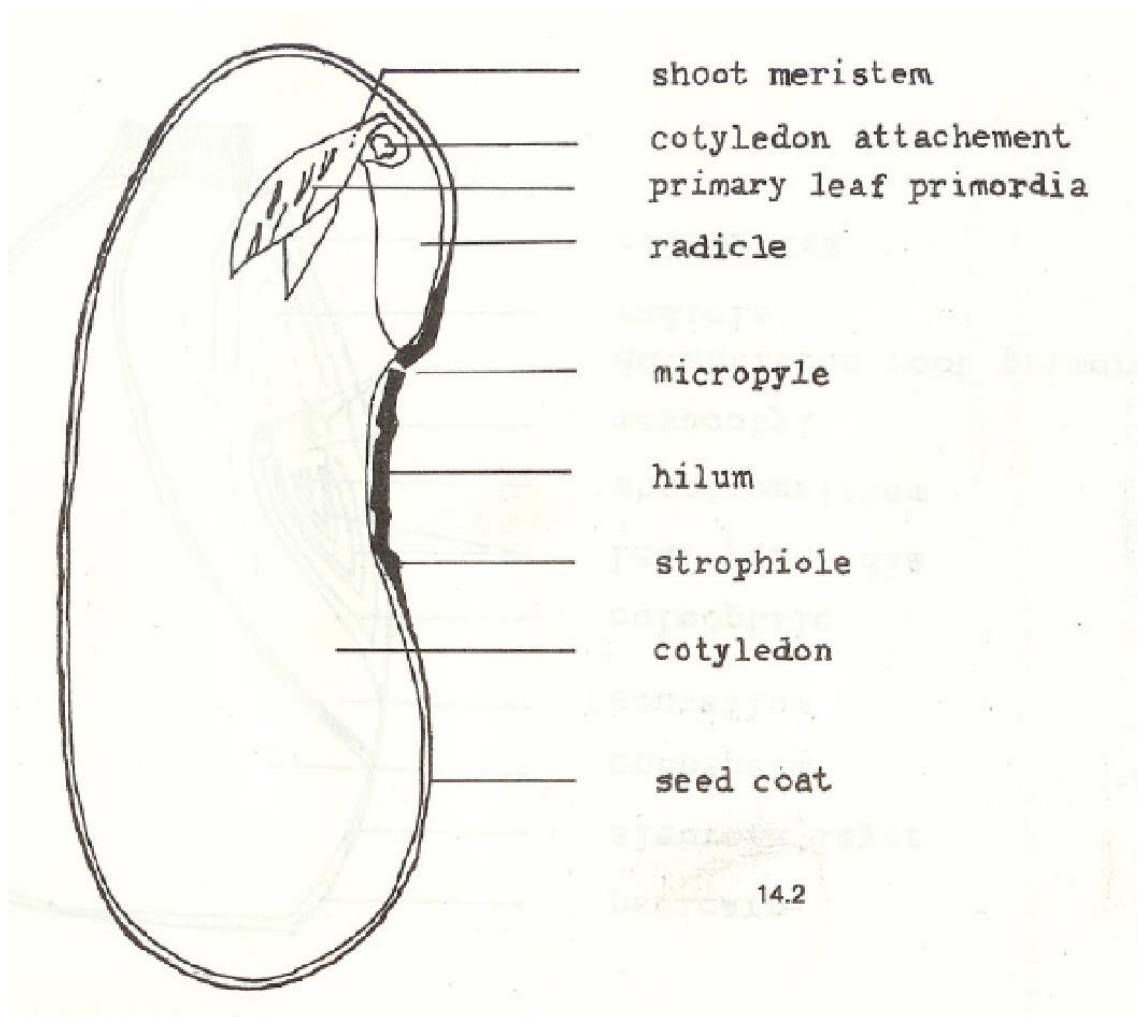


Рис. 19. Будова насінини бобових

Моделі фарбування найважливіших видів сільськогосподарських культур для інтерпретації результатів TZ тесту (рис. 20–34)

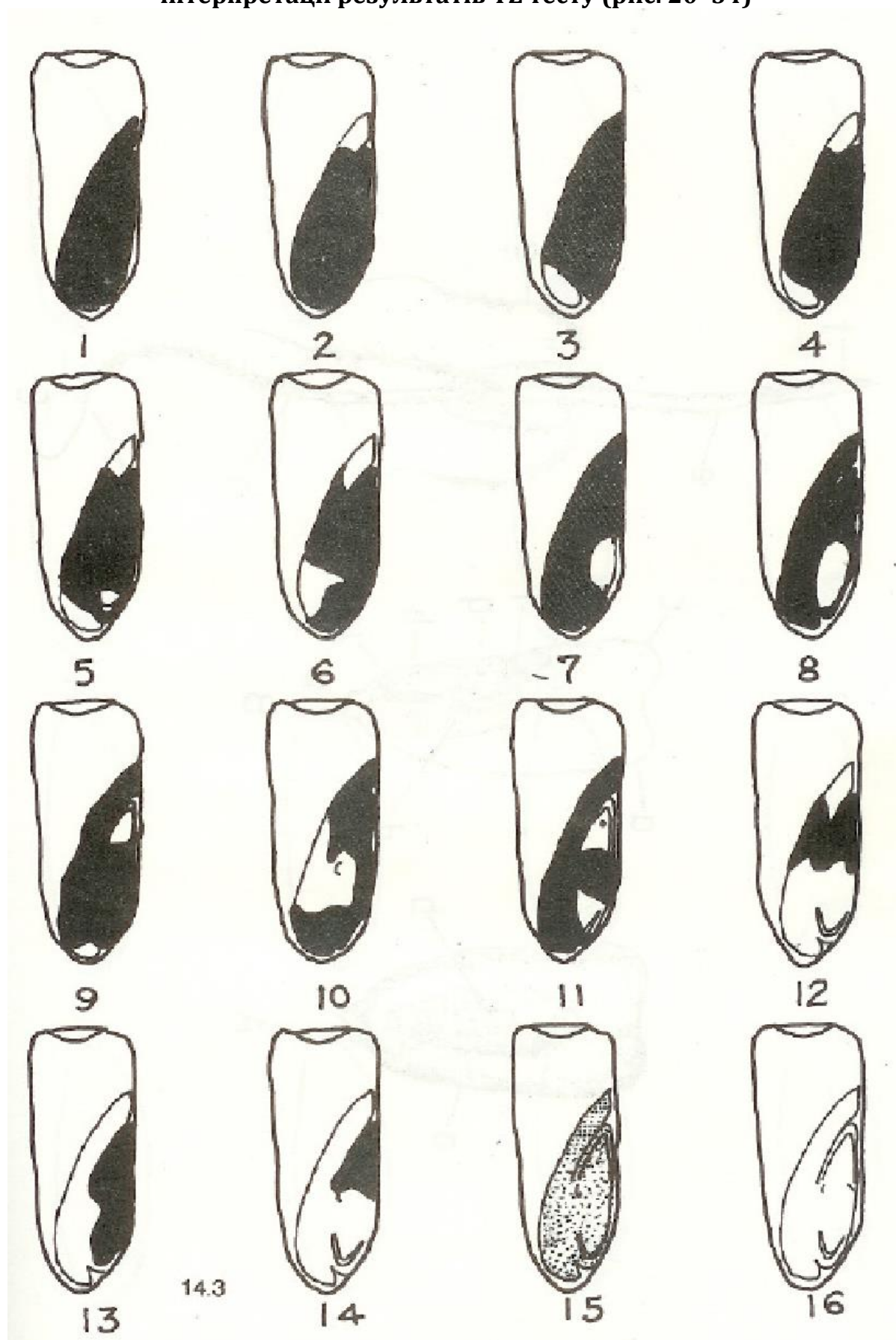


Рис. 20

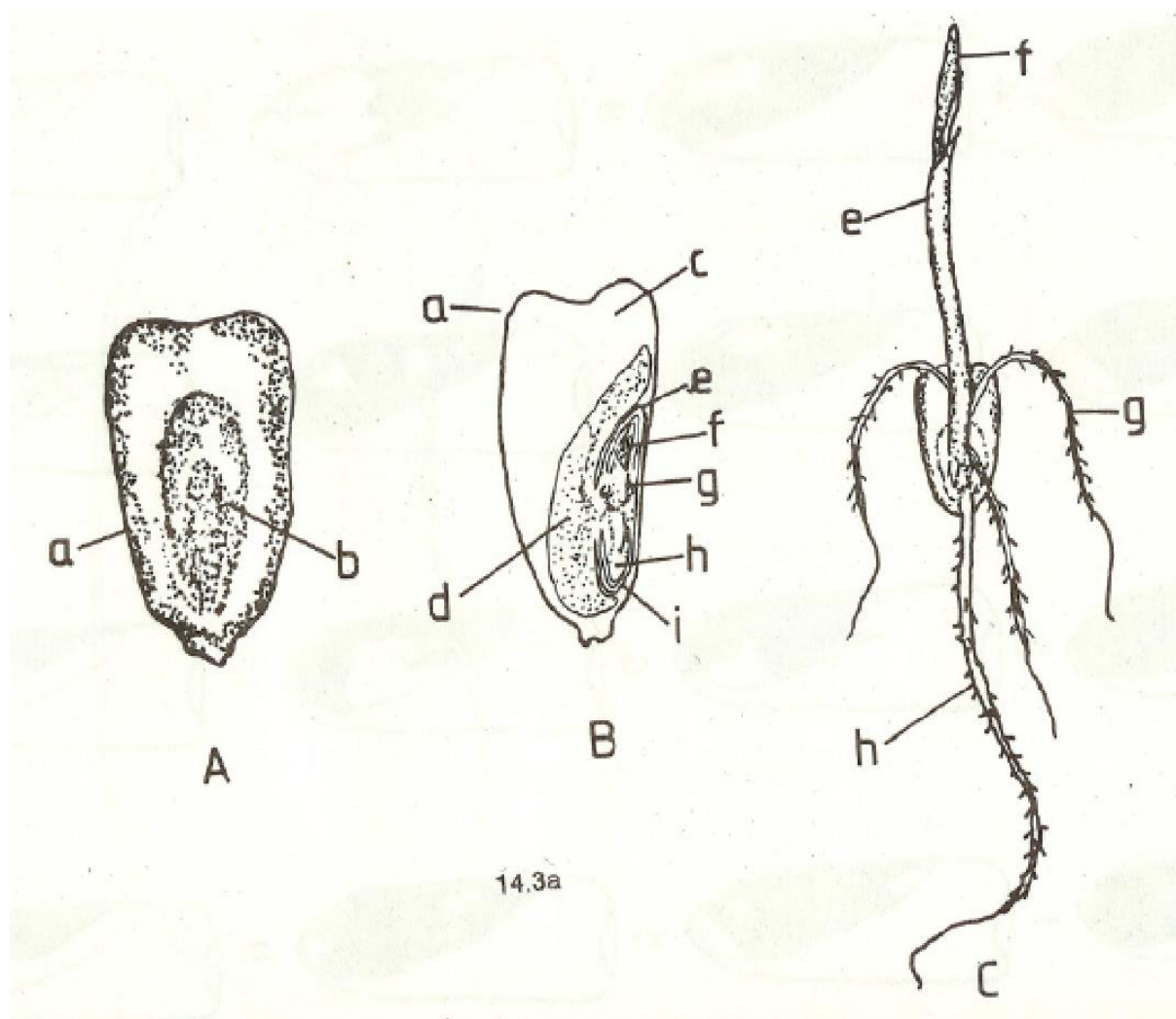


Рис. 21

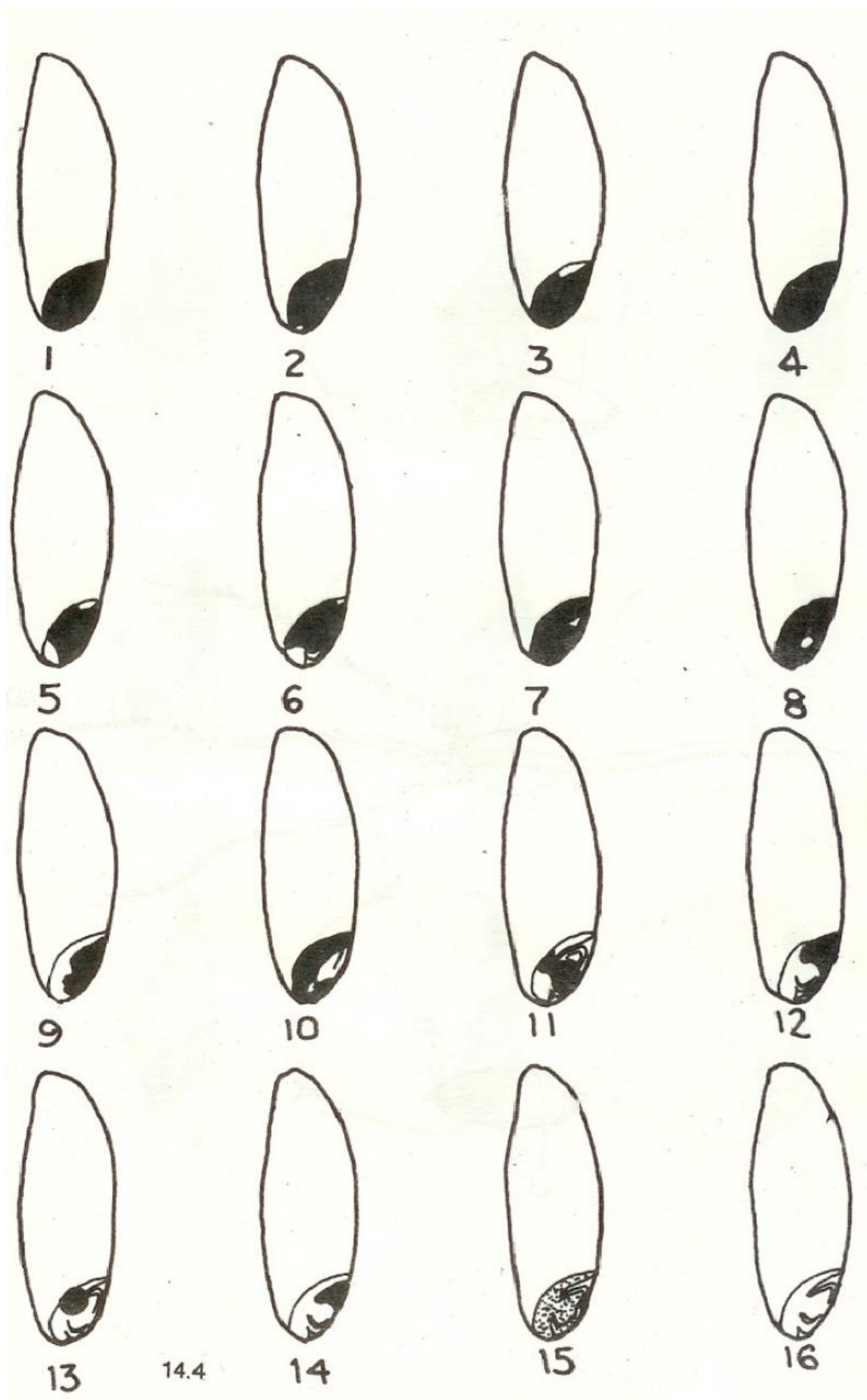


Рис. 22

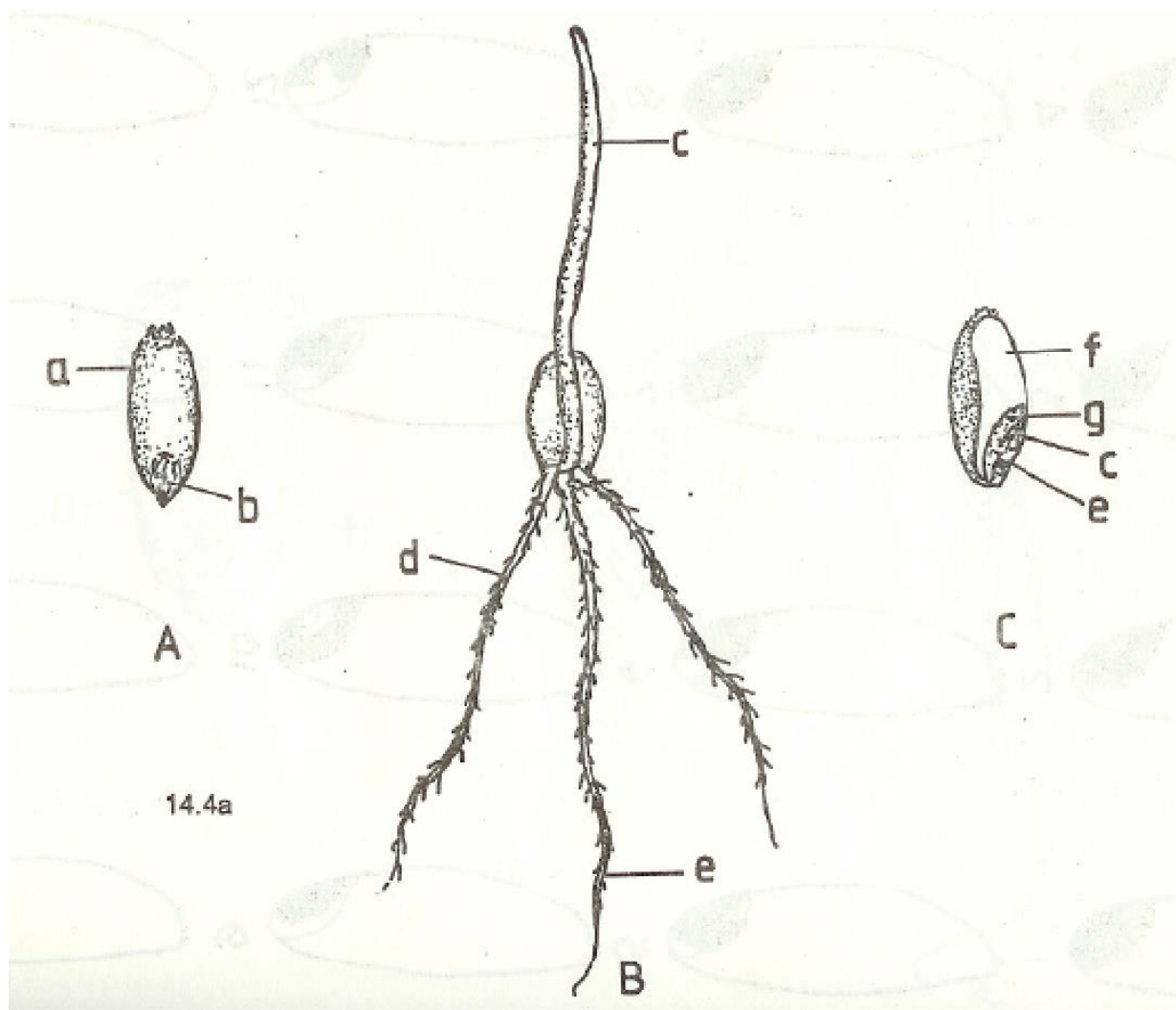


Рис. 23

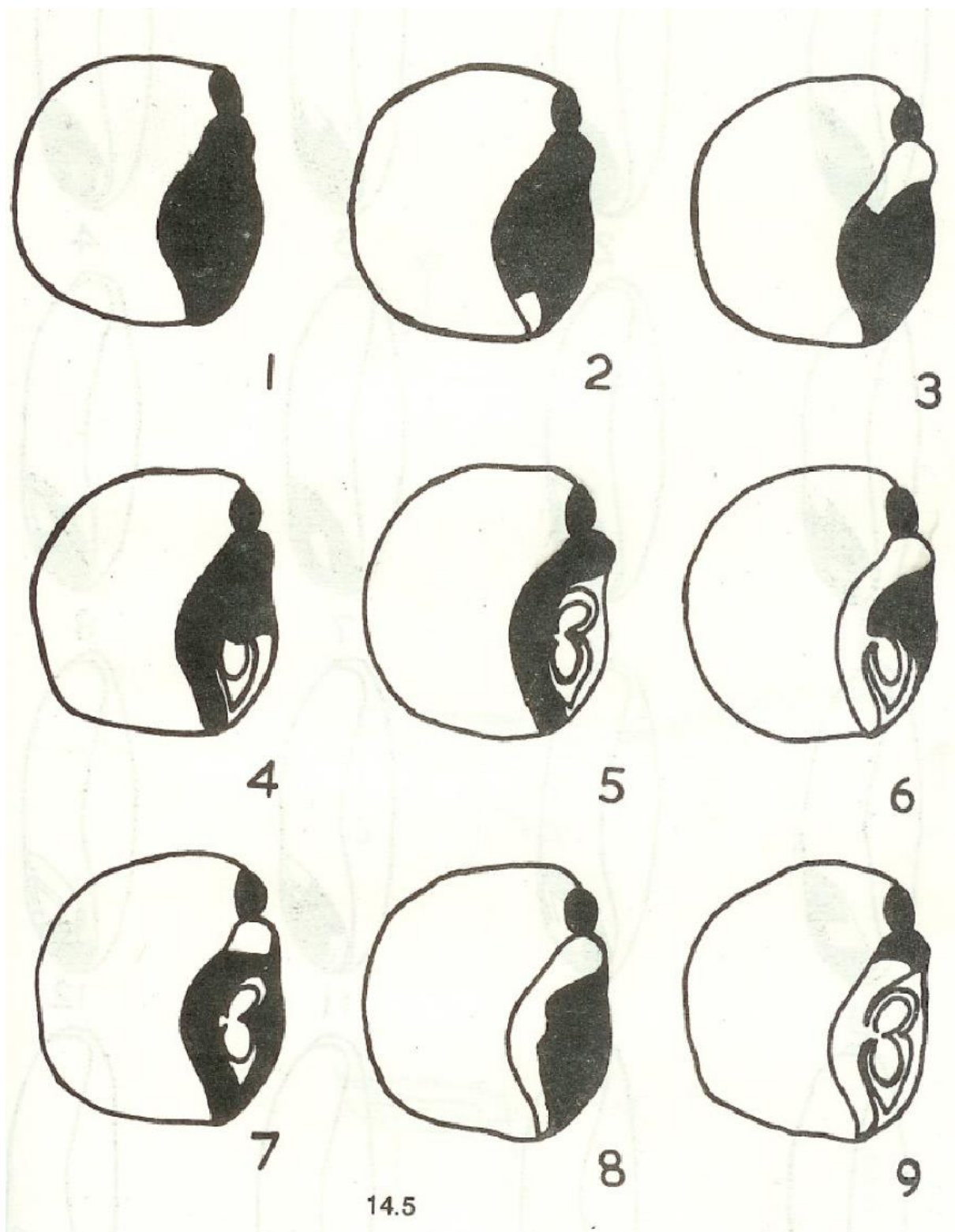


Рис. 24

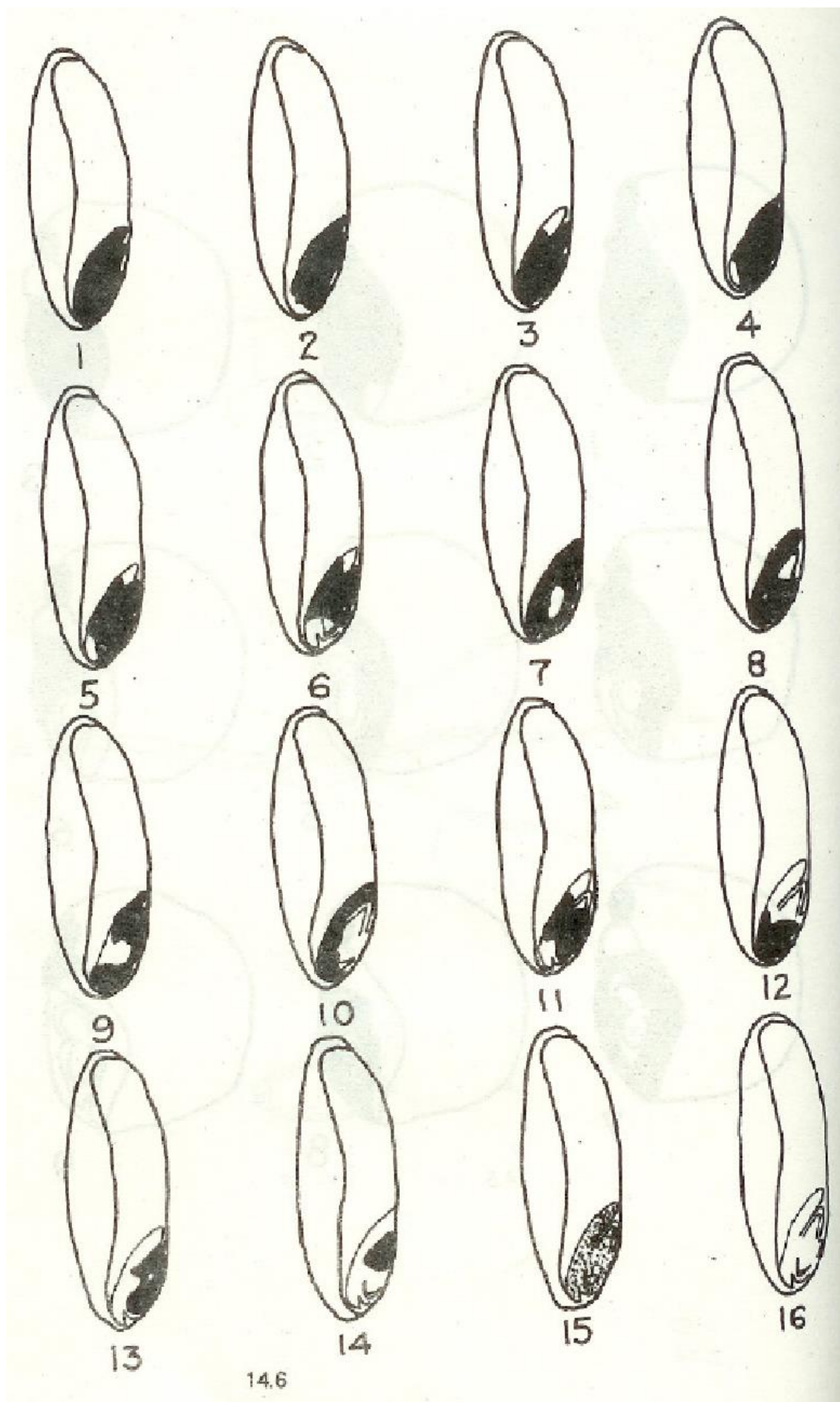


Рис. 25

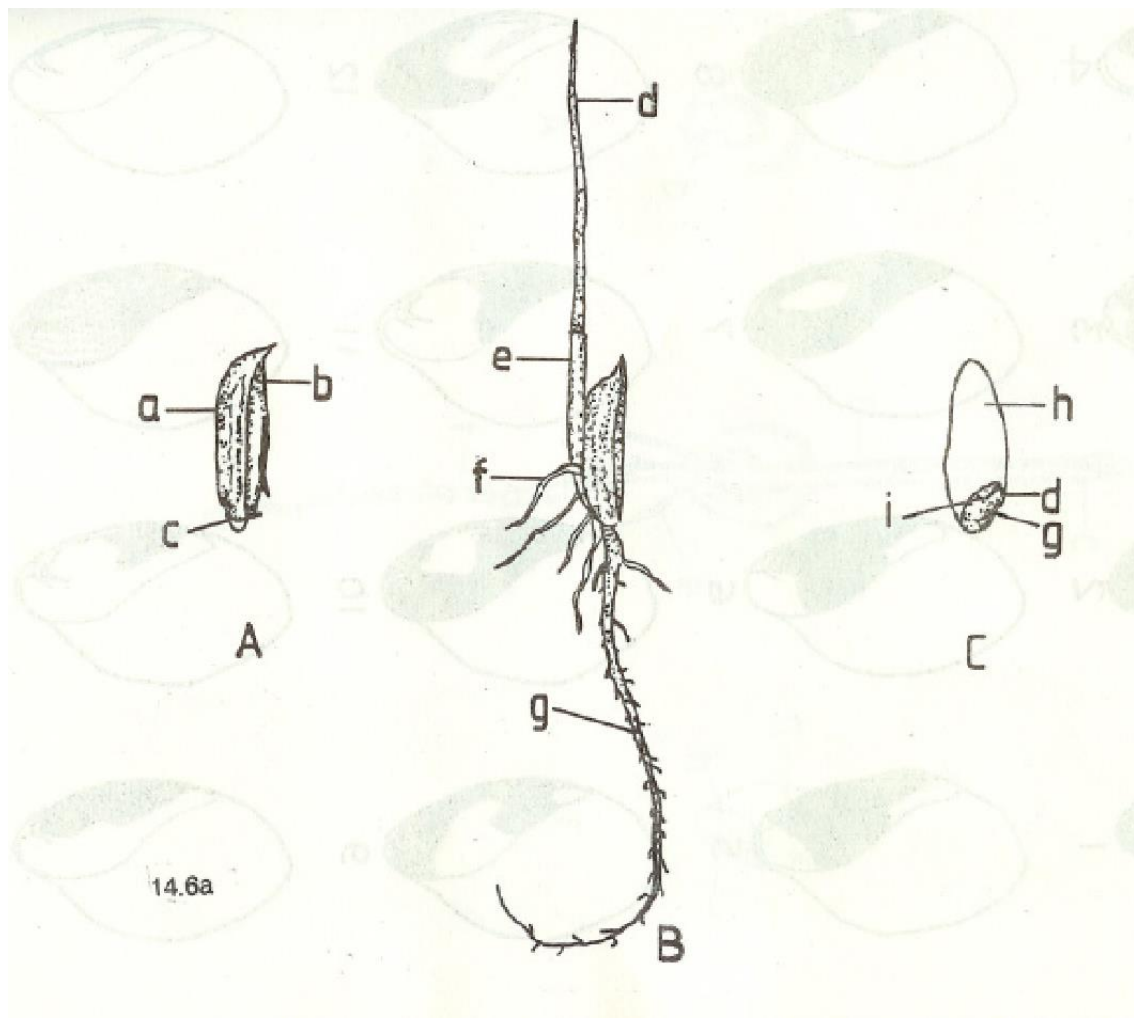


Рис. 26

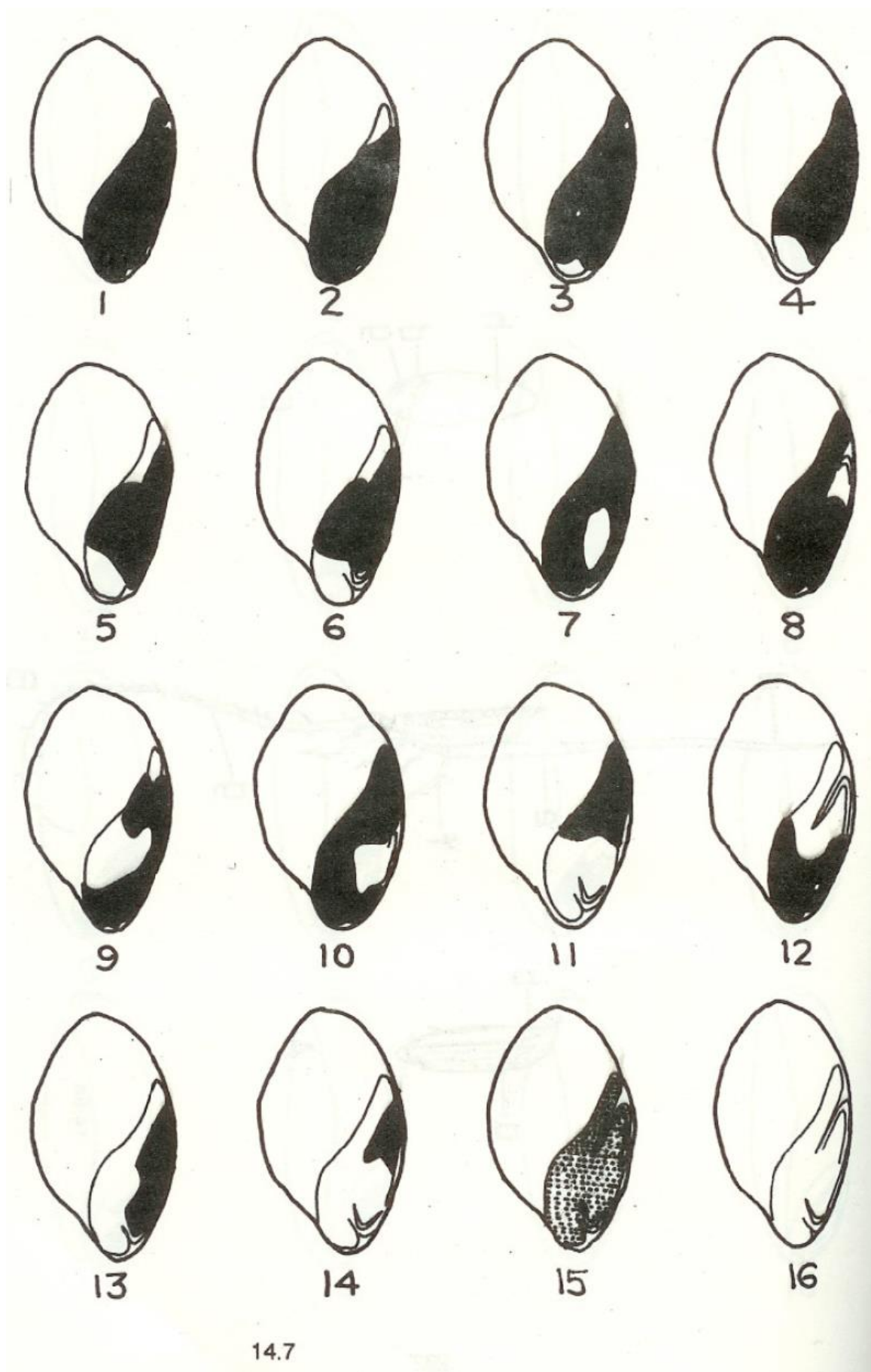


Рис. 27

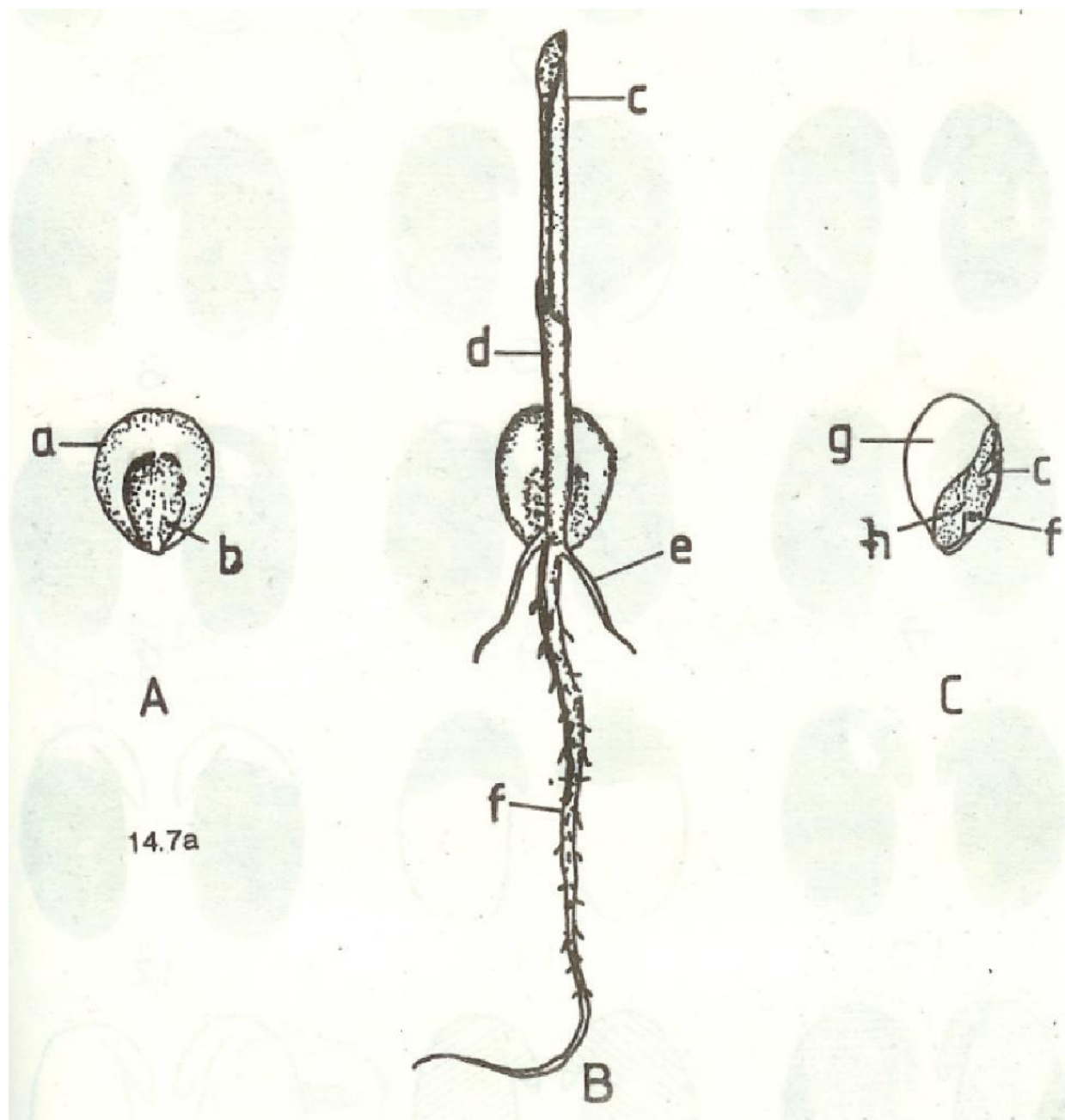


Рис. 28

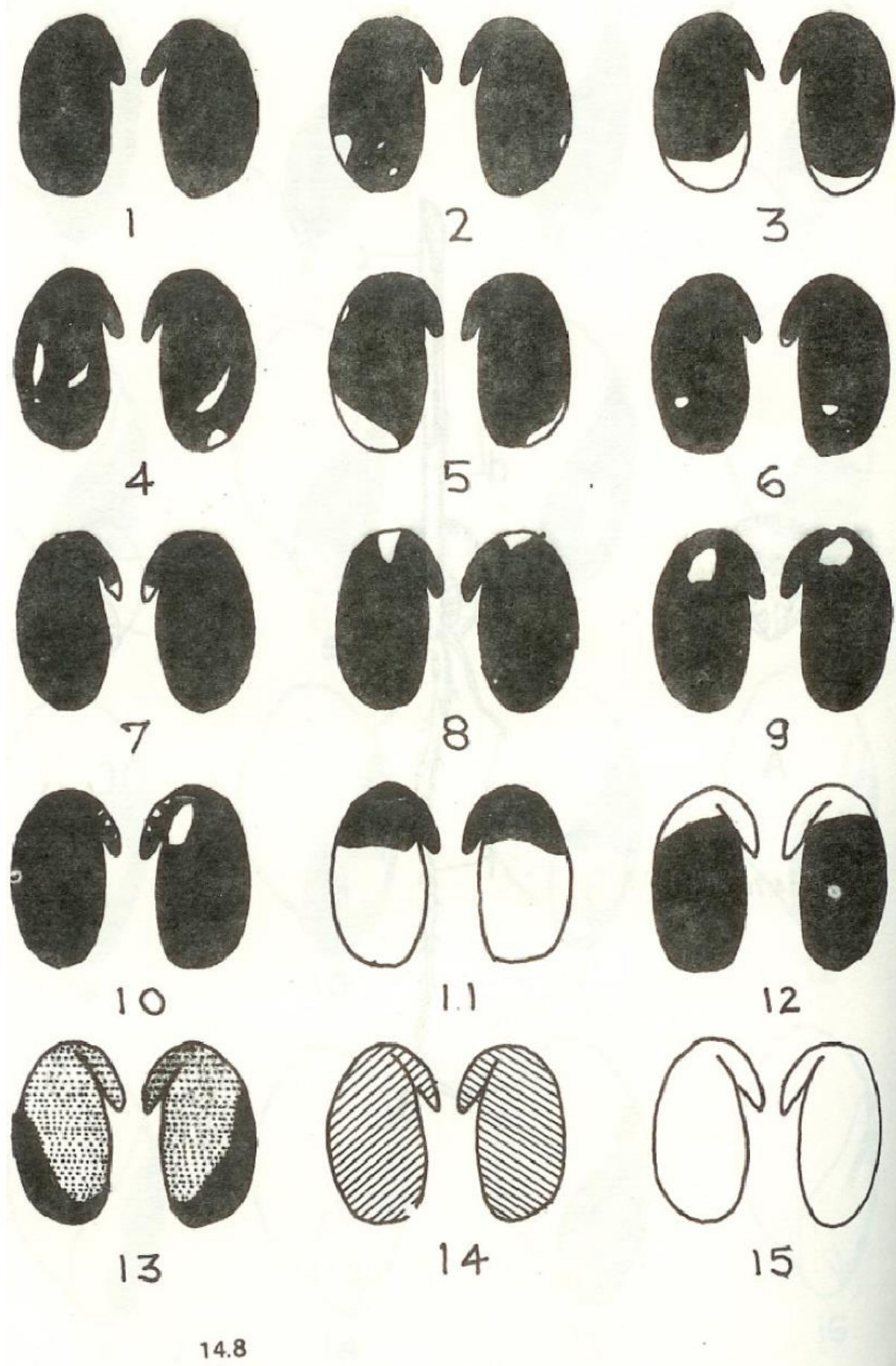


Рис. 29

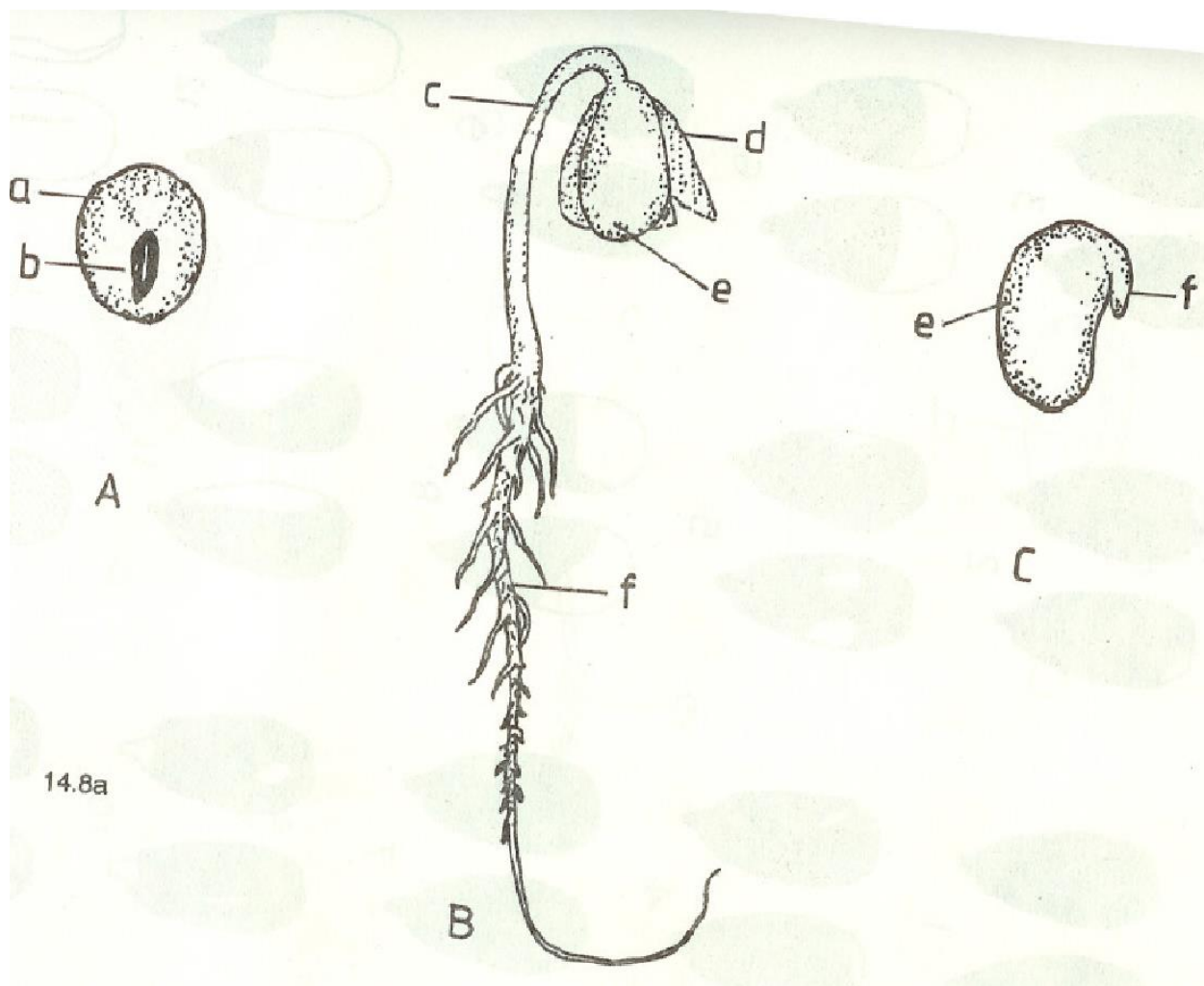


Рис. 30

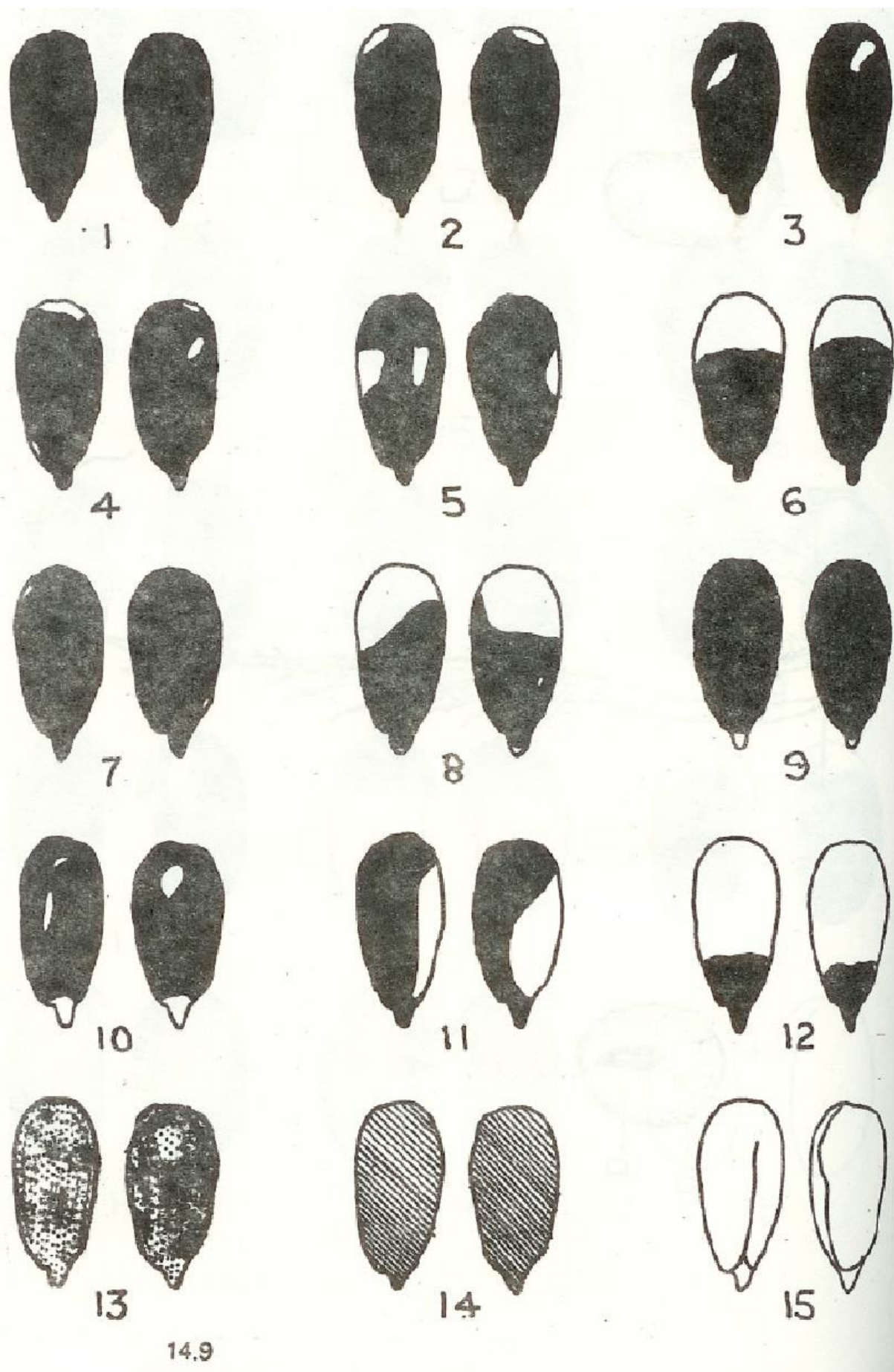


Рис. 31

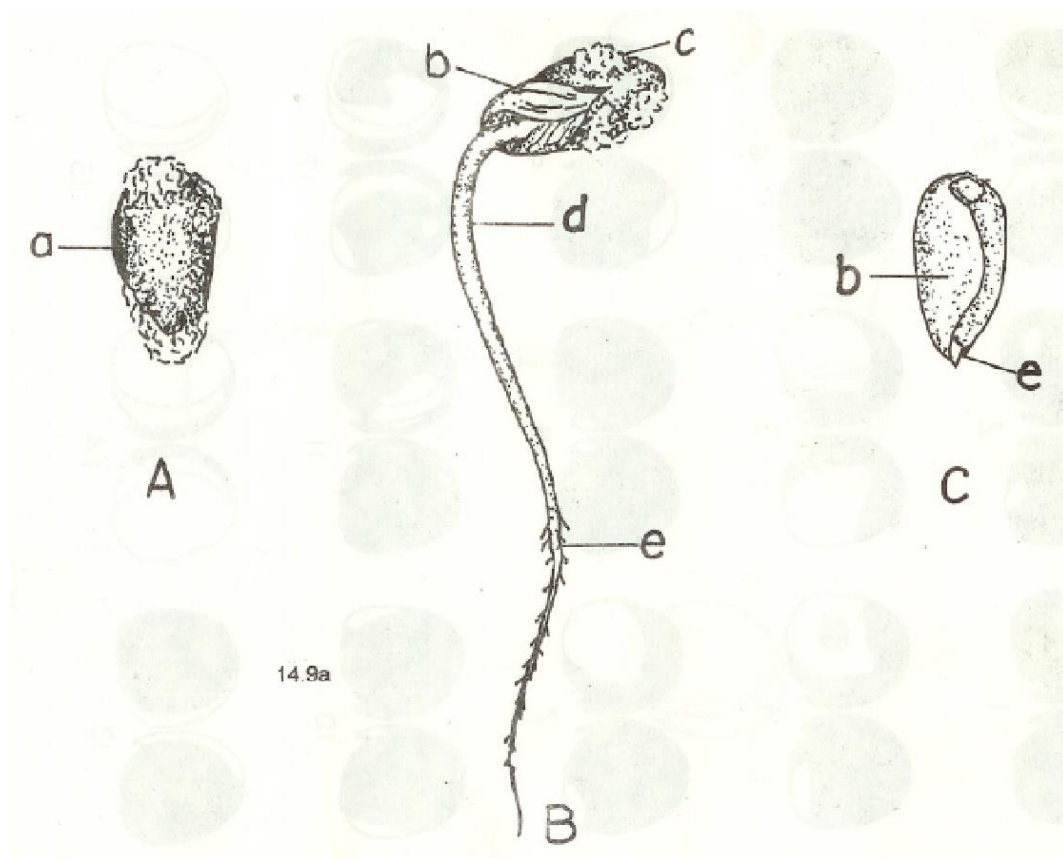
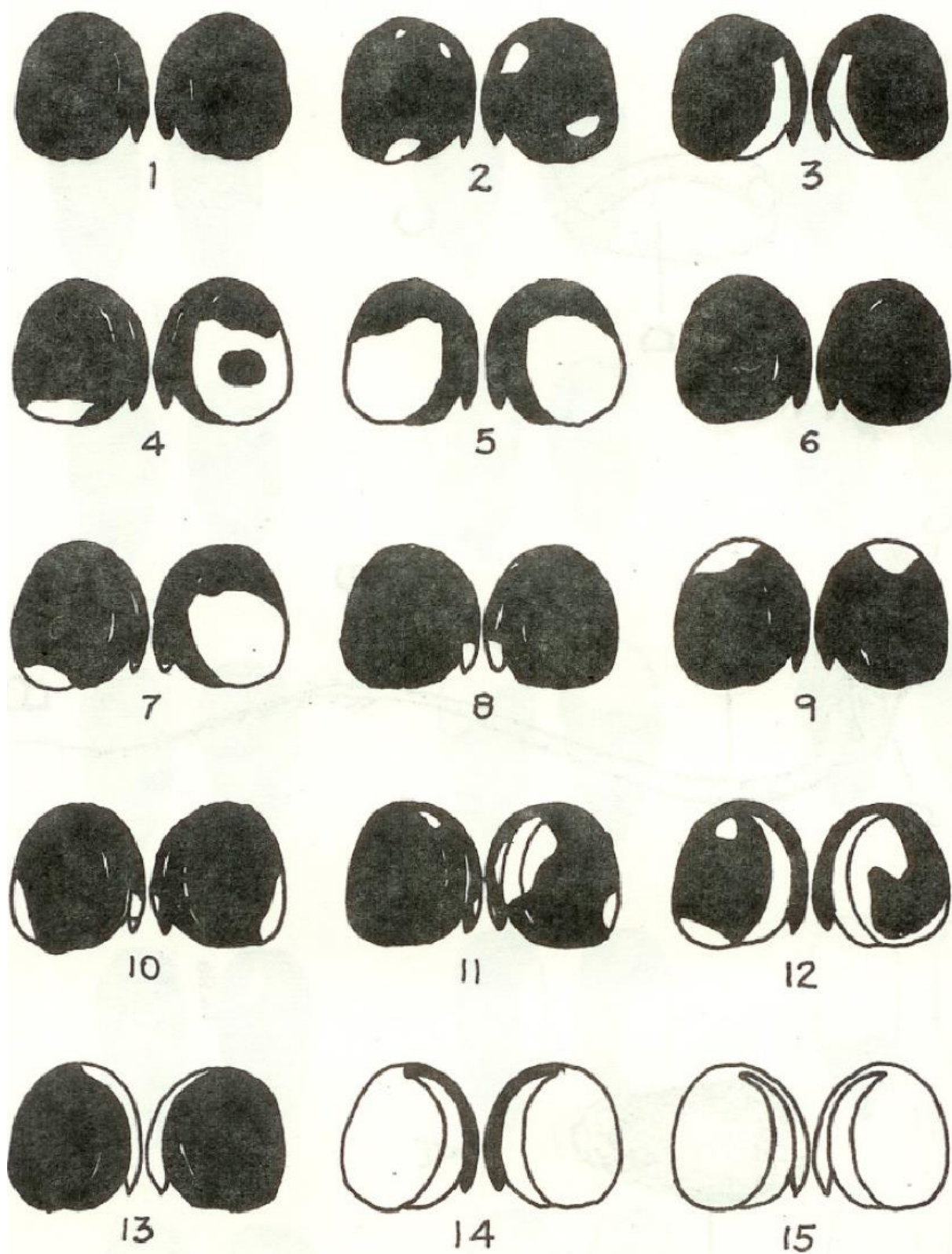


Рис. 32



14.10

Рис. 33

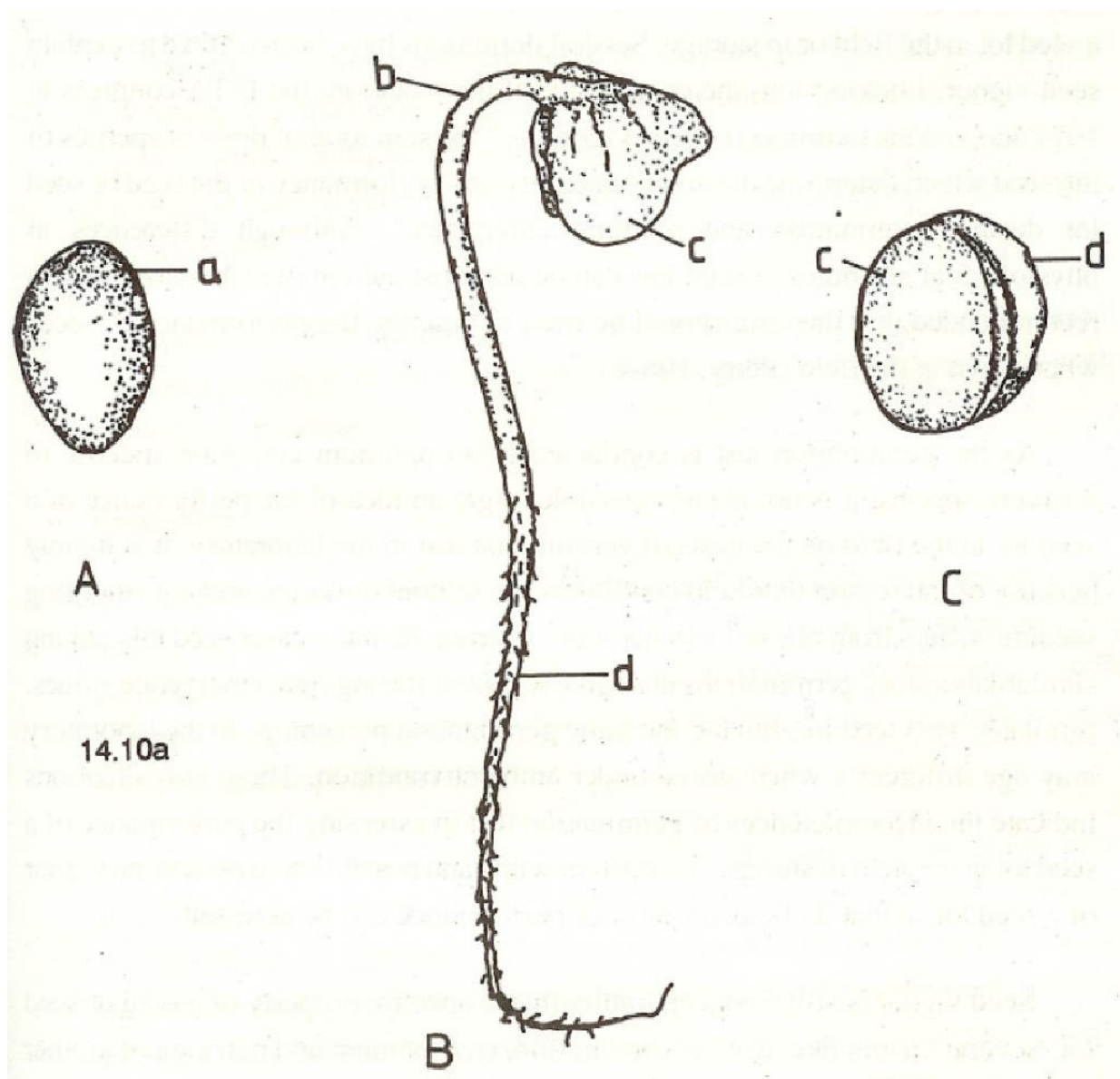


Рис. 34

Розділ 7

СХОЖІСТЬ ТА ЕНЕРГІЯ ПРОРОСТАННЯ НАСІННЯ

Схожість – відсотковий вміст здорового пророслого насіння в пробі, узятій для аналізу.

Енергія проростання характеризує дружність, яку визначають також за відсотком здорового пророслого насіння, але за короткий термін, ніж за визначення схожості.

З наважки насіння основної культури після визначення чистоти відбирають чотири проби по 100 насінин, а для кормових бобів, арахісу і квасолі – по 50 насінин у кожній. Насіння пророщують у ростильнях, чашках Петрі, рулонах фільтрувального паперу, які поміщають в термостат, або в спеціальний апарат типу Якобсона за умов, наведених в ДСТУ 4138-2002, ДСТУ 3657-97, ДСТУ 7018:2009.

Таблиця 6

Умови пророщування насіння

Культура	Ложе	Температура, °C		Освітлення	Термін визначення, діб		Додаткові умови для насіння, що перебуває в стані спокою
		постійна	змінна		енергії проростання	схожості	
1	2	3	4	5	6	7	8
Аніс	НФ	–	20–30	Т	5	14	
Боби	ВП	20	–	Т	4	10	Попереднє охолодження
Вика посівна	НП	20	–	Т	3	7	Ті самі
Гаолян	НП, МФ	25	20–30	Т	4	8	Ті самі
Горох посівний	ВП, НП	20	–	Т	4	8	Ті самі
Гірчиця біла	НФ	20	20–30	Т	3	6	Попереднє охолодження, K ₂ CO ₃
Гірчиця сарептська	НФ	20	20–30	Т	3	6	Ті самі
Гречка посівна	Р, МФ	25	20–30	Т	4	7	Попереднє охолодження
Рицина	НП, Р	25	20–30	Т	4	7	
Коноплі	МФ, НП	20, 25	–	Т	3	7	
Коріандр	Р, НП, МФ	–	20–30	Т	6	15	Пророщування за 10–30 °C впродовж 17 діб, енергія проростання – на 10-ту добу
Кукурудза	НП, Р	25	20–30	Т	4	7	Продовжити термін просушування (3 доби)

1	2	3	4	5	6	7	8
Кунжут	НФ	–	20–30	Т	3	6	
Льон	НФ	20	–	Т	3	7	Попереднє охолодження та прогрівання
Маш	НФ, МФ	20	–	Т	4	10	Попереднє охолодження
Могар	НФ	–	20–30	Т	3	8	
Чорнушка посівна	НФ	20	20–30	С, Т	5	10	
Нут	ВП, НП	20	20–30	Т	3	7	
Овес	ВП, Р, МФ*	20	–	Т	4	7	Попереднє охолодження; РК; попереднє прогрівання
Перила	НФ	–	20–30	Т	4	7	
Соняшник	Р, НП	25	20–30	Т	3	5	Попереднє прогрівання за 30 °С впродовж 10 діб
Полба двозернянка	НП	20	–	Т	4	7	Попереднє охолодження
Просо	Р, МФ	–	20–30	Т	3	7	
Пшениця м'яка	НП, МФ, Р, МФ*	20	–	Т	3	7	Попереднє охолодження та прогрівання, ГК
Пшениця тверда	НП, МФ	20	–	Т	4	8	Ті самі
Ріпак ярий та озимий	НФ	20	20–30	Т	3	7	Світло, попереднє охолодження
Рис	НП, МФ	–	20–30	Т	4	10	Попереднє замочування на 24 год у воді за 40 °С
Жито посівне	НП, МФ, Р, МФ*	20	–	Т	2	7	Попереднє охолодження, попереднє прогрівання, ГК
Рижій	НФ	20	20–30	Т	3	6	
Сафлор	МФ, НП	25	20–30	Т	4	10	Світло, пророщування за 15 °С
Сорго звичайне	НП, Р, МФ	25	20–30	Т	4	8	Попереднє охолодження
Соя	НП, Р	25	20–32	Т	3	7	
Суріпиця яра та озима	НФ	20	20–30	Т	3	7	
Кмин звичайний	НФ	–	20–30	С, Т	7	14	
Тритикале	НП, МФ	20	–	Т	3	7	Попереднє охолодження, попереднє прогрівання
Квасоля звичайна	ВП, НП	20	20–30	Т	4	7	
Фенхель	НФ	–	20–30	С, Т	6	14	
Сочевиця	НП, МФ, Р	20	–	Т	3	7	Попереднє охолодження
Чина посівна	ВП, НП	20	–	Т	3	7	
Чумиза	МФ, НФ	25	20–30	Т	4	10	

1	2	3	4	5	6	7	8
Ячмінь звичайний	ВП, НП, Р, МФ*	20	–	Т	3	7	Попереднє охолодження і прогрівання, ГК

Примітка. НФ – на фільтрувальному папері; МФ – між шарами фільтрувального паперу; МФ* – між шарами фільтрувального паперу з постійним подаванням води; Р – рулони з фільтрувального паперу; Г – гофрований фільтрувальний папір; НП – на піску; С – світло; Т – темрява; ГК – обробка ложка розчином гібереліну; 20; 25 – постійна температура, °С; 20, 30 – змінна температура, °С; 6 год за температури 30 °С і 18 год (за добу) – за 20 °С.

Перед проведенням аналізу термостати та вживані ложка дезінфікують або стерилізують. Для пророщування користуються білим фільтрувальним папером або кварцевим піском. Пісок промивають, прожарюють і просіюють через сито з отворами діаметром 1,0 мм, а фільтрувальний папір стерилізують у сушильній шафі за температури +130 °С впродовж 1 години.

Коли пророщують насіння рису, то пісок зволожують до повної вологості, насіння бобових – до 80%; інших культур – до 60% від повної вологості.

Вологості піску визначають в циліндрі з сітчастим дном заввишки 30 см і діаметром 8 см. На дно циліндра кладуть змочений кружечок (ДСТУ 4138-2002, п. 7.4.4.2) фільтрувального паперу і зважують. Потім циліндр наповнюють на $\frac{3}{4}$ піском із середнього зразка і знову зважують.

Циліндр з піском ставлять в посудину з водою так, щоб вода була на рівні піску. Після того, як вода змочить поверхню піску, циліндр виймають, чекають доки стече вода, промокають знизу і з боків фільтрувальним папером і зважують.

Розрахунок вологості піску виконують за формулою згідно з ДСТУ 4138-2002

$$X=100 (m_2-m_1)/m_1-m \quad (13),$$

де m_1 – маса циліндра з сухим піском, г; m_2 – маса циліндра із зволоженим піском, г; m – маса циліндра з кружечком зволоженого фільтрувального паперу, г.

При використанні піску насіння розкладають на ложі вручну під маркер або лічильник-розкладальник на відстані не менше ніж 0,5–1,5 см одна від одної залежно від їхніх розмірів.

Застосовують два варіанти пророщування. При одному (НП) розкладене насіння трамбівкою вдавлюють у пісок на глибину, рівну його товщині, при цьому ростильні заповнюють піском на $\frac{2}{3}$ їх висоти. При другому варіанті (ВП) в ростильні насипають піску тільки на $\frac{1}{2}$ їх висоти, потім розкладають насіння, вдавлюють його в пісок і покривають згори шаром піску приблизно 0,5 см.

Пророщування на папері (НП) здійснюють, поміщаючи насіння на папір, а пророщування між папером (МП) роблять, покривши розкладене насіння згори одним шаром фільтрувального паперу.

Для пророщування в рулонах (Р) також застосовують два способи. При першому способі на два шари зволоженого фільтрувального паперу розміром 10×100 см (± 2 см) розкладають пробу насіння зародками вниз. Потім насіння накривають зволоженим аркушем фільтрувального паперу такого ж розміру, після чого смуги згортають в рулон і поміщають вертикально в ростильню.

Для насіння соняшнику, сої і рицини застосовують другий спосіб. Для цього аркуш фільтрувального паперу розміром 40×50 см (± 2 см) складають по ширині удвічі та зволожують. Для пророщування насіння рицини використовують додатковий вкладиш розміром 20×50 см (± 2 см). Відігнувши половину зволоженого листа, розкладають на іншій половині пробу насіння на відстані 2,0–2,5 см від верхнього краю листа і внизу на відстані 6,5–7,0 см від відігнутої сторони. Насіння розміщують в чотири ряди в шаховому порядку, накривають відігнутою половиною листа і згортають його в рулон. Рулон ставлять вертикально в посудину, прикривають, залишаючи невеликий отвір для вентиляції.

Для насіння рицини роблять один рулон, а для насіння соняшнику і сої – два по 50 насінин.

Пророщування можна робити на гофрованому (Г) фільтрувальному папері. Для цього два шари паперу завширшки 12 см, завдовжки 100–105 см гофрують так, щоб вийшло по 24–25 складок. Насіння розкладають по 4–5 шт. на кожній складці. Існує також спосіб пророщування насіння між шарами фільтрувального паперу з постійним подаванням води (МВ*). Для цього в ростильню наливають близько 70 см³ води, поміщають П-подібну вставку, на яку укладають один–два шари зволоженого паперу, кінець якого опускають у воду, і розкладають насіння. Згори накривають зволоженим аркушем фільтрувального паперу, на який поміщають скляну (пластмасову, металеву) пластину масою 115–150 г, розмірами, які співпадають з розмірами ложа, залишивши отвір завширшки 1–2 мм для вентиляції.

В процесі пророщування 3 рази впродовж дня перевіряють температуру в термостатах, перевіряють стан зволоження ложа, не допускаючи підсихання або перезволоження. Контролюють рівень води в апаратах типу Якобсона, який має бути

нижчий від ложа на 1,5–2,0 см. Освітлення насіння, яке пророщується на світлі, підтримують не менше 8 год на добу з інтенсивністю не менше 250 лк, а насіння в стані спокою – 750–1259 лк. При змінних температурах насіння, що пророщується за високої температури, освітлюють. Стежать за вентиляцією термостатів, через 3–5 діб замінюють воду на піддоні термостата.

Якщо термін пророщування більше 10 днів, проводять проміжний підрахунок пророслого насіння між визначенням енергії проростання і схожості. День закладання насіння на схожість і день підрахунку енергії проростання або схожості рахують за одну добу.

При визначенні енергії проростання після підрахунку видаляють здорове проросле і явно загниле насіння.

Визначаючи схожість, окремо враховують здорове проросле, набрякле, тверде, таке, що загнило.

У жита, пшениці і кукурудзи схожим вважають насіння, що має нормально розвинені корінці (чи один головний корінець у кукурудзи), розміром не менше довжини насінини і паросток не менше половини довжини насінини; у ячменю і вівса – нормально розвинені корінці або один головний корінець розміром не менше довжини насінини; у соняшнику і ріпаци – один добре розвинений, опушений корінець, розмір якого разом з підсім'ядольним коліном не менше довжини насінини, а сім'ядолі легко звільняються від плодових і насіннєвих оболонок. Для усіх інших культур схожим вважають насіння з добре розвиненим корінцем розміром не менше довжини насінини, а у насіння круглої форми – не менше діаметру насінини.

Проростки з невеликими дефектами, які, загалом, відносять до здорового пророслого насіння:

з незначним поверхневим ушкодженням основних органів проростка, яке не зачіпає провідні тканини; з пошкодженим головним зародковим корінцем, але з досить розвиненими декількома додатковими або бічними корінцями у кукурудзи, соняшнику і крупнонасінних бобових; з однією сім'ядолею або незначним (не більше 1/3) ушкодженням верхніх частин обох сім'ядоль, без ушкодження верхівкової брунечки у дводольних рослин; з добре розвиненими органами, але загнелими в місцях зіткнення з великими проростками або насінням.

До несхожого насіння відносять: 1) набрякле, яке до моменту кінцевого підрахунку схожості не проросло, але має здоровий вигляд і при натисканні пінцетом не роздавлюється; 2) насіння, що загнило – з м'яким ендоспермом, що розклався, із загнилим зародком і сім'ядолями, з почорнілим зародком, з корінцями, що частково або повністю загнили; 3) тверде насіння, яке до встановленого терміну визначення схожості залишилося не набряклим і не змінило зовнішнього вигляду; 4) ненормально проросле насіння – з потворними паростками або корінцями, або у якого за наявності паростка відсутні корінці; з двома обламаними сім'ядолями (у конюшини, люцерни); 5) має водянисті або ниткоподібні корінці без волосків; 6) має корінці зі здуттям і до часу підрахунку схожості додаткових корінців, що не розвинулися; 7) проростки, корінці або паростки мають тріщини і перехоплення, які досягають провідних тканин; 8) проростки мають збільшені сім'ядолі й укорочені корінці.

Ненормально проросле насіння не має зародкових корінців або їх менше встановленої норми, або вони короткі, такі, що припинили зростання, слабкі, спіральні закручені, водянисті; головний зародковий корінець укорочений, зі здуттям, який зупинився в рості, довгий, ниткоподібний, веретеноподібний; має поздовжню тріщину або ушкодження, що зачіпає провідні тканини, водянистий, роздвоєний, подвійний (у конопель), сегментований (у соняшнику, рицини); колеоптиле порожнє, має тріщину, коротше за листя, деформоване або взагалі відсутнє. Первинні листочки займають менше половини колеоптилю або знебарвлені; роздроблені або поздовжньо розщеплені, веретеноподібні, водянисті, зазвичай з короткими або такими, що припинили зростання, зародковими корінцями. Брунечка загнила або відсутня. Гіпокотиль короткий і потовщений, скручений, зігнутий, водянистий, сегментований, з перетяжкою або з відкритою тріщиною, що зачіпає провідні тканини. Епикотиль короткий і потовщений, скручений, з перетяжкою, відкритою тріщиною, що зачіпає провідні тканини; обидві сім'ядолі втрачені більш ніж на $1/8$ або повністю, ненормально збільшені при укороченому коліні.

При визначенні схожості й енергії проростання насіння на його поверхні можуть розвиватися цвілеві гриби. Відсоток ураження насіння цвілевими грибами встановлюють візуально по чотирьох пробах, а ступінь ураження визначають відповідно до даних, приведених нижче.

Визначення ступеня ураженості

Ступінь ураження насіння	Насіння, вкрите цвілевими (пліснявими) грибами, %
Слабкий	до 5
Середній	до 25
Сильний	більше 25

При визначенні схожості свіжозібраного насіння, що не пройшло періоду спокою, застосовують декілька способів для зняття стану спокою.

Попереднє охолодження. Насіння пшениці, ячменю, вівса, льону, гороху, вики і соняшнику пророщують при знижених температурах (+8–12 °C) впродовж терміну, відведеного для обліку енергії проростання, а потім продовжують пророщування при звичайних температурах. Енергію проростання визначають на 2 доби пізніше встановленого терміну або у звичайний.

Коли після визначення схожості насіння залишаються набряклі, але не загнили насінини, то пророщування продовжують ще на 3 доби.

Попереднє прогрівання. Насіння прогривають у відкритих бюксах або чашках Петрі, в яких його розміщують шаром не більше 2 см, при температурі +30 °C впродовж 3–5 діб для зернових культур, соняшник – 7 діб, соя – 16–18 годин. Потім насіння пророщують звичайним способом, прийнятим для цієї культури.

Попереднє промивання. Насіння промивають 2–3 хв водою кімнатної температури. Обсушують фільтрувальним папером і закладають для пророщування. Обробка насіння розчином гібереліну (ГК). Гіберелін готують концентрацією від 200 до 1000 мг в 1 дм³, розчиняють в 2–5 мл спирту і доливають водою. Концентрацію гібереліну підбирають залежно від стану спокою насіння. Пророщування проводять при температурі +10 і +15 °C. Якщо проростання йде повільно, його продовжують до 5 діб. Пророщування на світлі ведуть з інтенсивністю освітлення не менше 750–1250 лк і не менше 8 год на добу.

Насіння вівса і ячменю після втискування в пісок прикривають для ущільнення пластиною (скляною, пластмасовою, металевою) масою 115–150 г. Подвійну зернівку вівса рахують за одну насінину.

Насіння пшениці, ячменю, вівса після попереднього прогрівання можна пророщувати в умовах з попереднім охолодженням.

Насіння рису пророщують з попереднім замочуванням протягом доби у воді при температурі +20 °С.

Насіння кукурудзи за допомогою трамбування вдавлюють в пісок зародком вниз на глибину знаходження насіння. При пророщуванні в рулонах насіння кукурудзи розкладають також зародком вниз.

У олійних та ефіроолійних культур подвійний плодик коріандру і соняшнику рахують за один. Насіння анісу, кмину, фенхелю пророщують між шарами фільтрувального паперу з постійним подаванням води.

Насіння соняшнику і рицини при пророщуванні на піску вдавлюють не на всю довжину: соняшник гострим кінцем вниз, а рицину карункують.

Схожість і енергію проростання обчислюють у відсотках як середнє арифметичне результатів 4 проб.

Нижче наведені відхилення, що допускаються, при визначенні схожості і енергії проростання, якщо в пробі знаходилося 100 насінин (табл. 8).

Таблиця 8

Відхилення, що допускаються, під час визначення схожості та енергії проростання

Середнє арифметичне значення схожості, %	Допустимі відхилення результатів аналізу окремих проб від середнього для аналізу 4×100 насінин, %
99 або 1	-2
від 97 до 98 або від 2 до 3	±3
від 95 до 96 або від 4 до 5	±4
від 92 до 94 або від 6 до 8	±5
від 88 до 91 або від 9 до 12	±6
від 83 до 87 або від 13 до 17	±7
від 75 до 82 або від 18 до 25	±8
від 62 до 74 або від 26 до 38	±9
39 або 62	±10

У табл. 9 наведені відхилення, що допускаються, для проб із 50 насінин і для аналізів сумішей насіння.

Якщо в одній пробі відхилення за результатами схожості відрізняються від допустимих норм, схожість розраховують за результатами трьох проб.

Аналіз повторюють, якщо результати двох проб відхиляються від встановлених норм і, якщо схожість насіння нижча граничної норми, встановленої стандартом, але відрізняється від неї не більше ніж на 5%.

Якщо після проведення повторного визначення за межі відхилень, що допускаються, виходять результати двох проб або схожість виявилася некондиційною, розрахунки виконують за вісьмома пробами.

Таблиця 9

Відхилення, що допускаються, під час аналізу 50 насінин і для сумішей насіння

Середнє арифметичне значення схожості, %	Відхилення результатів аналізу окремих проб від середнього, що допускаються, % (для аналізу 4×50 насінин)	Розбіжності, що допускаються між результатами аналізу двох проб, % (для аналізу сумішей насіння)
99 чи 1	-2	2
98 чи 2	±4	4
97 чи 3	±5	5
від 95 до 96 або від 4 до 5	±6	6
від 93 до 94 або від 6 до 7	±7	7
від 90 до 92 або від 8 до 10	±8	8
від 88 до 89 або від 11 до 12	±9	9
від 84 до 87 або від 13 до 16	±10	10
від 79 до 83 або від 17 до 21	±11	11
від 74 до 78 або від 22 до 26	±12	12
від 65 до 73 або від 27 до 35	±13	13
від 36 до 64	±14	14

Якщо при повторному визначенні схожість виявилася кондиційною, то розрахунок ведуть за даними останнього визначення.

При розбіжності результатів аналізу двох проб на величину, що перевищує допустимі відхилення, аналізи повторюють. Якщо при повторному визначенні (при аналізі двох проб) розбіжності не перевищують допустимих відхилень, то за кінцевий результат приймають дані повторного визначення. У випадку, коли дані повторного визначення мають відхилення норм вище допустимих, або некондиційності насіння, кінцеві результати розраховують за даними двох визначень, тобто по чотирьох пробах.

Відсоток пророслого і непророслого насіння обчислюють з точністю до другого десяткового знаку.

У документах про якість результатів схожості та енергії проростання вказують з точністю до 1%.

Розділ 8

РЕКОМЕНДАЦІЇ З ВИКОРИСТАННЯ ПРОТРУЙНИКІВ

У процесі філогенезу насіння із загально біологічного погляду є найбільш гармонізованим біологічним об'єктом, який не потребує додаткового поліпшення. В онтогенезі формування насіння проходить під впливом комплексу біотичних та абіотичних чинників. Це призводить до значної біологічної «деформації» насіння, зокрема запалу, захоплення, зменшення його маси, натурної маси тощо, збільшення внутрішнього та зовнішнього інфікування патогенною мікрофлорою. Все це призводить до погіршення насіннєвих якостей та зменшення польової схожості, нерівномірності та ураженості сходів.

Встановлено, що до 60% хвороб зернових трансформується з насіння. Тому обов'язковими заходами підготовки насіннєвого матеріалу є його очищення, сортування, протруювання, обробка стимуляторами росту, мікроелементами тощо. На сьогодні чітко не розроблено критеріїв для вибору протруйників, стимуляторів росту, мікроелементів залежно від стану насіння. Особливо це актуально для протруювання. Відомо багато випадків, коли цитотоксичне навантаження протруювачів значно перевищує рівень інфікування насіння, що реалізується у необґрунтованому зменшенні польової схожості, отриманні слабких та нерівномірних сходів. Головною причиною цього є відсутність характеристики ступеня інфікування насіння збудником тієї чи іншої хвороби або комплексом збудників. Особливо актуальні такі дослідження для органічного землеробства, за якого використання хімічних протруйників неприпустиме, а також не допускається використання хімічних засобів захисту рослин.

Від підготовки насіннєвого матеріалу залежить старт у технологічному процесі вирощування врожаю, особливо це стосується органічних технологій. Для вивчення ураження насіння збудниками хвороб та впливу екологічних чинників протягом 2011–2020 рр. було проведено понад 19 тис. аналізів насіння пшениці озимої, ячменю озимого та ярого (табл. 10).

Характеристика насіннєвого матеріалу зернових колосових у зоні Південного Степу України та ступінь впливу агротехнічних заходів (узагальнені результати за 2011–2020 рр.)

Інфекційна хвороба та екологічні ураження насіння, ступінь впливу агротехнічних заходів	Ступінь ураження хворобами, %	Реалізація в польових умовах, %
Сажка	0,7–1,2	
Фузаріоз	0,2–2,8	
Альтернаріоз	8,0–27,0	
Гельмінтоспоріоз	6,0–12,0	
Загальна інфікованість насіння	14–42	40
Вірогідність реалізації насіннєвих хвороб у польових умовах	12–18	8,0
Вірогідність збільшення інфікованих сходів під впливом ґрунтової інфекції	12–16	1,2
Сумарна інфікованість сходів		9,2
Вірогідність зменшення інфікованих сходів під впливом засобів захисту	19–40	2,7
Очікувана (польова) інфікованість сходів		6,5
Ступінь екологічної деформації насіння		25–35
Можливість покращення екологічних деформацій насіння		12–14

Домінуючими хворобами насіння зернових колосових у зоні Південного Степу є альтернаріоз та гельмінтоспоріоз. Рівень інфікування насіння альтернаріозом становив 8–27%, гельмінтоспоріозом – 6–12%. Енергія зростання та схожість насіння описується рівняннями регресії, які розроблено на підставі результатів двохфакторного покрокового регресійного аналізу

$$SE = 110,988 - 4,4362 \cdot Al - 1,0242 \cdot He \quad (14),$$

$$SV = 96,7682 - 0,322119 \cdot Al \cdot He \quad (15),$$

де SE – енергія зростання насіння, %;

SV – схожість насіння;

He – ураженість насіння гельмінтоспоріозом, %;

Al – ураженість насіння альтернаріозом, %.

З рівнянь (14) і (15) випливає, що співвідношення інфікування насіння альтернаріозом та гельмінтоспоріозом становить 4,44 і 0,32. Ступінь верифікації рівнянь – 0,67 і 0,72, а коефіцієнт детермінації – 0,45 і 0,52.

Сумарний рівень інфікування насіння становить 14–42%. Польовими дослідями встановлено, що вірогідність реалізації у польових умовах інфекції насіння становить 12–18%. Лабораторними та багаторічними польовими дослідями визначено, що

засобами захисту можливо зменшити ураженість насіння хворобами на 19–40%. Очікуване інфікування сходів в умовах дослідів за песимістичного прогнозу не перевищує 7–9%. Дослідженнями встановлено, що під впливом протруювачів за оптимістичного сценарію інфікування може знизитись до 6,5%. Все це може стати результатом істотного покращення технологічного рівня вирощування сільськогосподарських культур в Україні. Підтвердженням цього є рівень врожайності у виробництві та значне збільшення експорту зерна.

Протруйники необхідно застосовувати залежно від рівня патогенного навантаження на насіння за результатами фітопатологічного аналізу. У зв'язку з цим розроблено методи застосування комплексу біопрепаратів для контролю шкідливої біоти (табл. 11, 12).

Максимально обґрунтоване використання традиційних хімічних протруйників повинно коливатися в межах 17–22%. Ці межі дещо збільшені за рахунок додаткового використання інсектицидних компонентів. Об'єктивно можливе збільшення інсектицидної частини за рахунок додаткового використання інсектицидних препаратів при протруюванні насіння. Дослідженнями встановлено, що у 70–75% фітотоксичність хімічних протруйників значно перевищує існуючий інфекційний.

Таблиця 11

Застосування протруйників залежно від рівня інфікування насіння сажкою

Сажка	
Ступінь ураження насіння	Протруйник
Низький	Хелафіт – насіння, Планриз, Гаупсін, Гумат калію, Колфуго-супер, Колфуго-супер колор
Менше середнього	Хелафіт – насіння, Триходермин, Гумат калію мікроелементи на хелатній основі (трилон Б), Фундазол
Середній	Хелафіт – насіння, Фітоспорин, Гумат калію мікроелементи на хелатній основі(солі ИМК), Байтан-універсал, Колфуго-дуپлет
Високий	Віал Траст, Дивіденд, Дивіденд-Стар, Раксил
Дуже високий	Витарос, Вітавакс ФФ 200, Фенорам-супер
Якщо на поверхні насіння більше 2000 спор сажки, то насіннєвий матеріал бракують	

До того ж, у зоні Степу домінує альтернаріозне та гельмінтоспоріозне інфікування насіння, по відношенню до якого ефективність протруйників часто недостатньо висока.

Оцінюючи в цілому хімічні протруйники, слід вказати, що переважна частина їх синтезована в Західній Європі (незалежно від виробника), а їхні функціональні властивості орієнтовані на властиві цій зоні мішені (патогени). Провідними серед них є сажка та фузаріоз колосу.

Таблиця 12

**Застосування протруйників залежно від рівня ураження насіння
гельмінтоспориозом та альтернаріозом**

Коренева гниль (гельмінтоспориоз), альтернаріоз	
Ступінь ураження насіння	Протруйник
Низький	Як профілактику – Хелафіт – насіння, Планриз, Гаупсин, Гумат калію або Премис, Премис 200, Суми-8
Середній	Хелафіт – насіння, Триходермін, Гумат калію, Хелафіт, мікроелементи на хелатній основі або Колфуго-дуплет, Раксил
Високий	Хелафіт – насіння, Фітоспорин, Гумат калію, Хелафіт, мікроелементи на хелатній основі (солі ИМК) або Фундазол, Вітавакс ФФ 200, Раксил-Т
Дуже високий	Віал

Експериментально доведено й теоретично обґрунтовано доцільність розширення використання біологічних засобів захисту насінневого матеріалу. Головною метою є підвищення продуктивного потенціалу насіння за рахунок заходів, які гармонізують специфічний імунітет та підвищують неспецифічний у період закладання ризосферного та фотосинтетичного потенціалу. Тобто, завдання протруювання насіння формально звужується у зв'язку з існуючим рівнем інфікування насіння та об'єктивно розширюється необхідністю збільшення його адаптивного потенціалу. У формалізованому вигляді це означає необхідність прямої чи загальної імунізації насіння. Створення спеціальних антибіотиків наразі є адміністративно неможливим. У ролі імунізаторів на цьому етапі застосовується передпосівна обробка насіння 50–65% росто- та імуностимулювальними препаратами (гумат калію, хелафіт, імуноцитوفіт, марс, комплекси хелатних добрив та ін.). Використання цих препаратів розширює можливість реалізації неспецифічного імунітету, специфічної імунності, гарантує обмеження використання хімічних пестицидів до 75% і втрати врожаю. Вірогідність збільшення врожайності на 0,2–0,3 т/га становить 60–70%. Препарати мікробіологічного походження стимулюють енергію проростання (на 2–6%), схожість (на 2–5%) та розвиток сходів рослин пшениці й ураженість насіння на 20–45%.

Мікробіологічні препарати підвищують морозостійкість рослин. При 100% загибелі посівів на контрольному варіанті інокуляція насіння Ризоміксом сприяла збереженню 48,3% рослин, Триходерміном – 43,8%, Гаупсином – 25,7%. За протруювання насіння Байтаном і Вітаваксом після приморожування збереглося 19,2–21,0% рослин. У природних умовах при оптимальній вологості та аерації ґрунту антагоністичні властивості гриба *Trichoderma lignorum* (Триходермін) добре проявляються й за близьких до +20 °С температур.

В умовах підвищених температур ефективність Триходерміну за обробки насіння пшениці озимої значно зростає, що знаходить прикладне значення в його застосуванні за ранніх термінів посіву.

Жива спорова бактеріальна культура *Bacillus subtilis* 26 Д (препарат Фітоспорин) за низьких температур (+5–9 °С) ефективніше пригнічує продуктами своєї життєдіяльності розмноження багатьох грибних і бактеріальних хвороб рослин. Захищає рослини від борошнистої роси, гелмінтоспориозної кореневої гнилі, альтернаріозу, чорної бактеріальної плямистості, снігової плісняви.

При вивченні мікробіологічних протруйників встановлено, що фунгіцидні властивості препарату Фітоспорин були найкращими (на 7–9%). Його висока дієвість проявилася за температури +5–9 °С. Препарат ефективно пригнічує розмноження грибних і бактеріальних хвороб рослин, тому його доцільно використовувати за пізніх строків сівби.

Синтетичні препарати істотно поліпшували насіннєві якості (на 12–15%) і по-різному впливали на формування та розвиток рослин, формування їхнього габітусу. Гумат калію, Хелафіт та Радіофірм достовірно стимулювали закладання зародкових коренів. Імуноцитофіт та Циркон істотно вплинули на розподіл проростків – частка проростків з двома корінцями у нього була в 2,5 рази меншою, ніж в середньому по вибірці, а частка проростків з одним корінцем – приблизно в 2,5 рази більшою. Препарат Радіофарм сприяє збільшенню росту кореневої системи за рахунок зниження лінійних розмірів.

Обробка насіння пшениці озимої, ячменю озимого та ярого синтетичними імуностимуляторами, притаманними органічному виробництву, в комплексі з біологічними фунгіцидами, сприяє підвищенню врожайності на 0,2–0,4 т/га.

Функціональність дії синтетичних стимуляторів незначною мірою проявилася в умовах низьких температур (0–7 °C), за винятком препарату Хелафіт та янтарної кислоти, але в умовах оптимальних та підвищених температур ефективність їхньої дії на ростові процеси значно зростала (на 15–30%) порівняно з мікробіологічними фунгіцидами.

Загалом фунгіцидна ефективність стимуляторів поступалася біологічним фунгіцидам. При цьому їхній вплив на подальший розвиток рослин та врожайність був вищим.

За результатами фітоекспертизи насіння (лабораторних та польових дослідів) встановлено, що основну масу насіння у зоні Степу потрібно обробляти біологічними протруйниками у комплексі із сумісними з ними імуномостимуляторами. Це дасть змогу підвищити врожайність цієї культури на 0,22–0,35 т/га.

Встановлено, що усі препарати мікробіологічного походження стимулюють енергію проростання, схожість та розвиток сходів рослин пшениці – терміни виходу на поверхню, довжину і масу першого листка. Достовірний прояв стимулювання сходів препаратом Фітоспорин дещо відтермінований порівняно з дією біологічних фунгіцидів (Планриз, Гаупсин, Триходермін). Але його фунгіцидні властивості були істотно вищими, ніж у бактеріальних та грибних протруйників.

На основі узагальнення багаторічних матеріалів з фітосанітарної експертної оцінки насіннєвого матеріалу в зоні Степу України (понад 19 тис. аналізів) встановлено домінуючі хвороби та інші фактори екологічної деформації насіння, вірогідність їх прояву у польових умовах. Розроблено стратегію і принципи передпосівної обробки насіння зернових колосових культур у Степу України для умов органічного і традиційного землеробства.

Отже, зміни інфекційного статусу насіння є результатом значного покращення технологій, що дає змогу збільшити врожайність та валовий збір зерна у державі. Усе це повинно супроводжуватись зміною уявлень про передпосівну підготовку насіння, суть якої повинна зводитись не до його протруювання, а до оздоровлення – підвищення імунного статусу насіння, його адаптивного потенціалу за рахунок ширшого використання імуномодуляторів.

БІБЛІОГРАФІЧНИЙ СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Seed testing. SeedNet India Portal. URL: http://seednet.gov.in/Material/Handbook_of_seed_testing/Index.pdf
<http://seednet.gov.in/Material/Handbook of seed testing/Index.pdf>.
2. Ретьман С. В., Шевчук О. В., Горбачова Н. П. Хвороби листя і колоса. *Карантин і захист рослин*. 2011. № 4. С. 25–27.
3. Хвороби рослин. URL: https://uk.wikipedia.org/wiki/Хвороби_рослин
4. King, J. E., Cook, R. J., Melville S. C. A review of Septoria diseases of wheat and barley, 1983. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1744-7348.1983.tb02773.x>
5. Андросова В. М. Удосконалення методів фітоекспертизи насіння. *Захист і карантин рослин*. 1999. № 11. С. 21.
6. Войтова Л. Р. Аналіз насіння ячменю на зараженість кореневою гнилизною. *Захист рослин*. 1980. № 2. С. 48.
7. ДСТУ 2240-93 Насіння сільськогосподарських культур. Сортові та посівні якості. Технічні умови. Київ: Держспоживстандарт України, 1994. 78 с. URL: https://www.agrodialog.com.ua/wp-content/uploads/2018/04/dstu-2240_93.pdf
8. ДСТУ 4138-2002 Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості. Київ: Держспоживстандарт України, 2003. 148 с. URL: https://www.agrodialog.com.ua/wp-content/uploads/2018/04/dstu-4138_2002.pdf
9. ДСТУ 4709:2006 Карантин рослин. Методи бактеріологічної експертизи. Київ: Держспоживстандарт України, 2006.
10. Знаменський В. И. Передпосівна обробка насіння починається з фітоекспертизи. *Захист і карантин рослин*. 2003. № 2.
11. ДСТУ 4180-2003 Карантин рослин. Методи мікологічної експертизи підкарантинних матеріалів. Київ: Держспоживстандарт України, 2003. 33 с.
12. Борзих О. І., Федоренко В. П., Ретьман С. В. та ін. Шкідливі організми в агроценозах України. *Карантин і захист рослин*. 2012. № 4. С. 11–14. URL: <https://kr.ipp.gov.ua/index.php/journal/issue/view/69/4-2012-pdf>
13. Коваль Г. В., Єщенко В. О., Калієвський М. В., Накльока Ю. І. Поширення та розвиток борошнистої роси і септоріозу в посівах зернових колосових культур під впливом основного обробітку ґрунту. *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України*. 2019. № 1(77). doi: 10.31548/dopovidi2019.01.013

14. Yechilevich-Auster, M., Leve, E., Eyal, L. Assessment of interactions between cultivated and wild wheats and *Septoria tritici*. *Phytopathology*. 1983. Vol. 73. P. 1077–1083.
15. Марков І. Л. Біологічний метод захисту рослин від хвороб. *Агроном*. 2013. № 3(41). С. 60–62.
16. Біляєва І., Клубук В. Якісне насіння – запорука високих урожаїв. *Карантин і захист рослин*. 2017. № 4–6. С. 28. URL: <https://kr.ipp.gov.ua/index.php/journal/issue/view/21/4-6-2017-pdf>
17. Омелюта В. П., Григорович І. В., Чабан В. С. та ін. Облік шкідників і хвороб сільськогосподарських культур. За ред. В. П. Омелюти. Київ: Урожай, 1986. 296 с. URL: https://shron3.chtyvo.org.ua/Zbirka/Oblik_shkidnykiv_i_khvorob_silskohospodarskykh_kultur.pdf
18. Філіпова Г. Г. та ін. Про фітоекспертизу насіння ярового ячменю. *Захист рослин*. 1993. № 11. С. 29–30.
19. Станкевич С. В., Положенець В. М., Немерицька Л. В., Журавська І. А. Моніторинг хвороб сільськогосподарських культур: навч. посіб. Житомир: Вид-во «Рута», 2022. 301 с. URL: https://repo.btu.kharkov.ua/bitstream/123456789/24117/1/NP_Monitorynh%20khvorb_22.pdf
20. Ткаленко Г. М., Ходорчук В. Я., Алієва І. В., Гавура Н. І. Фітоекспертиза насіння – запорука високого врожаю. *Перспективи розвитку регіонального виробництва і застосування біологічних засобів захисту рослин від шкідників і хвороб*: матер. міжнар. семінару з нагоди Міжнародного року здоров'я рослин - 2020 (10–11 вересня 2020 р., м. Одеса). С. 195–198. URL: <https://www.academia.edu/44399365>
21. Тютєрев С. Л. Протруювання насіння зернових колосових культур. *Карантин і захист рослин*. 2005. № 3. С. 90–132.

ПЕРЕЛІК ХВОРОБ, ЯКІ ПЕРЕДАЮТЬСЯ ЧЕРЕЗ НАСІННЯ

Назва хвороби	Назва збудника
Альтернаріоз	
- гороху, жита, пшениці	<i>Alternaria tenuis</i> Nees
- рису	<i>Alternaria tenuis</i> Fr., <i>A.oryzae</i> Haza
Антракноз	
- квасолі	<i>Colletotrichum lindemuthianum</i> Br. et Cav.
- льону	<i>Colletotrichum lini</i> Manns et Boliey
Аскохітоз	
- гороху	<i>Ascochyta pisi</i> Lib., <i>A. pinoides</i> Jones
- льону	<i>Ascochyta linicoia</i> Naum. at Wass
- сої	<i>Ascochyta sojaecota</i> Abramov
Бактеріоз	
- ганусу, кмину	<i>Erwinia carotovora</i> Holt.
- гороху	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>pisi</i> Joumf et al. (син. <i>Ps. pisi</i> Sacket)
- гречки	<i>Pseudomonas syringae</i> van Hall.
- квасолі	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>phaseoli</i> (Smith.) Dye.
- кукурудзи (бактеріоз качанів)	<i>Bacillus mesentericus vulgatus</i> Flügge
- льону	<i>Bacillus macerans</i> Schard.
- пшениці	
- базальний бактеріоз	<i>Pseudomonas strofaciens</i> Stapp.
- чорний бактеріоз	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>translucens</i> (Jones, Johnson, Reddy) Young et al. (син. <i>Pseudomonas translucens</i> var. <i>undulosa</i> Stapp., <i>Xanthomonas translucens</i> f. sp. <i>undulosa</i> (Smith, Jones, Reddy, Hagborg)
- сої (сім'ядольний бактеріоз)	<i>Pseudomonas solanacearum</i> E.F.Sm. (син. <i>Ps. sojae</i> Stapp)
Борошниста роса ганусу, кмину	<i>Erysiphe umvelliperorum</i>
Гали пшеничної нематоди	<i>Anguina tritici</i> Steinb.
Гельмінтоспоріоз	
- жита, пшениці, ячменю	<i>Bipolaris sorokiniana</i> Shoem (син. <i>Helminthosporium sativum</i> Pamel., King, et Bakkel, <i>Drechslera sorokiniana</i> Subram)
- проса	<i>Drechslera panici miliacei</i> (Pers.) (син. <i>Helminthosporium panici</i> - <i>miliacei</i> Nisisado)
- рису	<i>Drechslera oryzae</i> Subram. (син. <i>Helminthosporium oryzae</i> var.Br. de Haan.), <i>Bipolaris oryzae</i> Shoem
Гниль біла або склеротиніоз гороху, капусти, квасолі, кукурудзи, моркви, соняшника, сої	<i>Whetzelinia sclerotiorum</i> (d. By) Korf. et Dumont (син. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> de Bary, <i>S. libertiana</i> Fuck)
Гниль сіра	
- квасолі, соняшника	<i>Botrytis cinerea</i> Pers.
- кукурудзи	<i>Rhizopus maydis</i> Brud.
Гниль суха соняшника	<i>Rhizopus nodosus</i> Namysl.
Гниль червона кукурудзи	<i>Fusarium graminearum</i> Shwabe
Діплодіоз кукурудзи	<i>Diplodia zea</i> Lev.

Крапчастість льону	<i>Fungus sterilis</i> Winogradov
Нігроспороз кукурудзи	<i>Nigrospora oryzae</i> Petch.
Пасмо або септоріоз льону	<i>Septoria linicola</i> (Speg.) Gar. (син. <i>Phlyctaena linicola</i> Speg.)
Пероноспороз сої	<i>Peronospora manshurica</i> (N. Naum.) Syd.
Пірикуляріоз рису	<i>Piricutaria oryzae</i> Br. et Cav.
Пліснявіння насіння	
- зелене	<i>Penicillium</i> sp.
- оливкове	<i>Cladosporium</i> sp.
- рожеве	<i>Trichothecium</i> sp.
- сіре	<i>Mucor</i> sp.
- чорне	<i>Alternaria</i> sp.
Поліспороз (ламкість) льону	<i>Polispora lini</i> Laff.
Рак конюшиновий	<i>Whetzelinia trifoliorum</i> (Eriks.) M.Chochr. (син. <i>Sclerotinia trifoliorum</i> Eriks)
Ріжки злаків	<i>Claviceps purpurea</i> Tut.
Сажка звичайна проса	<i>Sphacelotheca panici miiaceae</i> (Pers.) Bub.
Сажка карликова пшениці	<i>Tilletia controversa</i> Kuehn.
Сажка летюча	
- вівса	<i>Ustilago avenae</i> Jens.
- жита	<i>Ustilago vavilovi</i> Jacz.
- кукурудзи	<i>Sorosporium reilianum</i> Mc.Alpine f. <i>zeae</i> Geschele
- пшениці	<i>Ustilago tritici</i> (Pers. Jens.)
- сорго і суданської трави	<i>Sorosporium relianum</i> Mc Alpine f. <i>sorghii</i> Geschele
- ячменю	<i>Ustilago nuda</i> Keil et Sw.
Сажка листкова рису	<i>Entyloma oryzae</i> Sed. et P.Syd.
Сажка стеблова	
- жита	<i>Urocystis occulta</i> Rabh.
- пшениці	<i>Urocystis tritici</i> Koern.
Сажка пухирчаста кукурудзи	<i>Ustilago zeae</i> Unger
Сажка тверда	
- вівса (покрита сажка)	<i>Ustilago levis</i> Mägn, (син. <i>U.Kolleri</i> Wille)
- жита	<i>Tilletia secalis</i> (Cda.) Kuehn.
- пшениці	<i>Tilletia caries</i> Tul. (син. <i>T.tritici</i> Wint.), <i>T.levis</i> Kuehn,, <i>T.intermedia</i> (Gassne Saul., <i>T.triticoides</i> Saul.
- сорго і суданської трави	<i>Sphacelotheca sorghii</i> Clint
- ячменю (кам'яна сажка)	<i>Ustilago hordet</i> Keil, et Sw.
Сажка чорна	
- рису (колоскова сажка)	<i>Tilletia barctayana</i> (Bref) Sacc. et Syd. (син. <i>T. horrida</i> Tak., <i>Neovossia horrida</i> (Tak.) Padw. et A, Khan.)
- ячменю (несправжня сажка)	<i>Ustilago nigra</i> Tapke
Септоріоз	
- вівса	<i>Septoria avenae</i> Frank, <i>S. graminum</i> Desm., <i>S. nodorum</i> Berk.
- жита, пшениці, ячменю	<i>Septoria nodorum</i> Berk.
- кмину	<i>Septoria unbelliferarum</i> Kalchbr., <i>S. pertoselini</i> Desm.
Оомоз	
- буряків столових і кормових	<i>Phoma betae</i> Sacc.
- моркви	<i>Phoma rostrupii</i> Sacc.

Фузаріоз	
- вівса	<i>Fusarium graminearum</i> Schw., <i>F. culmorum</i> (W.G.Sm.) Sacc., <i>F. sporotric.</i> , <i>Bilai</i> var. <i>sporotrichioides</i> (Sherb.) Bilai
- гороху	<i>Fusarium culmorum</i> (W.G.Sm.) Sacc., <i>F. solani</i> (Mart.) App. et Wr.
- жита, ячменю	<i>Fusarium graminearum</i> Schw. та інші види роду <i>Fusarium</i>
- кмину	<i>Fusarium oxysporum</i> Schi.
- кукурудзи	<i>Fusarium moniliforme</i> Sheld.
- льону	<i>Fusarium oxysporum</i> Schiecht f. <i>lini</i> (Bolley) Snyd. et Hans (син. <i>F. lini</i> Bolle)
- пшениці	<i>Fusarium graminearum</i> Schw., <i>F. culmorum</i> (W.G.Sm.) Sacc., <i>F. sporotrichie</i> Bilai, <i>F. sambucinum</i> Fuck., <i>F. avenaceum</i> Sacc. та інші види роду <i>Fusarium</i>
- рису	<i>Fusarium oxysporum</i> Schl.
- сої	<i>Fusarium gibbosum</i> App. et Wr., <i>Fusarium oxysporum</i> (Schl.) Snyd. et Hens
Церкоспороз	
- сої	<i>Cercospora sojaena</i> Hara
- фенхелю	<i>Cercospora foeniculi</i> Magn.
Чорний зародок	
- жита	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Sacc.) Shoem. (син. <i>Heiminthosporium sativum</i> Pamm., King et Bakke), <i>Drechslera tritici repentis</i> Ito.
- пшениці	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Sacc.) Shoem., <i>Altemaria tenuis</i> Nees., <i>A. peglioni</i> Curzi
- ячменю	<i>Bipolaris sorokiniana</i> (Sacc.) Shoem., <i>Drechslera graminea</i> Ito. (син. <i>Heiminthosporium gramineum</i> Rabenh.)

**НАУКОВО-МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
З ПРОВЕДЕННЯ КОМПЛЕКСУ ЗАХОДІВ ЗА ОЦІНКОЮ ЕФЕКТИВНОСТІ
ЗАСТОСУВАННЯ ПРОТРУЙНИКІВ НА ІНФІКОВАНОМУ ХВОРОБАМИ НАСІННІ**

Науково-методичні рекомендації розглянуто та схвалено Вченою радою
Українського інституту експертизи сортів рослин
(протокол № 12 від 27 червня 2024 року)

Рецензенти: **ДОЛЯ Микола Миколайович**, доктор с.-г. наук, професор,
член-кореспондент НААН України,
ПОЛОЖЕНЕЦЬ Віктор Михайлович, доктор с.-г. наук,
професор, заслужений діяч науки і техніки України

Розробники: **В. М. Стефківський, С. І. Мельник, С. М. Гринів,**
Г. В. Трофімова, Т. М. Хоменко, Ю. Л. Стефківська,
Є. Ф. Бобонич