Лабораторна робота
Тема: Фітопатологічна експертиза насіння пшениці щодо його зараження збудниками фузаріозу

Завдання.

1. Ознайомитися з існуючими методиками та способами виявлення насіння пшениці, зараженого фузаріозом.

2. Відібрати зразки насіння пшениці та провести його візуальну оцінку ураженості зерна грибами роду *Fusarium*, використовуючи градацію, яка відображає ступінь ураження.

3. Здійснити висів насіння на живильне середовище з метою виявлення прихованої інфекції збудників фузаріозу.

4. Провести аналіз проростків пшениці фузаріозом, шляхом пророщування насіння у паперових рулонах. Результати оформити у форму.

5. Зробити висновки стосовно результатів аналізування (наведених у формі 1). Надати рекомендації щодо використання насіння та способів покращення його посівних якостей.

Форма 1

Результати аналізування ураженості проростків фузаріозом, шляхом пророщування насіння пшениці у рулонах фільтрувального паперу

№ зразка, назва сорту	Енергія проростання насіння, %	Лабораторна схожість насіння, %	Ураження проростків, бал					Поширення хвороби, %	Розвиток хвороби, %
			0	1	2	3	4		

Методи аналізу насіння пшениці для виявлення фузаріозу

Висів насіння на живильні середовища.

Метод застосовують для виявлення внутрішньої інфекції насіння.

З середнього зразка беруть 100-150 зерен. Для видалення поверхневої заспоренності зерна, його ретельно промивають проточною водопровідною водою, спочатку з додаванням будь-якого миючого засобу (ПАР), а потім без нього. Це дозволяє змити шматочки ґрунту та інших домішок. Усю стерелізуючу поверхню тканини повинна бути змочена водою, тому необхідно

проконтролювати відсутність на ній бульбашок повітря. Тільки після цього зерно піддають поверхневій стерилізації.

За дотримання зазначених умов ефективність стерилізуючих розчинів однакова. Після стерилізації зерно ретельно промивають стерильною водою, кілька разів повторюючи процедуру.

У боксі зерна беруть стерильним пінцетом, просушують стерильною фільтрувальної папером, швидко проносять їх над полум'ям і розкладають на поверхню агаризованого живильного середовища, розлитого в чашки Петрі. Для отримання достовірних результатів надзвичайно важливо брати зерна з зразка без відбору за зовнішніми ознаками. Залежно від розміру в одну чашку Петрі з живильним середовищем поміщають для аналізу 5-10 зерен на однаковій відстані один від одного.

Чашки Петрі з аналізованими зразками, як правило, інкубують в термостаті за температури 23-25 °С. Через 7 діб їх переглядають і відзначають маркером колонії грибів, що виросли навколо зернівок. Культури грибів, що викликають інтерес відсівають в пробірки із живильним агаризованим середовищем або в нові чашки Петрі.

Пророщування насіння у паперових рулонах.

На місці фільтрувального паперу розміром 20 х 50 см проводять олівцем лінію на відстані 3-4 см від верхнього краю. На змочений водою до повного зволоження папір по лінії розкладають зерна (25 шт.). Зародком вниз через рівні проміжки (1,5 см), накривають таким же листом паперу, поверх якого в зоні розташування насіння накладають стрічку щільного поліетилену (пергаменту) шириною 5 см. Всі смуги разом змотують в нещільні рулони, поміщають в ємкості з водою, яка доходить до 1/3 висоти рулону, а ємкості – в термостат. Для оцінки енергії проростання на 5-у добу рулон акуратно розгортають і підраховують відсоток зерен, які дали паросток. Потім рулони повертають у термостат і на 10-у добу аналізують схожість, заселеність насіння грибними патогенами та їх шкідливість за ступенем ураження проростків. Ураженість проростків грибами оцінюють за 5-бальною шкалою (табл. 1).

Пророщування насіння у вологому піску. Умови проростання наближаються до природних умов і застосовуються для дослідження життєздатності фузаріозного насіння.

1. Шкала оцінки ураженості проростків пшениці

Бал ураження	Стан проростка
0	здоровий, без нальоту грибів
1	здоровий, присутній наліт грибниці на насінні
2	потемніння тканини проростків у вигляді слабких штрихів і дрібних плям
3	проросток слабкий, некроз тканини обширний
4	під час проростання насіння гине і загниває

Пророщування насіння у вологій камері.

Підготовка «вологої камери». На дно чашок Петрі кладуть два шари фільтрувального паперу і стерилізують. Однаковий обсяг стерильної води (можна використовувати свіжопрокип'ячену і охолоджену) додають в чашки до повного зволоження фільтрувального паперу. Всі маніпуляції з насінням проводяться в стандартних, по можливості в стерильних, умовах. Використовувані судини, пінцети, фільтрувальний папір стерилізують, як мінімум, окропом.

Після відбору фузаріозних зерен із тієї ж проби відраховують підряд 400 зерен, для виявлення прихованої форми фузаріозу. Дезінфіковане насіння розкладають на однаковій відстані один від одного у вологі камери на фільтрувальний папір. Пророщування проводять в термостаті в темряві при температурі 20-23 ° С. Аналіз проводять на 7-й день інкубування.

Під час пророщування на зерні, яке містить фузаріозну інфекцію, з'являється характерний для видів роду *Fusarium* дуже тонкий, ніжний, пухнастий міцелій. Розростаючись за декілька днів, він покриває зерно у вигляді ніжної пухнастої павутинистої шапочки сніжно-білого кольору, ніжно-рожевого чи яскраво-малинового з прожилками. Нерідко частина зерна зафарбовується в рожевий або малиновий колір. Через деякий час (але не завжди) на заражених зернах з'являються видимі неозброєним оком дрібні оранжеві коростинки із спородохій гриба.

При аналізі насіння на глибоку зараженість, а також при сильному поверхневому зараженні сапротрофними грибами, перед пророщуванням його слід дезинфікувати.

На заражених фузаріозом зернах можливе проявлення одного або декількох видів грибів з роду *Fusarium.*

Оцінку типу фузаріозного ураження насіння рекомендується проводити за такою шкалою (у балах):

1 – наявність грибниці на зернівці нормального проростка;

2 – побуріння колеоптиля та корінців;

3 – внутрішнє загнивання основи стебельця, закручування, ненормальні проростки з побурінням тканин;

4 – наявність грибниці біло-рожевого кольору на непроростому насінні.

Кількість зараженого фузаріозом насіння підраховують окремо за балами ураженості. Відсоток зараженості виводиться зі загальної кількості хворого насіння.

З метою з'ясування оцінки зараженості (ступеня) насіння фузаріозом, Н.А. Наумова пропонує обчислювати відсоток розвитку хвороби за формулою:

$$x = \frac{\sum (a \times b) \times 100}{4 \times n},$$

де x – розвиток хвороби, %;

Σ - сума добутку числа насіння (*а*) на відповідний бал ураження (*б*);

4 - вищий бал ураження;

n - загальна кількість насіння, що аналізували (здорового і зараженого).

Використана та рекомендована література

1. Кирик М. М. Патологія насіння сільськогосподарських культур : навчальний посібник для підготовки фахівців ОКР "Магістр" спец. 8.09010501 "Захист рослин" у ВНЗ III-IV рівнів акредитації / М. М. Кирик, М. Й. Піковський ; за ред. М. М. Кирика. - К. : ЦП "Компринт", 2012. - 208 с.

2. Насіння сільськогосподарсьих культур. Методи визначення якості. ДСТУ 4138-2002. – К.: Держспоживстандарт України. – 2003. – 173 с.

3. Наумова Н.А. Анализ семян на грибную и бактериальную инфекцию. – Л.: Колос. – 1970. – 208 с.

4. Гагкаева Т.Ю. Фузариоз зерновых культур // Защита и карантин растений / Т.Ю. Гагкаева, О.П. Гаврилова, М.М. Левитин, К.В. Новожилов. – 2011. – № 5. – С. 69-120.