
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

ІНСТИТУТ ВОДНИХ ПРОБЛЕМ І МЕЛІОРАЦІЇ

РАДА МОЛОДИХ УЧЕНИХ ІВПіМ НААН



**РОЛЬ МЕЛІОРАЦІЇ ТА ВОДНОГО
ГОСПОДАРСТВА У ЗАБЕЗПЕЧЕННІ
СТАЛОГО РОЗВИТКУ ЗЕМЛЕРОБСТВА**

(до 90-річчя ІВПіМ НААН)

Матеріали

**Міжнародної науково-практичної
інтернет-конференції
молодих учених**

20 грудня 2019 року

Київ

Рекомендовано до друку Вченою радою Інституту водних проблем і меліорації НААН (протокол № 15 від 26.12.2019 р.)

У збірнику опубліковано матеріали науково-практичної конференції молодих учених “Роль меліорації та водного господарства у забезпеченні сталого розвитку землеробства”, у яких висвітлено досягнення молодих учених у галузі водного господарства, меліорації та сільськогосподарського виробництва.

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

Ромащенко М.І., д.т.н., професор, академік НААН, директор інституту;

Шатковський А.П., д.с.-г.н., с.н.с., заступник директора з наукової роботи;

Коваленко П.І., д.т.н, професор, академік НААН, радник дирекції;

Вергунов В.А., д.с.-г.н., проф. акад. НААН, гол. наук. співробітник;

Ковальчук П.І., д.т.н., професор, гол. наук. співробітник;

Хоружий П.Д., д.т.н., професор, гол. наук. співробітник;

Тараріко Ю.О., д.с.-г.н., член-кореспондент НААН, зав. відділу;

Попов В.М., д.т.н., с.н.с., гол. наук. співробітник;

Михайлов Ю.О., д.т.н., с.н.с., гол. наук. співробітник;

Ковальчук В.П., д.т.н., с.н.с., гол. наук. співробітник

Яцюк М.В., к.геогр.н., заст. директора з наукової роботи.

Шевчук С.А., к.т.н., с.н.с., зав. відділення;

Семенко Л.О., к.с.-г. н., с.н.с., старш. наук. співробітник.

Матеріали надруковано в авторській редакції. Точка зору редакційної ради та організаційного комітету конференції не завжди збігається з позицією авторів.

© Інститут водних проблем і меліорації НААН, 2019

МЕТОДИ ФІТОСАНІТАРНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ В СИСТЕМІ ІНТЕНСИВНОГО СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОГО ВИРОБНИЦТВА

О.С. Коковіна¹ О.Є. Марковська²

¹здобувач вищої освіти другого рівня ДВНЗ «ХДАУ» e-mail ksau.kherson.ua

²доктор с.-г. наук ДВНЗ «ХДАУ» e-mail mark.elena@ukr.net

Одним із головних завдань, які постають перед фахівцями фітосанітарної сфери в умовах сучасного виробництва, є охорона території України від занесення та інтродукції шкідливих організмів. Роль цих заходів значно зростає в умовах зрошення, де формуються кращі умови не лише для культурного компоненту а і для шкочочинних об'єктів.

Проведення фітосанітарної експертизи є невід'ємною частиною контролю за фітосанітарним станом рослинної продукції, деревини, ґрунту, насінневого та садивного матеріалу тощо, яка, у свій час, виконується відповідно до державних стандартів України або відповідно до європейських стандартів – робочих інструкцій, розроблених ЄОЗР (Європейська і Середземноморська організація із захисту рослин).

Фітосанітарна експертиза здійснюється за шістьма напрямками: ентомологічний, мікологічний, бактеріологічний, фітогельмінтологічний, гербологічний та вірусологічний, які класифікуються за приналежністю шкідливого організму до певної біологічної групи.

Ентомологічний аналіз здійснюється відповідно до ДСТУ 3354-96 «Карантин рослин. Методи ентомологічної експертизи продуктів запасу». В ентомологічній експертизі використовуються: візуальний, флотаційний, мікролюмінесцентний та біологічні методи.

1. Візуальний – виявлення явної зараженості продуктів запасу зовнішнім оглядом середньої проби та огляду сходу і проходу з сит після просіювання середньої проби чи підозрілого насіння з використанням лупи чи мікроскопу.

2. Флотаційний – виявлення явної і прихованої зараженості продуктів запасу шляхом занурення середньої проби зерна в розчини солей і аналіз комах, зерен тощо, що випливали на поверхню.

3. Мікролюмінесцентний – виявлення явної і прихованої зараженості насіння і зерна зернових і бобових культур за люмінесценцією яєць зернівок і «корок» довгоносиків на зернах під час опромінення їх ультрафіолетовим світлом ртутно-кварцових ламп.

4. Біологічний – дорощування виявлених у преімагінальних (яйце, личинка, лялечка) фазах розвитку комах до стадії імаго з наступною ідентифікацією.

На мікологічний аналіз середні проби надходять після ентомологічної експертизи і в окремій упаковці залишки сходів із сит у разі просіювання, чи спливів у разі флотації від попередньої експертизи, виконується відповідно до ДСТУ 4180-2003 «Карантин рослин. Методи мікологічного експертування підкарантинних матеріалів» (макроскопічний та біологічний,

центрифугування і мікроскопічне аналізування, люмінесценція, експертизи за методами Г.Н. Дорогіна, К.Є.Шарікова, методики УкрНДСКР).

1. Макроскопічний метод (за Ковальчуком) застосовують для візуального виявлення хвороб при зовнішньому огляді рослинної продукції, продуктів їх переробки, а також сажкових утворень, спор, склероціїв у насінні. Для цього використовують лупу, бінокляр, мікроскоп. Оглядаючи зразки рослинної продукції, зовні можна виявити плямистості, виразки, розтріскування, шорсткість, надмірне розростання тканин (пухлини), різного кольору спороношення. Користуючись лупою або бінокляром, на ураженій поверхні вегетативних частин рослин (листках, стеблах, насінні, коренях, квітках) можна виявити перитеції, пікніди, подушечки тощо.

2. Метод центрифугування використовують у разі необхідності виявлення зараження поверхні насіння спорами грибів, наприклад, сажкою, іржею та іншими. Метод дозволяє відокремити поверхнево розміщені спори грибів.

3. Біологічний метод застосовують для виявлення у рослинному матеріалі грибної, частіше – внутрішньої інфекції. У цьому разі створюють оптимальні умови для росту, розвитку та спороношення грибів. Метод вологих камер оснований на стимулюванні розвитку і росту мікроорганізмів в ураженому насінні, плодах, листках, стеблах, кореневищах тощо.

4. Люмінесцентний метод полягає у тому, що всі рослинні тканини під час обстеження у синьо-фіолетових чи ультрафіолетових променях починають яскраво люмінесцювати і ця первинна люмінесценція у здорових та хворих тканинах відрізняється кольором свічення.

5. Експертиза за методом Г.Н. Дорогіна – визначення наявності зооспорангіїв збудника раку картоплі на поверхні підземних частин рослин, рослинних рештках, ґрунті за допомогою центрифугування водного змиву.

6. Експертиза за методом К.Є. Шарікова – визначення наявності зооспорангіїв збудника раку картоплі в легких супіщаних і чорноземних ґрунтах.

7. Методика УкрНДСКР полягає у промиванні ґрунту із зооспорангіями розчином ефіру, а для подальшого центрифугування використовується розчин натрію йодистого.

Бактеріологічний аналіз здійснюється відповідно до ДСТУ 4709:2006 «Карантин рослин. Методи бактеріологічної експертизи» (анатомічний, макроскопічний, біологічний, люмінесцентний та імуноферментний).

1. Метод макроскопічного (зовнішнього) огляду. Уражені частини рослин оглядають за допомогою лупи, відбираючи зі зразка плоскі, недорозвинені, з різними плямистостями, зміненим забарвленням насінини, і ті частини рослин, що підозрюються на хворобу, спричинені бактеріями. Метод дає можливість аналізу матеріалу з підозрою на ураження.

2. Біологічний метод застосовують за потреби виявлення внутрішньої (прихованої) ураженості насіння чи інших частин рослин бактеріозами. Насіння, відібране для аналізу, кладуть у вологу камеру або висівають на

поживний агар чи стерильний пісок. У такому разі ураженість насіння встановлюють за проявом ознак на сходах.

3. Закладання насіння у вологу камеру. Відібране для аналізу насіння, попередньо відмите, закладають у стерильну вологу камеру. Через дві-три доби з мутно-білого чи жовтого бактеріального ексудату, що виступає на насінні, асептичною платиновою петлею беруть краплю і переносять у пробірку з малою кількістю стерильної води. Пробірку обережно струшують і висівають уміст у три чашки з поживним середовищем, як було зазначено вище. Чашки перевертають і ставлять у термостат.

4. Посів на поживний агар. Хворе насіння або частини ураженої тканини відмивають і дезінфікують методами, описаними вище. У полум'ї спиртівки переносять його в ступку з невеликою кількістю води і обережно розтирають товчачиком до отримання однорідної маси. Потім фламбованою платиновою петлею переносять невелику кількість отриманої маси на поверхню застиглого в чашках Петрі поживного середовища. Після цього закриті чашки перевертають і ставлять у термостат за 28-30 °С.

5. Люмінесцентний метод полягає у тому, що здорові й уражені будь-яким збудником рослинні тканини однієї й тієї ж рослини по-різному відображаються в ультрафіолетових і синьо-фіолетових променях після обробки специфічними сироватками. У ряді випадків метод дає змогу швидко виявити збудника хвороби.

6. Імуноферментний метод (ELISA-тест) для виявлення бактеріологічних хвороб, у основі якого лежить реакція антиген-антитіло.

Фітогельмінтологічний аналіз здійснюється відповідно до ДСТУ 7406:2013 «Карантин рослин. Методи фітогельмінтологічної експертизи об'єктів регулювання» і в ньому використовуються такі методи:

1. Лійковий метод, який є найбільш розповсюдженим методом виділення червоподібних нематод.

2. Флотаційний метод, що ґрунтується на здатності цист спливати на поверхню води із подальшим їх препаруванням для ідентифікації.

Герботологічний аналіз здійснюється відповідно до ДСТУ 4009-2001 «Карантин рослин. Методи герботологічної експертизи підкарантинних матеріалів». При проведенні використовують наступні методи.

1. Візуальне виявлення засміченості. Підготовлену до аналізу середню пробу і рослинні залишки попередніх експертиз окремо висипають на аналізну дошку і ретельно переглядають. Виявлене насіння карантинних і потенційно небезпечних бур'янів відбирають пінцетом у пробірки або пакети для подальшої ідентифікації.

2. Метод просіювання середньої проби через комплекти сит та огляду сходу і проходу з сит. Після загального огляду середню пробу висипають у комплект сит. Просіювання проводять вручну чи в механізованому пристрої поздовжньо-зворотними рухами протягом 3 хвилин із загальною кількістю коливань до 180.

3. Метод відмивання ґрунту полягає в промиванні середньої проби ґрунту чи іншого матеріалу на ситах під струменем води.

Вірусологічний аналіз включає методи виявлення і визначення у лабораторних умовах збудників вірусних захворювань. Оскільки державного стандарту України на вірусологію не розроблено, діагностування здійснюється згідно методик випробувань та європейських стандартів ЄОЗР. У цій експертизі найчастіше застосовується імуноферментний метод (ELISA-тест).

Імуноферментний аналіз, який скорочено називають ІФА (англ. Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) – метод якісного або кількісного визначення різних низькомолекулярних з'єднань, в основі якого лежить специфічна реакція антиген-антитіло. Виявлення створеного комплексу проводять з використанням ферменту в якості мітки для реєстрації сигналу. Теоретичні основи ІФА спираються на сучасну імунохімію і хімічну ензимологію, знання фізико-хімічних закономірностей реакції антиген-антитіло, а також на основні принципи аналітичної хімії. Існує багато видів ІФА-аналізів, але найбільш розповсюдженим видом діагностики є «Сандвіч-метод» – варіант непрямого неконкурентного ІФА, в якому в якості імуносорбенту виступає антитіло. Цей аналіз є надійним методом виявлення патогенів у рослинному матеріалі. За методологією виконується два дні.

Ще одним методом, який застосовують у фітосанітарній експертизі, є *реакція імунофлюоресценції*, РІФ (англ. immunofluorescence reaction), що являє собою мікробіологічну діагностику інфекційних хвороб імунохімічним методом. РІФ заснована на виявленні антигенів збудника за допомогою мічених флюорохромами специфічних сироваток. В основі реакції, як і у випадку з ІФА, лежить утворення специфічного комплексу антиген-антитіло, який виявляють за допомогою люмінесцентного мікроскопа (УФО). Однак даний метод є набагато швидшим за тест ELISA і проводиться за кілька годин.

Два останні методи діагностики є дієвими та практичними для виявлення фітопатогенних організмів у рослинних матеріалах, однак на генетичному рівні застосовують *метод полімеразних ланцюгових реакцій*, який заснований на багаторазовому виборчому копіюванні певної ділянки нуклеїнової кислоти ДНК за допомогою ферментів у штучних умовах (in vitro). При цьому відбувається копіювання тільки ділянки, яка відповідає заданим умовам, і тільки в тому випадку, якщо він присутній у досліджуваному зразку. Метод ПЛР є надточним і за процедурою займає близько тридцяти хвилин, однак вимагає ретельної та довгої підготовки.