

МЕТОДИЧЕСКОЕ
РУКОВОДСТВО
по
ЛАБОРАТОРНОЙ
КАРАНТИННОЙ
ЭКСПЕРТИЗЕ
РАСТИТЕЛЬНЫХ
МАТЕРИАЛОВ
И ПОЧВЫ

Москва-1950

ГОСУДАРСТВЕННАЯ ИНСПЕКЦИЯ ПО КАРАНТИНУ И ЗАЩИТЕ
РАСТЕНИЙ МИНИСТЕРСТВА СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР

ЦЕНТРАЛЬНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ
ПО КАРАНТИНУ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

МЕТОДИЧЕСКОЕ РУКОВОДСТВО ПО ЛАБОРАТОРНОЙ КАРАНТИННОЙ ЭКСПЕРТИЗЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ПОЧВЫ

ПОД РЕДАКЦИЕЙ КАНДИДАТА
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
Т. И. РОГОВОЙ

ИЗДАТЕЛЬСТВО
МИНИСТЕРСТВА СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
МОСКВА - 1960

Методическое руководство разработано:

I часть — ст. энтомологом Ленинградской лаборатории по карантину сельскохозяйственных растений *А. А. Варшавовичем*.

II часть — ст. фитопатологом Ленинградской лаборатории по карантину сельскохозяйственных растений *Н. С. Яковлевой*.

III часть — ст. бактериологом Центральной лаборатории по карантину сельскохозяйственных растений *Н. П. Яшиной*.

IV часть — ст. гельминтологом Центральной лаборатории по карантину сельскохозяйственных растений, кандидатом биологических наук *А. М. Боровковой*.

V часть — ст. специалистом по сорным растениям Центральной лаборатории по карантину сельскохозяйственных растений *Р. А. Сафра*.

Кроме основных авторов, в разработке руководства принимали участие зав. отделом энтомологии Центральной лаборатории кандидат биологических наук *Н. Н. Шутова*, ст. энтомолог *М. И. Ломакина*, фитопатолог *Н. В. Сеницына*, зав. отделом фитопатологии *Н. И. Соколова*, зав. отделом информации и обобщения опыта *Д. Д. Головизнин*.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Методическое руководство по лабораторной карантинной экспертизе растительных материалов и почвы является пособием для специалистов по карантину и защите сельскохозяйственных растений. В нем детально изложена методика лабораторной карантинной экспертизы.

Руководство состоит из пяти частей: энтомологической, фитопатологической, бактериологической, фитогельминтологической экспертиз и экспертизы на карантинные сорные растения.

В первой части освещены основные принципы и правила карантинной лабораторной энтомологической экспертизы, описаны технические приемы ее проведения с учетом различных видов импортных растительных материалов и особенностей повреждений их карантинными вредителями. Обращено внимание на методы выявления не только карантинных, но и других видов вредителей, которые могут повредить или уничтожить ценные импортные образцы и стать источником заражения для других сельскохозяйственных материалов. Излагаются правила карантинной профилактики, методика приготовления микроскопических препаратов, а также вопросы, связанные с хранением и пересылкой образцов на лабораторную экспертизу. Приводится подробный перечень оборудования, необходимого для проведения лабораторных анализов.

Изложение материала в других частях настоящего руководства дается в основном в такой же последовательности, с некоторыми отклонениями и дополнениями, вызванными спецификой отдельных видов анализа.

В конце каждой главы помещен список рекомендуемой литературы.

Данное методическое руководство составлено на основании материалов, полученных в результате многолетней практической

работы специалистов карантинных лабораторий, которые в свою очередь разработали новые и усовершенствовали некоторые старые методы лабораторной карантинной экспертизы. При составлении руководства были также использованы различные литературные источники по методике проведения лабораторных анализов.

Настоящее руководство является практическим методическим пособием не только для специалистов по карантину и защите сельскохозяйственных растений. Оно может служить также практическим пособием для агрономов различного профиля, а также для студентов сельскохозяйственных вузов.

Методическое руководство по лабораторной карантинной экспертизе издается впервые, поэтому Государственная инспекция по карантину и защите растений и Центральная лаборатория по карантину сельскохозяйственных растений МСХ СССР просят лиц, которые будут работать с данным «Методическим руководством», направлять свои критические замечания и предложения по адресу: г. Москва И-139, Орликов пер., 1/11, Центральная лаборатория по карантину сельскохозяйственных растений МСХ СССР.

ЭНТОМОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА

Основные принципы энтомологической экспертизы

Энтомологическая карантинная экспертиза растительных материалов и почвы является одним из наиболее ответственных звеньев системы карантинных мероприятий по охране наших полей, садов, лесов и складов от заноса и завоза опасных иностранных вредителей. От результатов лабораторной энтомологической экспертизы зависит применение тех или иных карантинных мероприятий по отношению к ввозимому растительному грузу.

Основная задача лабораторной экспертизы заключается в установлении наличия или отсутствия зараженности ввозимого в страну материала карантинными видами вредителей, т. е. определение его карантинного состояния.

При проведении лабораторной экспертизы должно быть обращено внимание на выявление не только карантинных, но и других видов вредителей, встречающихся в анализируемом материале. Это обуславливается тем, что наличие некарантинных видов вредителей и их вредоносность могут привести к уничтожению ценных образцов поступающего материала, а также стать источником заражения других материалов. В случае обнаружения даже единичных экземпляров вредителей нельзя ограничиваться только констатацией факта, а необходимо принять меры к обеззараживанию такого материала.

Совершенно обязательным является проведение обеззараживания импортного семенного материала при обнаружении в нем таких широкораспространенных вредителей, как обыкновенный амбарный долгоносик (*Calandra granaria* L.), рисовый долгоносик (*Calandra oryzae* L.), кукурузный долгоносик (*Calandra zeae-mays* Motsh.), зерновой кожеед (*Trogoderma granarium* Ev.), зерновой точильщик (*Rhizopertha dominica* F.), хлебный точильщик (*Stegobium paniceum* L.), хрушаки (*Tribolium* spp.), мукоеды (*Laemophloeus* spp.), притворяшки (*Ptiniidae*), суринамский мукоед (*Oryzaephilus surinamensis* L.), мавританская козявка (*Tenebrioides mauritanicus* L.), жуки-блестянки (*Carpophilus* spp.), виды зерновок — фасолевая (*Acanthosce-*

lides obtectus Say) и бразильская (*Zabrotes subfasciatus* Boh.), зерновая моль *Sitotroga cerealella* Oliv.), рисовая и другие виды огневков (*Corcyra*, *Ephestia*, *Plodia*), а также амбарные клещи.

То же относится и к посадочному материалу. Нельзя, например, допускать высадку необеззараженных растений, зараженных некарантинными видами кокцид, клещей и т. п.

В связи с этим для успешного проведения энтомологической экспертизы необходимы знания внешних признаков всех фаз развития не только карантинных видов, но и широко распространенных массовых вредителей.

Экспертиза должна проводиться тщательно и целеустремленно. Специалист-энтомолог, занимающийся экспертизой импортных растительных материалов, должен иметь ясное представление о том, из какой страны, на каком материале и в какой фазе развития в данный момент может быть завезен тот или иной карантинный объект, где и как его следует искать в поступившем материале.

Как правило, карантинные виды вредителей встречаются на тех растительных материалах, где они обычно развиваются и вредителями которых являются. Однако известны случаи, когда карантинные объекты были найдены среди несвойственных им растительных материалов. Так например, были случаи обнаружения живых китайских зерновок (*Callosobruchus chinensis* L.) среди листов полученного из Китая гербария различных видов клена, а также обнаружения гладиолусового трипса (*Taeniothrips simplex* Moris.), в большом количестве на саженцах плодовых деревьев, полученных из США, и т. п.

Необходимо также учитывать время года и климатические условия той страны, откуда прибыл данный материал. Например, анализируя зимой саженцы цитрусовых и плодовых культур, можно обнаружить цитрусового мучнистого червеца (*Pseudococcus gahanii* Green) в стадии личинок 2-го возраста на надземных частях саженцев, в то время как червеца комстока (*Pseudococcus comstocki* Kuw.) на таком материале и в то же время года можно найти только в фазе зимующих яиц и притом на подземных частях саженцев, вблизи корневой шейки.

Прежде чем приступить к энтомологической экспертизе любого импортного растительного материала, необходимо ознакомиться с документами, сопровождающими посылку или образец, чтобы уже по стране или району происхождения материала предположить возможное заражение его карантинными видами вредителей.

Энтомологической экспертизе подлежат семена, посадочный и прививочный материал, клубни, луковицы и другие части живых растений, образцы волокна прядильных культур, а также почва.

На лабораторную экспертизу поступают, главным образом, те подкарантинные материалы, которые для определения их ка-

карантинного состояния нуждаются в тщательном лабораторном анализе. К таким материалам относятся саженцы, черенки, подземные части растений, образцы семян, предназначенные для селекционных и других научных целей, а также образцы семян, поступающие в СССР в порядке международного обмена. Остальные материалы проходят карантинный контроль, осуществляемый государственными инспекторами по карантину сельскохозяйственных растений, в пунктах ввоза в СССР растительных грузов. В случае возникновения подозрения на зараженность таких материалов карантинными объектами карантинные инспектора представляют на лабораторный анализ отобранные образцы от досмотренных ими грузов.

Общие правила энтомологической экспертизы

Любой материал, поступивший в карантинную лабораторию на экспертизу, обязательно должен быть проверен прежде всего энтомологом.

Вскрытие посылок и первичный осмотр их также должны производиться энтомологом или в его присутствии, чтобы не допустить расползания и разлета из посылки вредителей, находящихся в активном состоянии.

Энтомолог должен внимательно осмотреть посылку или образец сначала снаружи перед распаковкой, а затем при распаковке тары.

При этом он должен обращать внимание на выявление насекомых и других членистоногих, которые могут находиться в активном состоянии на поверхности упаковки, или непосредственно под наружным слоем упаковки, или под крышкой ящика. Признаком присутствия вредителей может служить наличие прогрызенных в упаковочной бумаге отверстий, паутины, коконов и т. п.

В случае обнаружения большого количества насекомых в активном состоянии посылку следует быстро закрыть, обернуть в хлорвиниловую пленку или другой какой-либо пластикат, в клеенку или в плотную бумагу или же накрыть стеклянным колпаком, а затем приморить насекомых эфиром, дихлорэтаном или, в крайнем случае, табачным дымом. Через 5—10 минут посылку можно вновь открыть и продолжать дальнейшие исследования.

Первичное вскрытие посылок с растительным материалом и экспертиза этих материалов проводятся в условиях, гарантирующих от случайных разлетов, расползания вредителей или разноса их на одежде работающих.

Окна и форточки, где производятся вскрытия посылок, особенно в летний период, должны быть закрыты или затянуты густой проволочной сеткой или марлей. Специалисты, выполняющие работы, связанные с импортными растительными материалами, должны быть в белых халатах, которые необходимо, пред-

варительно осмотрев снаружи, снимать при выходе из помещения лаборатории.

В лаборатории должны соблюдаться следующие правила:

а) не оставлять без присмотра распакованные растения и особенно высыпаемые из мешочка на стол семена;

б) начатую экспертизу одного образца обязательно закончить и только после этого, в случае необходимости, можно прервать работу;

в) не вскрывать сразу несколько поступивших одновременно посылок или образцов;

г) материалы, анализ которых приходится отложить до следующего дня, сохранять, не вскрывая, в специально отведенном для этого шкафу, а тюки или ящики с живыми растениями (саженцами, черенками) — в прохладном месте, поддерживая влажность упаковочного материала.

Убедившись, что на поверхности посылки нет насекомых в активном состоянии, а в случае наличия их, собрав все экземпляры, приступают к детальной энтомологической экспертизе тем или иным методом в зависимости от характера анализируемого материала.

Растительный материал, поступивший в лабораторию, должен подвергаться экспертизе в тот же день, когда он прибыл. Это правило особенно важно соблюдать по отношению к «живому» растительному материалу — саженцам, черенкам, луковичам, клубням.

Очень важно, чтобы материал был проверен в возможно короткий срок и доброкачественно. При этом работа должна быть организована так, чтобы была исключена не только возможность пропусков непроверенного материала, но также случайного заражения или засорения образцов. В результате экспертизы должно быть сделано соответствующее заключение о карантинном состоянии материала.

Совершенно недопустимо перепутывание этикеток или смешение семян, черенков или других материалов из образцов разных сортов. Например, упавшее во время работы на пол семечко ни в коем случае нельзя класть в пакет или мешочек с остальными семенами, если нет полной уверенности, что оно выпало из данного образца. Во избежание недоразумений такое семечко следует разрезать пополам и посмотреть не заражено ли оно вредителем.

Стол, на котором производится энтомологическая экспертиза, должен быть достаточно широким и покрыт большим настольным стеклом или листом бесцветного плексигласа.

Экспертизу необходимо проводить при хорошем естественном или искусственном освещении вблизи источника света.

Перед началом проведения экспертизы следует удобно расположить на столе все, что может понадобиться во время работы: оптические приборы, инструменты, материалы. На столе отводят

определенные места для образцов растительных материалов, проанализированных и не подвергшихся анализу, а также место, куда будут складываться всякие отходы: ненужные остатки вскрытых семян, отбросы, скапливающиеся во время проведения экспертизы, и т. п.

Обычно при работе пользуются небольшой лупой с увеличением 6х — 7х или 10х — 15х. Известные преимущества представляют наподобие бинокулярная лупа или же глазная часовая лупа; очень важно, что при работе с такими лупами свободны обе руки. В ряде случаев просмотр материала проводят с помощью бинокулярного микроскопа (бинокуляра) типа МБС-1 или МБС-2. Общий просмотр семян или черенков проводят при небольшом увеличении, при окулярах 8х и объективе 0,6 или 1; в некоторых случаях пользуются объективами 2 или 4.

Для исследования мелких объектов изготавливают микропрепараты и используют микроскоп.

Для просмотра семена высыпают на стекло или лист плотной белой бумаги, которые протирают спиртом после каждого образца во избежание заражения семян болезнями. Черенки и саженцы просматривают над столом, покрытым белой медицинской клеенкой.

После окончания работы на столе и на полу вокруг стола с помощью щетки-сметки подбирают все растительные остатки, частицы мха, упаковочной бумаги и т. п. мусор. Все это сжигают, клеенку и настольное стекло дезинфицируют 96°-ным спиртом, бумагу, на которой просматривали семена, уничтожают.

Всех вредителей, выявленных при экспертизе каждого образца, помещают в отдельную пробирку и обязательно сразу же снабжают этикеткой, которую следует писать на небольшом прямоугольнике белой бумаги простым черным карандашом.

Этикетка должна быть вложена в пробирку так, чтобы, не вынимая, можно было легко прочитать ее содержание сквозь стекло пробирки.

Помимо насекомых, в ту же пробирку помещают образец поврежденного материала, отделив его ватным тампоном, и затем плотно закрывают пробирку.

Представляющий особую ценность энтомологический материал, извлеченный из образцов, помещают в пробирку так, чтобы нежные или мелкие насекомые не терялись и не ломались среди семян. Для этого сначала в пробирку кладут небольшой кусочек ваты, на который помещают обнаруженных насекомых, отделяют их ватным тампоном и одновременно с этим в пробирку помещают этикетку, затем сверху ватного тампона кладут несколько штук поврежденных семян, заполняя ими не более половины пробирки, и закрывают пробирку вторым более плотным тампоном.

Ватный тампон должен плотно входить в пробирку, и верхний конец его не должен выступать над краем пробирки.

На этикетке следует писать всегда в определенном порядке следующие сведения:

- 1) № протокола экспертизы;
- 2) страна происхождения материала;
- 3) латинское или русское название растения;
- 4) в какой стадии и в каком состоянии обнаружен вредитель;
- 5) фамилия лица, проводившего экспертизу;
- 6) дата экспертизы.

При этом обычно приняты следующие сокращения: «жив.» — живой или живая, «мертв.» — мертвый, «лич.» — личинка, «кук.» — куколка, «гус.» — гусеница. В случае обнаружения вредителя внутри семян пишут — «в сем.», если же между семенами — «среди семян».

Живых личинок или гусениц и куколок надо предварительно соответствующим образом зафиксировать; техника фиксации приводится ниже, в специальном разделе.

На каждый вид обнаруженного вредителя сразу же составляют отдельную каталожную карточку, которая заполняется чернилами. В ней в определенном порядке записывают все необходимые сведения об обнаруженном вредителе.

Все образцы, поступившие на карантинную экспертизу, хранятся в лаборатории в течение 6 месяцев.

Экспертиза семян

Семена бывают заражены различными насекомыми и клещами. Чаще других при экспертизе встречаются разнообразные жесткокрылые и чешуекрылые, реже представители других отрядов насекомых.

В образцах семян могут быть обнаружены следующие шесть видов карантинных вредителей: в семенах бобовых культур — китайская зерновка (*Callosobruchus chinensis* L.) и четырехпятнистая зерновка (*Callosobruchus maculatus* F.), в семенах хлопчатника, кенафа и других мальвовых растений «розовый червь», т. е. гусеницы хлопковой моли (*Pectinophora gossypiella* Saund.) и «розовый кукурузный червь» (*Pyroderces rilevi* Wals.), а также мальвовая моль (*Pectinophora malvella* Hb.). В образцах семян пшеницы, ячменя, кукурузы и других хлебных злаков, в семенах зернобобовых культур (горохе, нуте), а также в косточках авокадо, желудях и каштанах может быть обнаружен ширококоботный амбарный долгоносик (*Caulophilus latinasus* Say).

В семенном материале довольно часто встречаются другие виды вредителей, хотя и не являющиеся объектами карантина, но известные в ряде стран как опасные вредители. Это такие общеизвестные опасные вредители запасов, как зерновой кожеед, или, как его чаще называют, «каптовый жук» (*Trogoderma granarium* Ev.), рисовая огневка (*Corcyra cephalonica* Staint.), арахис-

совая огневка (*Paralipsa gularis* Zell.), зерновой точи́льщик (*Rhizopertha dominica* F.), индийский мучной хрущак (*Tribolium indicum* Blair.) и некоторые другие. Эти вредители являются многоядными и стали во многих странах в последние годы настоящим бичом складского хозяйства; они очень часто попадают при карантинной экспертизе семян различных культур, прибывающих в нашу страну.

С большой тщательностью надо относиться к выявлению не только двух указанных выше видов карантинных зерновок, а также ко всей группе зерновок из того же рода *Callosobruchus*.

Трудно различимые виды этого рода, отсутствующие в СССР, по-видимому, все являются вредителями запасов и повреждают не только семена зернобобовых культур, но и запасы лушеного гороха.

Зараженность образцов семян вредителями и типы повреждений

При анализе семян чаще всего приходится сталкиваться со случаями явной зараженности образцов вредителями и реже со случаями скрытой их зараженности. Кроме того, встречаются случаи неясных признаков скрытой зараженности.

Явная зараженность устанавливается по наличию среди семян самих вредителей в тех или иных стадиях развития или только отдельных фрагментов их тела, по наличию среди семян экскрементов насекомых или же поврежденных семян. В последнем случае при отсутствии самого вредителя определение часто бывает затруднительным.

Яйца насекомых при экспертизе семян обнаруживаются довольно редко, т. к. они обычно очень мелки и часто отложены в скрытых местах семян или же рассыпаны свободно между семенами. Только в тех случаях, когда яйца откладываются непосредственно на семена — прикрепляются к поверхности семян, как это делают некоторые виды зерновок (р. *Callosobruchus zabrotes*), они могут быть обнаружены с помощью лупы, поскольку отличаются по цвету от цвета зерна. Оболочки таких яиц даже после выхода из них личинок остаются приклеенными к поверхности семян и хорошо заметны.

Личинок жуков и гусениц бабочек, свободно развивающихся среди семян, обнаружить значительно проще, особенно таких подвижных, как личинки чернотелок (*Tenebrionidae*), кожеедов (*Dermestidae*), плоскотелок (*Cucujidae*), гусениц огневков и т. п. Несколько труднее выявить малоподвижных личинок, таких, например, как личинки жуков-притворяшек (*Ptinidae*) или точи́льщиков (*Anobiidae*), обычно живущих между склеенными ими зернами или частицами зерен. Наличие в образце свободно живущих гусениц бабочек обнаруживается по присутствию экскрементов и семян, скрепленных паутиной. Экскременты в виде по-

рошка, свободно отсеиваемые с помощью сита, свидетельствуют в большинстве случаев о наличии личинок жуков, обитающих между семенами.

Куколки насекомых чаще всего бывают заключены в коконы, сделанные из паутины или из склеенных отдельных семян или частиц поврежденных семян, и находятся в укрытых местах, складах бумаги, швах мешочков и т. п.

По отдельным частям (фрагментам) тела личинок, гусениц, куколок и взрослых насекомых иногда можно определить вид вредителя. Наличие отдельных частей тела указывает на возможную зараженность образца данными вредителями в стадии живых, но трудно выявляемых яиц или же мелких личинок, находящихся в скрытых местах, например, в старых ходах внутри семян и других местах.

Повреждения семян бывают различного типа.

С наружной стороны поврежденные семена имеют круглые или овальные отверстия различного диаметра. Отверстия и укеры, заполненные экскрементами или пустые, сообщаются с внутренними ходами, полостями или камерами для окукливания. Камеры бывают с паутиной и без нее.

Анализируя семена, поврежденные развивающимися внутри вредителями, почти всегда можно найти внутри семени скрытые фрагменты тела вредителя. В кукольных колыбельках обычно остаются шкурка личинки последнего возраста и шкурка куколки. По этим шкуркам можно иногда определить, каким вредителем сделано повреждение.

Повреждения семян в виде наружных выгрызов с краями, слегка загнутыми внутрь, свидетельствуют о том, что семена были повреждены еще в незрелом состоянии в полевых условиях. Такого типа повреждения встречаются на семенах зерновых бобовых культур, семенах хлопчатника и сделаны они гусеницами или же личинками жуков.

Такого же типа наружные выгрызы, но с гладкими, не загнутыми краями свидетельствуют о наличии какого-либо вредителя, повредившего данные семена в период хранения.

В образцах с такими повреждениями семян имеются порошкообразные экскременты вредителя или же сами вредители в той или иной стадии развития.

Типичными являются выгрызы на семенах чаще всего зерновых культур, произведенные при хранении личинками кожеедов.

Эти личинки сначала полностью и гладко выгрызают зародыш семян, а позже вгрызаются в семя. Среди семян с такими повреждениями часто можно обнаружить живых личинок кожеедов с характерными длинными коричневыми волосками на теле или личиночные шкурки этих вредителей.

Насекомые, развивающиеся внутри семян, оставляют после своего выхода более или менее круглые летные отверстия. К таким насекомым относится большая группа жуков — амбарные

долгоносики (*Calandra*, *Caulophilus*), долгоносики-семееды (*Furcipes*), зерновки (*Bruchidae*), древооточцы (*Lyctidae*), ложнослоняки (*Anthrribidae*), короеды (*Iridae*), капюшонники (*Bostrychidae*), из бабочек — зерновая моль (*Sitotroga*), все виды растенииядных перепончатокрылых семеедов-толстоножек (*Eurytomidae* и др.), из двукрылых — галлицы (*Itonididae*) и многие другие вредители.

На семенах зернобобовых культур после выхода из них жуков-зерновок (*Bruchidae*) остаются характерные строго круглые отверстия с ровными краями довольно большого по сравнению с величиной семени диаметра. Внутренность таких семян истощена постепенно расширяющимися ходами личинок, туго забитыми буровой мукой и заканчивающимися резко расширяющейся эллипсоидальной камерой окукления вблизи поверхности семени. Внутренние стенки такой камеры гладкие, уплотненные и состоят из экскрементов личинок и буровой муки, склеенных слюной личинки.

Эти камеры окукления,готавливаемые личинкой зерновки перед ее превращением в куколку, слегка просвечивают сквозь оболочку семени в виде округлого «окошечка».

Это «окошечко» выталкивается жуком при его выходе из семени и в виде круглой более или менее прозрачной крышечки остается между семенами. Примесь таких крышечек в образцах семян бобовых культур, особенно легко выявляемых с помощью сита, может служить специфическим признаком возможного наличия зараженности данного образца семян еще не вышедшими зерновками.

Повреждения семян зерновых культур амбарными долгоносиками (обыкновенным, рисовым, кукурузным и, по-видимому, также широкохоботным) бывают двух типов.

Повреждения первого, и основного, типа производятся развившимся внутри зерна вредителем. После выхода из зерна жука такое повреждение выглядит в виде круглого летного отверстия с довольно ровными краями, диаметром около 1 мм, чаще всего расположенного на боковой поверхности зерна. Внутри такое зерно обычно полностью выедено и заполнено желтоватыми порошкообразными экскрементами, но эта полость никогда не бывает выстлана паутиной тканью. Повреждения второго типа имеют вид маленьких, около 0,3 мм в диаметре, неглубоких ямок на поверхности зерна в виде укусов. Они наносятся взрослыми жуками во время своего дополнительного питания.

Почти всегда среди семян, поврежденных и зараженных долгоносиками, наряду с поврежденными семенами можно встретить живых или мертвых взрослых долгоносиков. Виды этих долгоносиков хорошо различимы между собой по взрослым стадиям развития жуков.

Повреждение зерна кукурузы, пшеницы и других хлебных злаков зерновой молью (*Sitotroga cerealella* Ol.) отличается от

повреждения амбарными долгоносиками тем, что вокруг круглого, диаметром также около 1 мм, летного отверстия имеется как бы воротничок из плотной белой паутинной ткани, а стенки полости внутри выеденного гусеницей зерна покрыты такой же паутинной тканью. В зерне пшеницы обычно бывает заткана паутиной только одна половина зерна, в другой же половине обычно находятся экскременты. После вылета бабочки в зерне остаются фрагменты куколки этой моли, в частности, остатки оболочки брюшка с тремя характерными для этого вида тупыми зубцами на вершине.

Среди поврежденных зерновой молью семян можно встретить и остатки мертвых бабочек зерновой моли, в частности отвалившиеся брюшки бабочек. Разварив их и сделав из гениталий микропрепарат, можно точно установить, действительно ли это зерновая моль.

Следует иметь в виду, что в Индии подобно обычной зерновой моли распространен другой вид — индийская зерновая моль (*Aristotelia austeropa* Maug.), а в семенах риса — индийская рисовая моль (*Epithectis studiosa* Maug.). Различить их можно только при исследовании под микроскопом гениталий бабочек или по хемотаксии гусениц.

Семена кукурузы иногда также повреждают гусеницы другой бабочки — южной амбарной огневки (*Plodia interpunctella* Hb.). Повреждения зерен кукурузы гусеницами этой огневки имеют несколько иной характер: зерна имеют наружные более или менее глубокие выгрызы, а между поврежденными зернами имеется обильная паутина с запутавшимися в ней комочками экскрементов. Здесь же обнаруживаются и гусеницы этой огневки.

Зараженность семян хлопчатника и кенафа гусеницами хлопковой моли — «розовым червем» (*Pectinophora gossypiella* Saund.) в некоторых случаях может быть выявлена по наличию в образце двойных или тройных семян, плотно скрепленных между собой паутиной. В таких семенах обычно находятся паутинный кокон с диапаузирующей гусеницей хлопковой моли или сами гусеницы в активном состоянии. Однако отсутствие таких двойных или тройных семян не свидетельствует еще о незараженности образца «розовым червем». Гусеницы очень часто могут быть обнаружены внутри одиночных семян.

Молодые, недавно вышедшие из яиц гусеницы хлопковой моли проникают в семена с незатвердевшей оболочкой еще в полевых условиях. Впоследствии входное отверстие зарастает. Такие одиночные семена, зараженные «розовым червем», не отличаются от нормально развитых и, несмотря на наличие внутри живого вредителя, по внешнему виду, размерам и окраске часто совершенно не отличимы от незараженных семян.

Иногда среди семян хлопчатника можно обнаружить отдельные семена с выгрызенным сбоку отверстием. Если полностью

освободить такое семечко от волокна, то можно увидеть, что отверстие имеет округлые очертания, диаметр его около 2,5—3 мм и края его слегка загнуты внутрь семени. Волокно на таких семенах загрязнено и частично склеено выделениями гусеницы, окрашено в желтый или бурый цвет. Вблизи отверстия среди волокон бывают заметны крупинки экскрементов гусеницы.

Такие семена хлопчатника с типичными внешними признаками повреждения «розовым червем» внутри оказываются почти полностью выгрызенными и наполнены скрепленными паутиной экскрементами гусеницы, выстланы плотной серебристо-белой пленчатой паутиной оболочкой разрушенного кокона, в котором диапаузировала гусеница. Среди экскрементов можно обнаружить личиночную шкурку или только хитиновую головную капсулу гусеницы, покинувшей поврежденное ею семечко. Очень редко встречаются в семенах остатки шкурок куколок бабочек. Но так как заражение «розовым червем» носит скрытый характер, то для выявления зараженных семян гусеницами (*P. gossypiella*) применяется метод рентгенографии семян хлопчатника, а также кенафа и других мальвовых.

Семена очень многих растений из различных семейств — розоцветных, бобовых, лилейных, губоцветных, зонтичных, молочайных, хвойных и др. часто до вылета из них взрослых вредителей не имеют внешних признаков зараженности. Вредителями таких семян являются различные виды семеядов из числа растенииядных перепончатокрылых (*Systole*, *Bruchophagus*, *Eurytoma*, *Megastigmus*, *Syntomaspis*) или жуки-семееды (*Rhynchites*, *Furcipes*) и др.

Зараженность семян этими вредителями в случае отсутствия летных отверстий и самих насекомых может быть установлена только путем вскрытия семян или методом рентгенографии.

Очень немногие вредители, развивающиеся внутри семян, вызывают какие-либо изменения во внешнем виде семян. Так, например, семена березы, зараженные березовой галлицей-семеядом (*Semudobia betulae* Winn.), легко могут быть выявлены среди незараженных, т. к. семена, содержащие этого вредителя, значительно крупнее нормальных, несколько деформированы, а крылатки их почти полностью отсутствуют.

Также под влиянием заражения вредителем изменяют свой нормальный вид желуди некоторых видов дуба, пораженные желудевой орехотворкой (*Callirhytis glandium* Gir.). Под кожурой зараженных этой орехотворкой желудей образуются твердые многокамерные или однокамерные галлы, из-за наличия которых эта оболочка имеет вздутия или даже трещины.

В ряде случаев чрезвычайно трудно бывает даже под биноклем найти на семенах бобовых растений, зараженных зерновками (*Bruchidae*), ту точку, где вгрызлась внутрь семени молодая личинка зерновки. Если при этом отсутствуют на семенах летные отверстия зерновок, или «окошечки», то такие семена при

внешнем осмотре часто могут быть приняты за незараженные. Следует, кстати, напомнить, что на семенах целого ряда бобовых культур, имеющих сморщенную поверхность, как, например, некоторые сорта гороха, «окошечки» часто почти совершенно незаметны, а обнаружить на таких семенах входные отверстия, сделанные молодыми личинками, еще труднее.

Точно также при отсутствии летных отверстий на семенах или насекомых среди семян часто можно пропустить внутреннюю зараженность семян амбарным долгоносиком (*Calandra granaria* и др.), зерновым точилициком (*Rhizopertha dominica* F.), зерновой молью (*Sitotroga cerealella* Oliv.). Места откладки яиц этими вредителями на семенах часто малозаметны.

Когда отсутствуют явные признаки зараженности семян, но вместе с тем необходимо точно установить, нет ли внутреннего их заражения, приходится прибегать к специальным способам выявления скрытой зараженности или же применять способы, облегчающие выделение из общей массы семян только неполноценных, в том числе и зараженных вредителями.

Методы экспертизы семян

В соответствии с объемом образцов семян, а также большей или меньшей вероятностью обнаружения в них тех или иных вредителей практикой выработаны различные приемы лабораторной экспертизы семян.

Метод лоптучного осмотра семян. Сначала обращают внимание на общий вид пакета с семенами, на наличие летных отверстий в бумаге. При наличии таковых дополнительно осматривают общую упаковочную бумагу, внутренность общей тары, где можно обнаружить вышедших за время пути насекомых.

После этого вскрывают пакет или развязывают мешочек и заглядывают внутрь, осматривают поверхность семян и стенки пакета или мешочка, где могут быть обнаружены живые жуки, гусеницы и другие насекомые в активном состоянии. Затем высыпают весь образец семян на лист чистой белой бумаги, белой медицинской клеенки или пластиката. Если образец велик (например, более килограмма), то его высыпают по частям. После того, как семена будут высыпаны из мешочка или пакета, прежде всего осматривают поверхность бумаги или клеенки вокруг кучки высыпанных семян, где могут быть обнаружены расползающиеся насекомые. В случае обнаружения насекомых их собирают с помощью эксгаустера, пинцета или смоченной кисточки и помещают в пробирку, которую закрывают пробкой или плотным ватыным тампоном. Затем внимательно осматривают внутреннюю поверхность пустого бумажного пакета или мешочка, особенно тщательно исследуя складки бумаги и швы, где могли остаться прикрепленные к упаковочному материалу коконы гусениц или личинок жуков или же свободно ползающие насекомые. Потом

внимательно осматривают поверхность кучки высыпанных из пакета или мешочка семян и наблюдают, нет ли движущихся среди семян каких-либо насекомых.

После этого начинают просмотр всех семян. С помощью шпателя или косой плексигласовой лопатки. небольшими порциями отделяют семена из общей кучи и перемещают их на свободное место клеенки или бумаги. Постепенно таким образом просматривают всю кучу семян, после чего в случае отсутствия вредителей или признаков заражения ими семена вновь высыплют в мешочек или бумажный пакет и завязывают или закрывают его, перегибая край 1—2 раза и загибая уголки. При этом не надо забывать положить внутрь этикетку с названием сорта и другими сведениями о данных семенах.

Только после этого вскрывают следующий образец и анализируют его подобным же образом. Бумагу или клеенку перед высыпанием на нее следующего образца хорошо протирают ватой, слегка смоченной спиртом, чтобы исключить возможность взаимного заражения образцов спорами возбудителей возможных грибных заболеваний или бактериями, а также, чтобы исключить заражение образцов незамеченными при экспертизе мельчайшими яйцами клещей или насекомых.

При перемещении семян лопаткой обращают внимание не только на семена, но и на то, что при этом может встретиться между семенами. Перека́тывая или передвигая семена, их осматривают по возможности со всех сторон и выделяют на край клеенки или бумаги семена, имеющие выгрызы, отверстия, деформации, ненормально окрашенные семена, с наклеенными на поверхности яйцами насекомых, с наличием «окошечек», с комочками экскрементов гусениц, скрепленные паутиной или с другими признаками заражения насекомыми.

Между просматриваемыми семенами могут встретиться живые или мертвые насекомые и клещи, отдельные фрагменты тела насекомых в различных стадиях развития и экскременты.

Метод просеивания семян. При наличии среди семян экскрементов насекомых или большого количества живых или мертвых вредителей полезно семена просеять, воспользовавшись набором почвенных сит. При просеивании образца семян в верхних фракциях могут быть выделены различные крупные насекомые или галлы насекомых, более крупные по размерам, чем семена, например галлы маковой орехотворки — *Perrisia ravaris* Winn., а в нижние фракции попадают экскременты насекомых, отдельные части их тела (ноги, усики) и клещи.

Метод флотации. Для некоторых семян, а также косточек и орехов может быть применен метод флотации, т. е. метод выделения из образца неполноценных семян по их удельному весу. Образец семян высыплют в насыщенный раствор поваренной соли или селитры, налитый в какой-нибудь сосуд с прямыми стенками. После этого семена хорошо перемешивают

стеклянной палочкой, и затем быстро, не давая им набухнуть, извлекают с помощью шпателя или ложки все семена, всплывшие на поверхность жидкости. Всплывшие и потонувшие семена раздельно промывают водой и просушивают, раскладывая их тонким слоем на газетную или фильтровальную бумагу, сложенную в несколько слоев. Просушивание семян должно длиться не менее суток, причем здоровые семена обязательно перемещают на бумаге или сменяют ее 2—3 раза. Всплывшие неполноценные семена анализируют путем поштучного вскрытия и устанавливают вид вредителя, фазу его развития и состояние.

Метод рентгенографии. Для выявления скрытой зараженности семян вредителями наилучшим методом является метод рентгенографии.

Рентгенографирование семян производится с помощью рентгеновского аппарата АРС-1, оснащенного мягколучевой рентгеновской трубкой. Наиболее высококачественные снимки получаются при следующем режиме работы аппарата: при напряжении 7—9 киловольт, силе тока 10 миллиампер и расстоянии от рентгеновской трубки до пленки равном 90 см. Съемка производится на обычной рентгенопленке с двусторонним эмульсионным слоем.

Процесс рентгенографирования семян заключается в следующем.

Подлежащие исследованию семена раскладывают в один слой в специальные объектные деревянные плоские коробочки с дном из тонкой бумаги. Под эти коробочки подкладывают незасвеченную рентгенопленку, помещенную в светонепроницаемый конверт-кассету из черной бумаги. Над подготовленными таким образом семенами помещают рентгеновскую трубку и включают аппарат. Экспозиция длится около 5 минут. Съемка производится в светлой комнате, без затемнения.

Одновременно производится съемка до 30 коробок размером 9×12 см, расставленных на столе на площади около 60×60 см. После окончания съемки коробки с семенами осторожно, чтобы не сместились семена, переносят на другой стол, а заснятые конверты-кассеты с пленкой уносят в фотокомнату и там при темно-красном свете проявляют пленку и фиксируют.

Проявленные и высушенные рентгенограммы исследуют с лупой или под биноклем в проходящем свете и отмечают на них карандашом все семена, подлежащие изъятию из образца. На рентгенограммах хорошо видны семена, внутри которых находятся гусеницы или другие вредители, а также выгрызенные ими полости, заполненные экскрементами. По характеру теневых изображения можно легко различать также живых и мертвых насекомых. После этого с помощью горизонтального негатоскопа, снабженного вилок-искателем семян, находят в соответствующих местах каждой коробки семена, содержащие вредителей, осторожно вынимают их пинцетом и вскрывают под би-

покуляром. Извлеченных из семян вредителей определяют обычным порядком.

Рентгенометод с использованием специально сконструированного аппарата АРС-1 применяется в карантинных лабораториях. Этим методом анализируют все импортные образцы семян хлопчатника, включая не только культурные его сорта, но и дикорастущие и многолетние древовидные хлопчатники из родов *Boerhaavia* и *Thurbergia*, семена кенафа, а также семена зернобобовых культур, в случае если они не имеют явных признаков зараженности, и все другие семена, подозрительные на скрытую зараженность.

Подробно методика рентгеноэкспертизы изложена в изданной в 1958 году Министерством сельского хозяйства СССР книге А. Варшаловича «Руководство по карантинной энтомологической экспертизе семян методом рентгенографии».

Люминесцентный метод. Этот метод в последнее время начали использовать в практике карантинных лабораторий, главным образом при фитопатологической и бактериологической экспертизе растительных материалов. При этом применяется специальное люминесцентное устройство ОИ-17.

При энтомологической экспертизе пользуются обычно аналитической кварцевой лампой типа ЛЮМ или Л-84, или обыкновенной медицинской кварцевой лампой с горелкой типа ПРК-2 или ПРК-4, снабженной защитным светофильтром из стекла марки УФС-3, пропускающим только невидимые ультрафиолетовые лучи.

С помощью фильтрованных ультрафиолетовых лучей, которыми богато излучение кварцевой горелки, удается в затемненной комнате ясно различать по цвету и яркости свечения в этих лучах места откладки яиц на семенах хлебных злаков амбарными долгоносиками (обыкновенным, рисовым, кукурузным и широкохоботным); этот метод также облегчает нахождение среди массы незараженных семян зернобобовых культур семена с отложенными на их поверхности яйцами карантинных и других видов зерновок.

Этот метод также может быть с успехом использован и для выявления скрытых в щелях коры саженцев следов восковых выделений некоторых насекомых, например кровяной тли, мучнистых червецов и т. п.

Экспертиза посадочного и прививочного материала плодовых и ягодных культур

Наибольший удельный вес поступающего в СССР посадочного и прививочного материала составляют саженцы и черенки цитрусовых культур: апельсинов, лимонов, мандаринов, помеланцев, тангелинов, грейпфрутов, пампельмусов, цитронов и других.

На саженцах и черенках встречаются многочисленные виды вредителей из различных отрядов насекомых, а также разнообразные виды клещей.

Чаще других вредителей могут быть обнаружены многочисленные виды червецов и щитовок, среди которых многие являются в СССР карантинными объектами. Значительно реже встречаются представители других подотрядов отряда равнокрылых хоботных: тли, цикадки, медяницы, алейродиды.

Вредители могут быть найдены как на надземных, так и на подземных частях растений, во всех стадиях развития на коре побегов и стволов, на корнях или же в скрытом состоянии внутри почек, под корой, в древесине.

Большинство карантинных видов вредителей, встречающихся на посадочном и прививочном материале, является полифагами или олигофагами и только четыре вида карантинных вредителей из числа встречающихся на посадочном материале являются монофагами.

Полифагами из числа кокцид являются десять видов, а именно: австралийский желобчатый червец (*Icerya purchasi* Mask.), цитрусовый мучнистый червец (*Pseudococcus gahani* Green.), червец комстока (*Pseudococcus comstocki* Kuw.), инжировая восковая ложнощитовка (*Ceroplastes rusci* L.), японская восковая ложнощитовка (*Ceroplastes japonicus* Green.), японская палочковидная щитовка (*Leucaspis japonica* Ckll.), тутовая щитовка (*Pseudaulacaspis pentagona* Targ), разрушающая щитовка (*Aspidiotus destructor* Sign.), калифорнийская щитовка (*Diaspidiotus perniciosus* Comst.), японская камелиевая щитовка (*Pseudaonidia paeoniae* Ckll.).

Олигофагами из числа кокцид, вредящих только цитрусовым культурам, являются три вида: восточный мучнистый червец (*Pseudococcus citriculus* Green), восточная цитрусовая щитовка (*Unaspis japonensis* Kuw.) и апельсиновая щитовка (*Unaspis citri* Comst.).

Монофагами из группы карантинных видов вредителей, встречающихся на посадочном материале, являются: грушевая огневка (*Numonia pyrivorella* Mats.), повреждающая только грушу, маслиновая моль (*Prays oleellus* F.), повреждающая только маслины, филлоксеры (*Phylloxera vastatrix* Planch.), повреждающая только виноград, и яблонная златка (*Agrilus mali* Mats.), повреждающая только яблони.

Из числа карантинных видов кокцид зимуют в стадии яиц червец комстока — *Pseudococcus comstocki* Kuw. В стадии личинок 1—2-го возраста зимует только калифорнийская щитовка —

Diaspidiotus perniciosus Comst. В стадии личинок 2-го и 3-го возрастов в трещинах коры и разветвлениях побегов зимует цитрусовый мучнистый червец — *Pseudococcus gahani* Green. Взрослые самки и личинки 2-го возраста зимуют у восточной цитрусовой щитовки — *Unaspis yanonensis* Kuw. В стадии только взрослых самок зимуют инжировая восковая ложнощитовка — *Ceroplastes rusci* L. и японская восковая ложнощитовка — *Ceroplastes japonicus* Green. Также во взрослом состоянии зимуют самки тутовой щитовки — *Pseudaulacaspis pentagona* Targ. В стадии самок может зимовать и разрушающая щитовка — *Aspidiotus destructor* Sign. Австралийский желобчатый червец — *Icerya purchasi* Mask. зимует в стадии личинок последнего возраста. Что касается восточного мучнистого червеца — *Pseudococcus citriculus* Green и японской камелиевой щитовки — *Pseudaulacaspis raeoniae* Ckll., то стадия, в которой они могут быть встречены зимой на посадочном материале, неизвестна.

Калифорнийская щитовка — *Diaspidiotus perniciosus* Comst. — может быть обнаружена на посадочном материале многих плодовых культур, прибывающих из стран, где она распространена. Из цитрусовых она может быть встречена только на трехлистном диком померанце, являющемся подвоем для культурных сортов цитрусовых.

При экспертизе посадочного и прививочного материалов в зимний период при слабой степени зараженности обнаружить калифорнийскую щитовку трудно, так как она зимует в стадии личинок 1—2-го возраста. Эти личинки очень мелкие, имеют щитки диаметром около 0,5 мм, иногда окрашенные под цвет коры. Часто они встречаются только в единичных экземплярах в щелях коры или в пазухах почек.

На плодовых культурах, кроме калифорнийской щитовки, встречаются почти не различимые по внешним признакам (щиткам) другие, близкие виды щитовок, не являющиеся карантинными объектами, а именно: желтая грушевая щитовка — *Diaspidiotus spurcatus* Sign., ложнокалифорнийская щитовка — *Diaspidiotus ostreaeformis* Comst. и некоторые другие виды этих щитовок, которые с уверенностью можно различить только по микроразличиям.

Кроме кокцид, на посадочном материале цитрусовых культур из числа карантинных видов вредителей могут быть обнаружены зимующие личинки и pupарии цитрусовой белой мушки (*Dialeurodes citri* Ashm.), под корой — личинки цитрусовой златки (*Agrilus auriventris* Saund.), цитрусовых усачей (*Apriona*).

При наличии остатков почвы на корнях саженцев цитрусовых, прибывающих из Китая, не исключена возможность обнару-

ружения пупариев большой мандариновой мухи — *Tetradacus citri* Chen и колоний восточного мучнистого червеца — *Pseudococcus citriculus* Green, а на таком же материале из стран Средиземноморья — пупариев средиземноморской плодовой мухи — *Ceratitis capitata* Wied.

При наличии остатков почвы между корнями прибывшего посадочного материала любых культур можно также ожидать нахождения в этих остатках личинок пластинчатоусых жуков, в частности, личинок японского жука — *Popillia japonica* Newm. и японского опалового хруща — *Maladera japonica* Motsch.

На корнях саженцев любых культур, полученных из Америки или Австралии, могут быть найдены яйца или другие стадии развития белокаемчатого жука — *Ranatomus leucoloma* Boh.

Под корой стволов посадочного материала яблони, прибывшего из Китая, могут быть выявлены личинки яблонной златки — *Agrilus mali* Mats.; в трещинах молодой коры могут быть яйца цикад.

На саженцах плодовых культур могут встретиться и другие виды узкотелых златок, например *Agrilus sinuatus* Ol. Эта златка распространена в странах средней и южной Европы, в Северной Африке и Северной Америке, а также в СССР (в средней и южной полосе европейской части) и повреждает аналогично «восточной» яблонной златке (*Agrilus mali* Mats.) яблони, а, кроме того, груши, боярышник и рябину.

Посадочный материал груш, прибывший из Китая, Кореи и Японии, может оказаться зараженным гусеницами грушевой огневки (*Numonia pyrivorella* Mats.), зимующими в почках.

Тонкие побеги саженцев и черенки персиков и слив, поступающие из стран южной Европы, восточной Азии, северной и южной Америки и Австралии, могут содержать внутри гусениц восточной плодовой (Laspeyresia molesta Busck.), а среди остатков почвы между корнями саженцев яблонь, персика и некоторых других культур, поступающих из стран Восточной Азии, могут быть найдены земляные шарообразные кокончики с зимующими гусеницами персиковой плодовой (Carpocapsa sasakii Mats.).

Из некарантинных объектов на саженцах персиков и яблонь, поступающих из США, можно обнаружить персиковую стеклянницу (*Sanninoidea exitiosa* Say), гусеницы которой живут под корой и в древесине в области корневой шейки саженцев.

Кроме упомянутых выше карантинных объектов, саженцы и черенки часто бывают заражены многими другими видами вредителей.

Зимующие яйца вредителей плодовых культур могут быть найдены на тонких веточках вблизи почек или на самих почках, на коре, в развилках веточек, под корой побегов и стволиков, в области корневой шейки, в щелях коры и на корнях.

На почках, в пазухах почек и на коре могут находиться мелкие оранжевые гладкие, эллипсоидальной формы, слегка расширенные с одного конца яйца яблоневой медяницы (*Psylla mali* Först.), а также красновато-бурые, но немного более крупные ($0,9 \times 0,6$ мм), цилиндрические, с сетчатой толстой оболочкой яйца зимней пяденицы (*Operophtera brumata* L.) или же похожие на них, но еще более крупные ($1,0 \times 0,7$ мм) яйца пяденицы-обдирало (*Erannis defoliaria* Cl.), черные блестящие зимние яйца тлей (*Aphidae*) или шарообразные красные яйца (обычно в трещинах коры и на почках) бурого плодового клещика (*Bryobia redikorzevi* Reck.).

На саженцах и черенках яблони, на побегах 1-го года, вблизи почек можно иногда встретить небольшие, слабо заметные на коре, слегка выпуклые красновато-коричневые или сероватые щитки. Это высохшие выделения придаточных половых желез самки, которыми покрывает бабочка горностаевой яблоневой моли (*Hypopomeuta malinellus* Zell.) отложенные ею кучки яиц. Зимой под этими щитками находятся вышедшие осенью из яиц гусеницы. Иногда могут встретиться у основания почек или в развилках веточек одиночные красновато-желтые, овально-продолговатые яйца древесницы вьедливой — *Zeuzera rugina* L.

На поверхности коры саженцев груши, яблони, персика, мушмулы и других плодовых культур, ввозимых из Китая или других стран юго-востока Азии, могут быть обнаружены небольшие, длиной около 0,5 сантиметра, слегка изогнутые надрезы коры, причем одна сторона таких надрезов обычно слегка более выпуклая, чем другая, и выступает в виде набитого «кармашка». Если осторожно вскрыть такой кармашек скальпелем, то под корой обнаружатся беловатые, слегка прозрачные удлинённые яйца, тесно расположенные одно возле другого в один ряд. Такие надрезы коры, сделанные яйцекладом, и кармашки очень характерны и представляют собой яйцекладки цикадок из рода *Ledra*. Примерно подобным же образом, но в виде отдельных уколов откладывают яйца некоторые виды пилильщиков (*Tenthredinidae*) и сверчков-трубачей из рода *Oecanthus*.

В области корневой шейки саженцев можно обнаружить покрытые белым пушком из тонких восковых нитей кучки светло-желтых яиц червеца комстока (*Pseudococcus comstocki* Kuw.).

В стадии личинок зимуют и могут встречаться на посадочном материале следующие карантинные виды: гусеницы восточной плодовой гусеницы, грушевой огневки, персиковой плодовой гусеницы, личинки яблонной златки, личинки японского жука, опалового японского хруща и белокаемчатого жука; в стадии куколки или нимфы — маслинная моль, цитрусовая белая мушка, американская белая бабочка, средиземноморская плодовая муха и большая мандариновая муха.

Слабая зараженность поступающего материала вредителями делает экспертизу саженцев и черенков чрезвычайно трудоемким процессом, так как требует тщательных поисков единичных, часто очень мелких насекомых на растениях при отсутствии каких-либо косвенных признаков заражения.

Трудно бывает обнаружить заражение посадочного материала вредителями, которые обитают под корой или в древесине, как, например, личинки некоторых видов галлиц из сем. *Itonididae*, развивающихся в камбиальном слое коры, или гусеницы ряда видов бабочек-стеekлянц из сем. *Aegeriidae*.

Сравнительно легко могут быть выявлены по более или менее ясно заметным признакам заражения гусеницы восточной плодовой галлицы — *Laspeyresia molesta* Busck., находящиеся внутри усыхающих тонких побегов. Личинок яблонной узкотелой златки — *Agrilus mali* Mats. можно обнаружить по наличию просвечивающих сквозь тонкую кору стволов или ветвей извилистых или петлевидных ходов, забитых буровой мукой.

В некоторых случаях под влиянием выделений насекомых, обитающих в растительных тканях, образуются различной формы галлообразные разрастания тканей или же искривления побегов.

В случаях, если внутри покоящихся почек имеются зимующие стадии вредителей, эти почки могут приобретать ненормальный вид: они становятся заметно крупнее, чем незараженные, делаются рыхлыми или выделяют капли камеди.

Иногда на почках или разветвлениях тонких веток можно заметить тончайшую паутину, свидетельствующую о присутствии клещиков из группы тетранихондных клещей.

Места откладки яиц насекомыми под тонкую кору побегов или стволов легко заметить по наличию различного размера и очертаний надразов на коре, сделанных яйцекладом вредителя, по наличию слегка выпуклых «кармашков» и т. п.

Наличие отверстий, прогрызенных в коре саженцев, не всегда свидетельствует о том, что вредитель уже закончил свое развитие и покинул поврежденное им растение. В ряде случаев такие отверстия могут являться признаком наличия живого вредителя в зараженных тканях.

По характеру и очертаниям отверстий на коре побегов, веток или стволов саженцев иногда можно установить, каким насекомым эти отверстия сделаны. Так, например, узкоовальные отверстия остаются на коре после вылета взрослых узкотелых златок, в частности, яблонной златки (*Agrilus mali* Mats.), маленькие круглые отверстия в коре на концах веток чайного куста и камелий прогрызают гусеницы чайной моли (*Parametritis theae* Kusp.) для вылета бабочки.

Довольно широкие ходы в древесине в области корневой шейки на саженцах персиков прогрызают гусеницы персиковой

стекляницы (*Sappinoidea exitiosa* Say); при этом из этих ходов, имеющих наружное выходное отверстие, высыпается буровая мука и выделяются капли камеди.

Техника экспертизы посадочного и прививочного материала

После ознакомления с документами, сопровождающими посадочный или прививочный материал, по которым устанавливают страну происхождения материала и видовой состав растений, приступают к осмотру поверхности упаковки отдельных тюков или ящиков.

Затем приступают к вскрытию обшивки тюка. После снятия веревки и наружной матерчатой обшивки осматривают поверхность следующего слоя упаковки — рогожную или циновочную обертку пучка штамбов. На ее поверхности могут быть обнаружены ползающие насекомые. Их собирают в пробирки и закрывают ватными пробками. Затем снимают веревки и вскрывают внутреннюю упаковку с надземных и подземных частей саженцев, таким же образом осматриваются и черенки.

Освободив материал от моха или влажной ваты, которыми бываю переложены связки саженцев или черенков, разбирают их по этикеткам и приступают к экспертизе.

Экспертиза черенков. Развязав одну из связок черенков, остальные связки прикрывают влажным мохом, чтобы они не подсыхали, берут по одному черенку и внимательно осматривают его со всех сторон по всей его длине. При этом удобнее пользоваться не обыкновенной 7- или 10-кратной лупой, которую приходится держать в руке, а налобной бинокулярной лупой. Рекомендуется при экспертизе пользоваться бинокуляром типа МБС-1, позволяющим в случае необходимости быстро сменить объективы, чтобы рассматривать объекты при большем или меньшем увеличении.

В течение всего процесса осмотра черенок держат левой рукой за нижний, более толстый конец, с которого обычно начинают осмотр каждого черенка. Этой рукой, отводя ее постепенно влево, проводят черенок на определенном расстоянии под объективом бинокуляра или под лупой и просматривают его. Пальцами правой руки слегка поддерживают остальную часть черенка в горизонтальном положении.

По мере перемещения черенка влево его необходимо все время вращать левой рукой, подставляя для осмотра все стороны. Так осматривается вся поверхность каждого черенка.

Если концы черенков покрыты слоем парафина, то его осторожно удаляют с помощью скальпеля и осматривают кору в этих местах. Тщательно осматривают торцовые концы черенков, стараясь не нарушать образовавшийся каллус. При наличии

подозрительных пятен на разрезе камбиального слоя или забитых буровой мукой ходов этот участок черенка вскрывают.

Если черенки после экспертизы отправляются в карантинный питомник не сразу, а только на следующий день, то их концы после осмотра снова окунают в расплавленный парафин.

При обнаружении отверстий в коре или древесине на торцовых концах черенка или же при наличии засыхающих или засохших верхушечных побегов эту часть черенка вскрывают скальпелем, так как внутри могут оказаться гусеницы восточной плодовой моли (*Laspeyresia molesta* Busck.) или другие вредители.

В случае, если какой-либо участок коры или почка при осмотре покажутся подозрительными, то, пользуясь большим увеличением бинокля, детально исследуют это место. При этом пользуются препаровальной иглой или концом скальпеля, которыми осторожно вскрывают подозрительный бугорок или ненормально развившуюся почку. Особенно внимательно надо относиться к почкам на саженцах груш, так как внутри их могут оказаться гусеницы огневки (*Nummiparvirorella* Mats.).

В пазухах почек, местах прививок и трещинах коры часто можно обнаружить укрывшихся на зимовку единичных насекомых — щитовок, ложнощитовок, червецов и др.

При наличии ненормальных утолщений, искривлений веток или галлов выясняют их происхождение и, если черенок не очень толстый, подвергают его анализу методом рентгенографии для выяснения скрытого заражения вредителем.

Если нет возможности применить метод рентгенографии, то участок черенка с патологическим образованием вскрывают скальпелем или ножом.

Вскрытие почек или отдельных участков коры и древесины посадочного или прививочного материала производят лишь в крайних случаях, т. к. важно сохранить ценный импортный материал. Однако не следует отказываться от вскрытия, если имеется определенное подозрение на внутреннюю зараженность каким-либо вредителем.

При подозрении на зараженность материала каким-либо вредителем, выделяющим воск, например, кровавая тля (*Eriosoma lanigerum* Hausm.) или мучнистые червецы (*Pseudococcus* spp.), для облегчения обнаружения вредителя в щелях коры и других труднодоступных углублениях может быть использован люминесцентный метод.

Экспертиза саженцев. Надземные части саженцев просматривают так же, как черенки. Но в этом случае чаще приходится пользоваться только лупой.

При просмотре саженцев большое внимание необходимо уделять осмотру корневой шейки и корней. На корневой шейке могут быть обнаружены капли камеди, буровая мука, экскре-

менты насекомых, показывающие наличие вредителя в древесине растения. В этих случаях очищают корневую шейку от мертвой коры и вскрывают поврежденный участок, чтобы извлечь из него вредителя.

Если наружных признаков повреждения не заметно, корневую шейку прощупывают. При наличии ходов под корой в таких местах обнаруживается пустота.

Экспертиза клубней картофеля

На лабораторную экспертизу поступают образцы клубней культурных сортов картофеля, предназначенные для селекционных целей. Вес таких образцов не превышает обычно 10 кг.

Довольно значительный процент составляют многочисленные, небольшие по весу, образцы разнообразных диких видов картофеля, привозимые в Советский Союз научными экспедициями из стран Южной Америки и других стран земного шара.

Также подвергается экспертизе импортный картофель, поступающий в СССР для продовольственных целей. Поступают образцы и с иностранных пароходов, имеющих продовольственный картофель для питания судовой команды.

В клубнях различных сортов культурного картофеля, прибывающих из стран, где распространен колорадский жук, можно ожидать наличия вгрызшихся в мякоть взрослых колорадских жуков — *Leptinotarsa decemlineata* Say.

Вторым опасным карантинным вредителем, который может быть обнаружен в клубнях картофеля, является картофельная моль — *Gnorimoschema* (*Phthorimaea*) *operculella* Zell. и другие близкие виды молей, развивающиеся в клубнях картофеля.

Как показывает практика, с импортными клубнями картофеля могут быть завезены червец комстока — *Pseudococcus comstocki* Kuw. и цитрусовый мучнистый червец — *Pseudococcus gahani* Green.

На клубнях картофеля возможно обнаружение и других видов мучнистых червцов: виноградного мучнистого червца — *Pseudococcus citri* Risso и приморского мучнистого червца — *P. maritimus* Ehrh.

Внутри клубней картофеля, привезенных из стран Южной Америки, в особенности в клубнях дикого картофеля, может быть обнаружен целый ряд видов картофельных долгоносиков, например, тукуманский картофельный долгоносик — *Rhigopsidius tucumanus* Hell. и другие виды.

Часто клубни картофеля, особенно загнивающие, бывают заражены обычными, широко распространенными вредителями: корневыми клещиками — *Rhizoglyphus echinopus* F. et R. или некоторыми другими видами клещиков, а также личинками цело-

го ряда видов двукрылых: мух-журчалок — *Eumerus strigatus* F., мух-мохнаток — *Bibio marci* L. и *B. hortulans* L., комариков — *Phyxia scabiei* Норк., дрозophil — *Drosophila* spp. и многих других.

Иногда в загнивающих клубнях могут быть найдены также многочисленные ногохвостки — *Collembola*.

Многие полевые вредители, как, например, гусеницы целого ряда видов подгрызающих совок, личинки шелкунов, личинки жуков-блешек (*Epithrix* spp.), а также слизи и некоторые другие вредители наносят повреждения клубням картофеля в виде различных выгрызов или же более или менее глубоких ходов в мякоти клубней. Большую часть таких видов вредителей обнаружить в клубнях не удастся — они остаются в поле.

Признаки заражения клубней картофеля вредителями

Явная зараженность клубней картофеля устанавливается при наличии вредителей на поверхности клубней или среди клубней.

В некоторых случаях при внешне здоровом виде клубней и кажущемся на первый взгляд отсутствии насекомых на поверхности клубней, особенно в глазках, можно найти косвенные признаки присутствия вредителей в виде небольших комочков экскрементов, которые в одних случаях могут быть скреплены паутиной (экскременты гусениц), в других — легко распадаются на отдельные части.

Иногда в углублениях на поверхности клубней можно обнаружить небольшие комочки белого пушка, состоящего из тончайших восковых нитей, под таким пушком часто находится кучка продолговатых, длиной около 0,5 мм, желтых или розоватых яиц мучнистых червецов; часто здесь же находится и самка мучнистого червеца. Чтобы их обнаружить, осторожно раздвигают нити пушка препаровальной иглой.

При экспертизе клубней картофеля можно также встретить клубни с ходами, прогрызенными личинками насекомых более или менее глубоко в мякоти или непосредственно под кожицей. Так, например, могут быть обнаружены забитые экскрементами ходы диаметром 4—5 мм, заканчивающиеся у поверхности клубня овальной полостью — куколочной колыбелькой. Стенки ходов, забитых экскрементами, никогда не бывают покрыты паутиной тканью. Внутри такого хода или в колыбельке живет белая, дугообразно согнутая толстая безногая малоподвижная личинка с бурой головой, или белая куколка жука, или же взрослый жук — картофельный долгоносик (*Rhigopsidius tucumanus* Hell.), или другие виды долгоносиков.

Ходы гусениц картофельной моли — *Gnorimoschema* (*Phthorimita*) *operculella* Zell. и других видов картофельных молей бы-

рают не более 2—3 мм в диаметре и заполнены экскрементами. Иногда на разрезе клубня с ходами мякоть вблизи стенок ходов приобретает розоватый оттенок. Начинаются ходы преимущественно от глазков клубня и проходят в поверхностных слоях мякоти клубня, поэтому часто их можно заметить снаружи. Кожура над ходами несколько углубляется и подсыхает. Внутри ходов могут быть найдены беловатые и желтоватые подвижные гусеницы картофельной моли длиной до 15 мм. Голова гусеницы моли бурая, светло-коричневый щиток на переднеспинке разделен вдоль светлой спинной линией.

Узкие цилиндрические ходы с опробковевшими стенками остаются в мякоти клубней после ухода личинок жуков-щелкунов в почву.

Иногда внутри клубня имеются большей или меньшей величины полости, содержащие в заполняющей их рыхлой, кашецеобразной гнили сероватых, безногих личинок мух-журчалок *Eumerus*.

Методы анализа клубней картофеля

Каждый клубень, в том числе и внешне здоровый, подвергают наружному осмотру. Для этого сначала осматривают клубень невооруженным глазом, а затем с помощью 7х—10х-ной лупы.

В первую очередь обращают особое внимание на всевозможные углубления на поверхности клубней, например, глазки, ямки вблизи столонного конца, неровные шероховатые участки поверхности, трещины и т. п. В таких местах могут находиться яйца картофельной моли, мучнистые червецы.

Во многих случаях присутствие картофельных долгоносиков, личинок мух-журчалок и других личинок внешне ничем не проявляется. Поэтому при анализе клубней делают неглубокие поверхностные надрезы, срезы или полные разрезы подозрительных на зараженность клубней.

Во избежание механического повреждения наиболее важных частей клубня — глазков, проростков или корешков надрезы необходимо производить на некотором расстоянии от этих жизненных центров. Подозрительные на заражение клубни разрезают полностью лишь в крайнем случае.

После исследования разреза, в целях сохранения ценного материала, поверхность срезов мякоти клубней покрывают тонким слоем мелко истолченного древесного угля для предупреждения загнивания.

Во избежание заражения одних клубней от других различными грибными, бактериальными или вирусными заболеваниями после разрезания клубня каждый раз следует тщательно продезинфицировать нож или скальпель 96°-ным спиртом.

Экспертиза луковиц и других подземных частей растений

Декоративные растения часто поступают из Голландии и других стран в виде луковиц, клубнелуковиц, клубней, корней и корневищ.

Небольшие образцы гиацинтов, тюльпанов, нарциссов, лилий, гладиолусов и других растений прибывают из-за границы упакованными в отдельные бумажные пакеты или кульки, имеющие отверстия для дыхания растений во время транспортировки. Иногда луковицы в пакетах пересыпаны гречневой или рисовой шелухой.

В один общий упаковочный деревянный ящик или картонную коробку укладывают по несколько таких пакетов или кулек и перекладывают бумагой или древесной стружкой.

Редко этот материал поступает из-за границы в виде больших партий одного какого-либо сорта луковиц, упакованных в ящики навалом.

Зараженность вредителями луковиц и других подземных частей растений

Фауна вредителей, встречающихся на пересылаемых подземных частях луковичных и корневищных декоративных культур, разнообразна.

В литературе описан случай завоза с корневищами пеониз и ирисов из Японии в США личинок японского жука (*Popillia japonica* Newm.). Известны многочисленные примеры, когда из одной страны в другую с клубнелуковицами гладиолусов попадали гладиолусовый трипс (*Thrips simplex* Moris.) и другие опасные многоядные вредители.

Очень часто с луковицами цветочно-декоративных культур завозятся различные виды тлей, зимующих под чешуей в области шейки луковиц, — тюльпанная тля (*Anuraphis tulipae* Bayer) и другие виды.

С таким материалом также могут быть завезены трипсы, среди которых, помимо указанного выше гладиолусового трипса, серьезное хозяйственное значение в цветоводстве может иметь лилейный трипс (*Bregmatothrips iridis* Wats. и *Liothrips vaneeckii* Priesn.).

Из мучнистых червецов, завоз которых возможен с луковицами декоративных растений, заслуживают внимания кринумовый мучнистый червец (*Pseudococcus crini* Hall.) и амариллисовый мучнистый червец (*Pseudococcus amaryllidis* Bouche). Вместе с луковичным материалом, как показывает практика, могут быть завезены многие многоядные виды мучнистых червецов и других вредителей, среди которых карантинное значение для СССР имеют червец комстока (*Pseudococcus comstocki* Kuw.),

интросовый мучнистый червец (*P. gahani* Green), а также африканский луковичный долгоносик (*Brachymerus transversus* Ol.), обитающий в фазе личинок и куколок внутри тканей подземных частей декоративных растений. Последний иногда причиняет довольно значительные убытки на плантациях нарциссов в Алжире.

В корневищах ирисов развиваются личинки некоторых златок, в частности из рода *Sphaenoptera*.

Из двукрылых, личинки которых повреждают луковичы различных растений, следует отметить луковую журчалку (*Eumegus strigatus* Flln.), бугорчатую журчалку (*E. tuberculatus* L.) и нарциссовую муху — *Lampetia* (*Merodon*) *equestris* F. или *L. (M.) narcissi* F. В загнивших луковичах часто встречаются личинки обыкновенной домово́й мухи (*Muscina stabulans* Flln., *M. assimilis* Flln.), а внутри луковичных видов ирисов — личинки отсутствующей в СССР грибной мушки (*Camptoladius bysinus* Felt.).

Из чешуекрылых, гусеницы которых могут повреждать подземные части растений, следует отметить развивающихся внутри корневищ ирисов и других луковичных растений гусениц малого хмелевого тонкопряда (*Herpialus lupulina* L.).

Из клещей, повреждающих подземные части луковичных и корневищных растений, помимо широко распространенного корневого или луковичного клещика (*Rhizoglyphus echinopus* F. et R.), встречаются такие вредители, как нарциссовый клещик (*Tarsonemus approximatus* v. *narcissi* Ewing.), распространенный в Англии и завезенный в США, Голландию, о. Гернси, и американский цикламеновый клещик (*Tarsonemus pallidus* Banks.), который сильно повреждает цикламены, нарциссы, хризантемы и тюльпаны.

Кроме указанных вредителей, типичных для пересылаемых подземных частей растений, в практике бывают случаи нахождения в таком материале совершенно не характерных для него видов вредителей. Так, например, известны случаи обнаружения большого количества живых жуков амбарного долгоносика (*Calandra granaria* L.), вгрызшихся в мякоть луковиц диких тюльпанов, полученных из Средней Азии.

Методы экспертизы луковиц и других подземных частей растений

После вскрытия каждого ящика или корзины с луковицами внимательно осматривают внутреннюю поверхность крышки, осторожно отворачивают оберточную бумагу. Особое внимание обращают на складки бумаги, углы ящика, щели, где могут быть обнаружены живые насекомые.

Анализ луковиц и других образцов подземных частей растений производят методом поштучного осмотра.

Поштучный осмотр луковиц или клубнелуковиц проводят следующим образом: каждую луковицу, держа в руке и медленно поворачивая, внимательно осматривают снаружи со всех сторон с помощью лупы или невооруженным глазом. На сухой чешуе могут быть выявлены различного типа выгрызы, отверстия, вздутия, растрескивание, пятна, бугорки и т. п. следы наружных повреждений и сами вредители.

После проверки боковых поверхностей осматривают донце луковицы, затем шейку, слегка отгибая и отворачивая сухие чешуи. В области шейки цветочных луковиц часто обнаруживают колонии зимующих тлей (*Anuraphis tulipae* и др.), яйцевые мешки мучнистых червецов (*Pseudococcus* spp.) и самих червецов. На донце бывают видны отверстия, прогрызенные различными вредителями, развивающимися внутри луковиц.

Одновременно с внешним осмотром производят испытание каждой луковицы на упругость, слегка сжимая ее с боков пальцами и надавливая на донце. При таком прощупывании луковиц сразу выявляют экземпляры с выеденными внутри ходами, полостями, загнившие, зараженные нематодами, клещиками, личинками мух или других вредителей.

Для выявления зараженности материала трипсами, среди которых может оказаться и гладиолусовый трипс, снимают с луковицы сухую чешую и осматривают внутреннюю поверхность мякоти луковицы. Для выявления трипсов чешую надо снимать только с тех луковиц, у которых она имеет трещины, т. к. через них трипсы забираются на зимовку под отставшую чешую луковиц и клубнелуковиц. Зараженные трипсами луковицы по окраске сухой чешуи, величине и форме не отличаются от незараженных. Снятие сухой чешуи не вредит посадочным качествам луковиц и может производиться без опасения испортить материал.

При заражении луковиц трипсами поверхность мякоти становится шероховатой, покрывается слегка липкой, довольно легко соскабливаемой корочкой, состоящей из частично опробковевших поверхностных клеток растения и из экскрементов трипсов. Цвет корочки бывает светло-бурым или ржаво-красным. Шероховатая корочка может покрывать поверхность мякоти сплошь или частично, отдельными участками. Обычно здесь же можно найти и самого вредителя в различных стадиях развития: бурых или почти черных взрослых крылатых трипсов длиной от 1,2 до 1,6 мм или их личинок желтоватого цвета и оранжевых нимф с темной, почти черной головой и такого же цвета ногами и вершиной брюшка. Обнаружить яйца или личинок первых возрастов даже с помощью лупы чрезвычайно трудно.

При наличии на луковицах прогрызенных отверстий делают скальпелем неглубокий срез мякоти для того, чтобы проследить направление хода и его глубину, обнаружить вредителя.

Если материал представляет собой большую ценность и при- был в количестве лишь нескольких экземпляров луковиц, то срезы надо делать, не затрагивая донца луковицы и цветочную почку; после окончания экспертизы срез луковицы засыпают мелко истолченным древесным углем для предохранения от загнивания.

Луковицы с признаками наличия внутренних полостей вскрывают с помощью ножа или скальпеля, полностью разрезая пополам по длине от шейки к донцу.

При осмотре поверхности разреза выявляются различного типа полости с почерневшими или светлыми стенками, содержащие личинок мух или прогрызенные в сочных тканях ходы, часто забитые буровой мукой. На отдельных участках поврежденной мякоти, выстланной паутиной, заметны медленно передвигающиеся беловатые клещики.

При отсутствии на поверхности разреза каких-либо нарушений ткани или отклонений от нормальной окраски луковицу разбирают на отдельные мясистые чешуи, которые тщательно просматривают с обеих сторон каждую в отдельности.

После разрезания луковицы, имеющей признаки заражения или подозрительной на заражение грибными, бактериальными или вирусными заболеваниями или же зараженной нематодами, собирают тщательно все остатки, обе половинки луковицы завертывают в отдельный лист чистой бумаги и передают на дальнейшее исследование фитопатологам. Нож или скальпель надо после этого хорошо протереть ватой, сильно смоченной в 96°-ном спирте, и вытереть руки спиртом.

Корневища цветочных культур анализируют подобным же образом: сначала производят наружный осмотр, обращая внимание на почки и корневую систему, затем внимательно разбирают остатки приставшей почвы. При наличии загнивших частей корневой системы или имеющих прогрызенных отверстий или ходов эти части вскрывают, разрезая вдоль для выявления внутренней зараженности вредителями.

Экспертиза плодов citrusовых культур

Плоды citrusовых культур — апельсины, мандарины, лимоны и другие — прибывают в СССР в основном большими товарными партиями. Импортятся плоды большей частью из стран Средиземноморья, а также из Китая. Они бывают упакованы в деревянные ящики по 100—500 штук в каждом в зависимости от размеров плодов. Каждый плод завернут в папиросную бумагу.

Кроме товарных партий, citrusовые прибывают в СССР в виде продовольственных запасов для пассажиров и судовых команд на пароходах, как ручная кладь пассажиров, а также в виде вложений в почтовые международные посылки. В этих

случаях происхождение плодов может быть иным. Цитрусовые могут оказаться привезенными из Южной Африки или из Америки.

Зараженность плодов цитрусовых вредителями и признаки заражения

Основным карантинным вредителем, встречающимся в импортных плодах цитрусовых культур, является средиземноморская плодовая муха — *Ceratitis capitata* Wied. семейства Tephritidae (Tryptetidae) — пестрокрылки.

В плодах цитрусовых, привезенных из США или Мексики, могут быть обнаружены мухи-пестрокрылки, близкие средиземноморской плодовой мухе: чаще встречается мексиканская плодовая муха — *Anastrepha ludens* Sw. и другие виды тропических насекомых, которые не являются для нашей страны объектами карантина растений, т. к. они не могут развиваться даже в условиях наших субтропиков.

В плодах цитрусовых культур, особенно в апельсинах и мандаринах, прибывающих из Китая, может быть обнаружен второй карантинный объект — большая мандариновая муха (*Tetradacus citri* Chen).

Из вредителей, развивающихся внутри плодов цитрусовых, кроме этих плодовых мух, встречается также цитрусовая моль — *Praus citri* Bill.

На поверхности плодов цитрусовых встречается целый ряд видов кокцид, главным образом различных щитовок и реже мучнистых червецов. Некоторые из этих кокцид являются объектами карантина, как, например, апельсиновая щитовка — *Unaspis citri* Comst., восточная цитрусовая щитовка — *U. yaponensis* Kuw. и восточный мучнистый червец — *Pseudococcus citriculus* Green.

Согласно действующим в настоящее время карантинным правилам наличие кокцид на плодах цитрусовых не является препятствием для реализации партий плодов.

Наиболее часто встречаются черная щитовка — *Parlatoria zizyphi* Lucas., цитрусовая фиолетовая щитовка — *Parlatoria pergandii* Comst., померанцевая запятовидная щитовка — *Lepidosaphes beckii* Newm., палочковидная щитовка — *Lepidosaphes gloverii* Pack., плюшевая щитовка — *Aspidiotus hederae* Vall., черная померанцевая щитовка — *Chrysomphalus ficus* Ashm., коричневая щитовка — *Chrysomphalus dictyospermi* Morg. и другие.

Большинство из них очень легко различить по внешним признакам с помощью лупы, и лишь для определения некоторых видов необходимо исследовать микроскопические признаки.

Подробное описание внешних и микроскопических признаков, а также таблицы для определения кокцид, встречающихся на плодах цитрусовых, приведены в определителе Е. А. Песоч-

кой и Н. С. Яковлевой «Определитель вредителей и болезней плодов цитрусовых», издание Министерства сельского хозяйства СССР, 1959 г.

Чаше всего внутри плодов апельсинов встречаются личинки средиземноморской плодовой мухи — *Ceratitis capitata* Wied.

Иногда личинок этой мухи, закончивших питание и вышедших из плодов во время транспортировки, можно обнаружить в складах тонкой бумаги, которой бывает обернут каждый плод.

В некоторых случаях эти личинки могут оказаться на дне и в щелях между досками упаковочного ящика. В оберточной бумаге и в таре могут быть найдены также и пупарии средиземноморской плодовой мухи. Пупарии этого вредителя могут оказаться и в обертке лимонов, если лимоны транспортируются вместе с апельсинами.

Внешние признаки зараженности апельсинов средиземноморской плодовой мухой следующие:

1. Наличие на коже плода очень маленького прокола, часто со слегка подсохшими краями (место откладки яиц в толщу кожицы плода).

2. Наличие более крупного округлого отверстия диаметром около 1,5 миллиметра с более свежими краями — выходное отверстие, через которое личинки, закончившие питание (все или только наиболее взрослые), покинули плод.

3. Поверхность кожуры плода над поврежденной частью мякоти отличается по цвету от остальной кожуры: она сероватая и как бы слегка промасленная, но никогда не бывает загнившей или заплесневевшей.

4. При прощупывании плода кожа над поврежденными частями мякоти становится более мягкой и слегка продавливается.

Внутри поврежденного личинками средиземноморской мухи апельсина мякоть тех долек, где питаются или питались личинки, имеет вид выжатой, как бы изжеванной; в этих местах обычно имеются тяжи, идущие поперек поврежденных долек, состоящие из оболочек соковых мешочков. Часто поврежденная часть мякоти плода в результате проникновения грибов через сделанное мухой отверстие несколько твердеет или загнивает и приобретает черный цвет.

Личинки средиземноморской плодовой мухи имеют удлиненное тело, круглое в поперечном сечении, заостренное в передней, головной части и более толстое, как бы обрубленное, — в задней. Ног и головной капсулы нет. Сквозь тонкую хитиновую оболочку головного конца тела личинки просвечивают и слегка выдаются наружу два острых черных подвижных хитиновых крючка — рото-глоточный аппарат. Длина тела личинок, закончивших питание, около 10 миллиметров, личинки, недавно вышедшие из яиц, имеют тело длиной около 1,5—2 миллиметров.

При достаточно высокой комнатной температуре личинки подвижны и активны. Поэтому в разрезанном плоде обнаружить их довольно легко.

Но при температуре в $1-1,5^{\circ}\text{C}$ выше нуля (при которой обычно хранятся апельсины в складе) личинки почти неподвижны и заметить их трудно, тем более, что в большинстве случаев они лежат, вытянувшись вдоль похожих на их тело соковых мешочков, из которых состоят дольки апельсина. Таких неподвижных личинок, особенно мелких, часто удается обнаруживать с помощью лупы среди мякоти разрезанного плода лишь благодаря хорошо заметным черным крючкам рото-глоточного аппарата.

Методика экспертизы плодов цитрусовых

Прежде чем начать осмотр поверхности кожуры плодов, осторожно разворачивают папиросную бумагу, в которую завернут каждый плод, расправляют все ее складки и проверяют, нет ли на ней вышедших из плода личинок средиземноморской мухи или ее пупариев.

После этого осматривают с помощью 7х—10х-ной лупы поверхность плода, обращая внимание на наличие каких-либо отверстий, укулов, пятен или вмятин. Осматривая со всех сторон каждый плод, его слегка сжимают пальцами, чтобы проверить упругость кожуры в местах, подозрительных на внутреннюю зараженность плода личинками мухи.

Попутно с таким осмотром выделяют образцы плодов, имеющих заражение различными видами щитовок, и откладывают их в сторону. После окончания осмотра с этих плодов делают тонкие поверхностные срезы кожуры со щитовками; эти кусочки кожуры в дальнейшем исследуются в лаборатории для определения видов щитовок.

В случае обнаружения плодов, подозрительных на зараженность личинками средиземноморской плодовой мухи, такие плоды анализируют следующим образом. Сначала скальпелем делают поверхностный срез кожуры толщиной до 5 мм, чтобы проследить глубину проникновения в толщу плода какого-нибудь укула или хода. Толщина первого среза кожуры должна быть такой, чтобы разрез не задевал сочную мякоть плода. Если таким срезом обнаружено, что прогрызенный ход углубляется дальше в мякоть плода, делают второй срез в той же плоскости или же плод разрезают полностью пополам так, чтобы разрез пересек подозрительный участок. После этого исследуют поверхность разреза с помощью лупы и ищут с помощью конца скальпеля среди поврежденных тканей личинок мухи.

Карантинный досмотр импортных плодов цитрусовых проводится в складе карантинным инспектором почти одновременно с работой экспертов инспекции по качеству товаров. В результа-

те их работы от каждой партии плодов выделяются плоды, имеющие те или иные дефекты, в частности, загнившие, с пятнами и т. п. Параллельно с досмотром плодов цитрусовых (апельсинов, мандаринов) в ящиках следует внимательно проверить на наличие личинок средиземноморской плодовой мухи те плоды, которые отбракованы экспертами инспекции по качеству товаров. Среди таких плодов очень часто значительно проще, быстрее и легче можно обнаружить личинок плодовой мухи, чем осматривая плоды, взятые непосредственно из ящиков, специально вскрытых для карантинного досмотра.

Все отобранные при досмотре плоды передаются в карантинную лабораторию для детальной экспертизы.

В некоторых случаях в плодах, имеющих характерные признаки повреждения мякоти личинками средиземноморской плодовой мухи, при анализе в лаборатории не удается обнаружить личинок этого вредителя. Тогда применяют метод анализа, разработанный Ленинградской карантинной лабораторией, который состоит в следующем.

Поврежденную часть плода разрезают, захватывая здоровую мякоть, на несколько кусков, не снимая кожуру плода, и опускают в литровую или пол-литровую стеклянную банку с сырой водой комнатной температуры. Вскоре из мякоти плода начинают выходить личинки мухи, не замеченные при обычном анализе, и падать на дно банки. Таким методом в течение 1—2 часов могут быть выявлены даже самые мелкие находившиеся внутри плода личинки. Затем личинок собирают со дна банки пипеткой, фиксируют в кипящей воде и помещают в 70°-ный спирт.

Кроме личинок плодовой мухи, в плодах цитрусовых, главным образом апельсинов, могут встретиться гусеницы или куколки цитрусовой моли — *Praus citri* Bill.

Беловатые с черной головкой гусеницы цитрусовой моли можно найти внутри плодов, в ходах, располагающихся непосредственно под кожурой и не заходящих в мякоть. От места откладки молю яиц эти ходы расходятся звездобразно во все стороны, сначала в толще белой части кожуры, а затем на границе между кожурой и мякотью. Длина гусеницы 6—8 мм. Куколки этой моли встречаются на поверхности плодов в легких белых паутинных коконах, располагающихся в углублениях, трещинах кожуры или чаще вблизи плодоножки. Длина куколки 6 мм.

Экспертиза свежих яблок и груш

Импортные яблоки прибывают в СССР довольно большими партиями из разных стран. Обычно они упакованы в деревянные ящики или решетки. Каждый плод завернут в папиросную бума-

гу, а, кроме того, яблоки из Кореи или Китая для предохранения от механических повреждений во время транспортировки бывают засыпаны в ящиках рисовой шелухой.

Кроме больших партий, импортные яблоки ввозятся в СССР в небольших количествах как продовольственные запасы для пассажиров и судовых команд на теплоходах и пароходах, а также пересылаются в международных почтовых посылках частным лицам.

Зараженность яблок и груш вредителями и методика экспертизы

При проведении экспертизы на поверхности плодов можно обнаружить признаки внутреннего заражения их гусеницами карантинных видов плодовых — восточной плодовой (Laspeyresia molesta Busck.), персиковой (Carpocapsa sasakii Mats.), грушевой огневки (Numonia pyrivorella Mats.), а также и гусеницами некарантинных видов — маньчжурской плодовой (Laspeyresia (Grapholitha) inopinata Her.), яблонной плодовой (Carpocapsa pomonella L.), рябиновой моли (Argyresthia conjugella Zell) и др. Очень важно обнаружить среди массы плодов такие, которые содержат живых гусениц карантинных видов плодовых.

Характерным признаком наличия внутри плодов гусениц плодовых может служить обнаружение точки вгрызания молодой гусеницы в плод при одновременном отсутствии на кожице этого плода выходного отверстия. Входные отверстия гусениц персиковой плодовой, которая повреждает также и яблоки, имеют вид очень мелких укусов, иногда окруженных зеленоватым колечком. Они расположены большей частью в области углубления около чашечки или плодоножки, реже встречаются и на других местах поверхности плодов. Входные отверстия гусеницы восточной плодовой бывают главным образом у основания плодоножки.

При экспертизе подозрительные плоды отбирают и затем разрезают их вдоль пополам. Гусениц персиковой плодовой следует искать в области семенной камеры в яблоках и между семенами. Иногда встречаются молодые гусеницы, целиком выпрыгнувшие из отдельных семян.

Вскрывать надо плоды и с выходными отверстиями, так как гусеницы бывают и в таких плодах — в ходе, близко к выходу или в семенной камере.

На месте входного отверстия вредителя, расположенного на боковой поверхности плода, образуется опробковение в 2—3 мм в диаметре при небольшом углублении ткани плода. При вскрытии этого повреждения можно обнаружить гусениц маньчжурской плодовой.

В плодах груш, завозимых из Китая и Кореи, могут быть обнаружены гусеницы грушевой огневки (*Numonia pyrivorella* Mats.).

Обнаруженных гусениц собирают, обваривают кипятком и фиксируют спиртом. Хранят этот материал в пробирке с этикеткой.

Определение видов обнаруженных гусениц плодовых про-водится только с биноклем и микроскопом по хетотаксическим признакам. Тщательному просмотру должны подвергаться также бумажные обертки и рисовая шелуха, среди которых часто можно обнаружить вышедших из плодов гусениц. Поэтому внимательно осматривают внутреннюю поверхность ящиков, все щели, обращая внимание на скрепленные паутиной комочки этой шелухи, в которых могут оказаться закононировавшиеся гусеницы. Для анализа рисовой шелухи на наличие гусениц плодовых используют термоэлектроды.

На поверхности яблок можно обнаружить из числа вредных насекомых ряд видов кокцид, в частности, калифорнийскую щитовку (*Diaspidiotus perniciosus* Comst.), грушевую щитовку (*Diaspidiotus spurcatus* Sign.) и некоторые другие виды. Их легко обнаружить по наличию более или менее ярко-красных круглых пятнышек на кожице плодов. В центре этих пятнышек бывает заметна и сама щитовка. Определение вида этих щитовок возможно только под микроскопом по характеру микропризнаков на теле взрослой самки, находящейся под щитком. Определение вида вредителя по личиночным стадиям несколько затруднительно, хотя тоже возможно.

При экспертизе могут быть обнаружены на поверхности плодов некоторые виды мучнистых червецов, в том числе и червец комстока (*Pseudococcus comstocki* Kuw.) на яблоках из Кореи и Китая, определение вида которых проводится под микроскопом только по взрослым самкам.

В ряде случаев на поверхности яблок обнаруживаются колонии красного паутинового клещика (*Tetranychus urticae* Koch.) или другие виды клещей. Эти колонии чаще всего находятся в области чашечки или плодоножки.

Экспертиза сухофруктов

Сухофрукты прибывают из-за границы или большими товарными партиями какого-либо одного продукта, например, чернослив, финики, изюм, сушеные абрикосы, или в небольших количествах, часто в виде компотной смеси в международных посылках, адресованных частным лицам. Сухофрукты обычно имеются также в про запас на морских судах.

Наиболее часто встречающимися вредителями сушеных и вяленых фруктов являются суринамский мукоед (*Oryzaephilus surinamensis* L.), сухофруктовый жук (*Carpophilus hemipterus* L.), мучные хрущаки (*Tribolium castaneum* Hrbst.), а также жуки-плоскотелки (*Ahasvegi* spp.), скрытноеды (*Cryptophagus* spp.) и др. виды. Очень часто некоторые сушеные фрукты поражаются клешами, в частности, на черносливе обычен сухофруктовый клещ (*Carpoglyphus lactis* L.).

Наиболее опасным в карантинном отношении вредителем, заражающим сухофрукты, является широкобокий амбарный долгоносик (*Caulophilus latinasus* Say), который, судя по литературным данным, может развиваться в вяленых винных ягодах. Из числа вредных бабочек на сухофруктах следует отметить часто встречающуюся южную амбарную огневку (*Plodia interpunctella* Hb.), изюмную огневку (*Ephestia calidella* Gn.), сухофруктовую огневку (*Ephestia cautella* Wlk.), какаовую огневку (*Ephestia elutella* Hb.), фиговую огневку (*Ephestia figulilella* Grgs) и более редко встречающуюся в сухофруктах мельничную огневку (*Ephestia kühniella* Zell.).

Все эти огневки встречаются в сухофруктах в стадии гусениц, вид которых можно определить только по микроскопическим признакам.

В семенах яблок солнечной сушки могут сохраняться живые личинки, а позже в хранилищах вылетают взрослые с зеленым металлическим блеском яблоневые семееды (*Syntomaspis druparum* Boh.).

Методика экспертизы сухофруктов

В случае анализа на зараженность вредителями целых ящиков сухофруктов какого-либо одного сорта — чернослива, изюма, кураги, фиников и т. п. — при вскрытии ящика осматривают сначала внутреннюю сторону крышки, затем упаковочную бумагу, тщательно проверяя все складки и щели и обращая внимание на наличие прогрызов бумаги, живых насекомых, паутины, экскрементов, приставших к бумаге отдельных кусочков или целых сухих плодов. Затем расстилают большой лист бумаги, фанеру или брезент, переворачивают на него ящик и вынимают весь ком слипшихся или спрессованных сухофруктов вместе с обкладочной бумагой. Внимательно проверяют внутреннюю поверхность освобожденного ящика. Затем осматривают бумагу снаружи, проверяя все ее складки; особенно внимательно проверяют ее на углах и вблизи донного слоя сухофруктов. Осторожно снимают обкладочную бумагу и разламывают руками «брусок» из сухофруктов на несколько кусков. При наличии между фруктами вредителей он разламывается в тех местах, где имеются повреждения, экскременты, паутина или гусеницы.

Анализ сыпучих сухофруктов: сушеных груш, яблок, ягод шиповника, вишни, алычи, упакованных в мешки,— производят следующим образом.

Все содержимое мешка высыпают на брезент и сразу после этого осматривают поверхность высыпанных фруктов и брезент вокруг них, где могут быть обнаружены живые расползающиеся насекомые. Затем мешок выворачивают и внимательно проверяют внутреннюю его поверхность, швы, складки, обращают внимание на приставшие к мешку отдельные фрукты и, осторожно отделяя их от материи, осматривают с помощью лупы, нет ли под ними каких-либо насекомых, коконов или экскрементов.

Отдельные фрукты, подозрительные на зараженность вредителями, разламывают пополам или разрезают ножом или скальпелем и просматривают.

Часто при анализе сушеных абрикосов обнаруживаются внутри сушеного плода, на границе между мякотью и косточкой, паутинные коконы, экскременты и гусеницы огневка.

После просмотра всей массы сухофруктов, высыпанных из мешка или ящика на брезент, их постепенно складывают обратно в тару и еще раз внимательно просматривают с помощью лупы весь мусор, оставшийся на брезенте. Из образца сухофруктов можно выбирать насекомых с помощью термоэлектрора.

После сбора всех обнаруженных насекомых переходят к определению их видового состава.

Экспертиза пряностей

Большинство импортируемых в СССР пряностей является растительными продуктами тропического или субтропического происхождения.

Обычно в нашу страну прибывают сравнительно небольшие товарные партии пряностей. Кроме того, в небольших количествах этот вид продукции часто встречается при досмотре международных почтовых посылок или же продовольственных запасов на пароходах и теплоходах заграничного плавания.

Наиболее часто импортируются в СССР пряности: мускатный орех, мускатный цвет, имбирь, кардамон, корица, гвоздика, черный и душистый перец, бадьян (звездчатый анис).

Товарные партии этих пряностей бывают упакованы в тюки, мешки или ящики, а пряности, пересылаемые в международных почтовых посылках,— в картонные или жестяные коробки.

Кроме указанных выше тропических импортных пряностей, карантинную экспертизу проходят также пряности отечественного происхождения — тмин, кориандр, анис, фенхель.

Большинство пряностей представляет собой семена или плоды различных растений. Некоторые пряности, как, например, имбирь, являются сушеными корневищами или же сушеными нераскрывшимися цветочными почками (гвоздика). Корица прибывает в виде свернутой в трубочки коры коричневого дерева.

К числу специфических вредителей, которые могут быть обнаружены при карантинной экспертизе пряностей, относится ряд насекомых, повреждающих эти материалы на их родине, в полевых условиях.

Сюда относятся большой и малый перечные долгоносики — *Lophobaris serratipes* Mshl. и *L. piperis* Mshl. Эти долгоносики изредка встречаются при экспертизе на отдельных зернах перца, чаще встречаются круглые летные отверстия, прогрызенные жуками еще до экспортирования продукции.

В мускатных орехах встречаются три вида специализированных мускатных плодовых короедов — *Thamnurgides myristicae* Rorke, *Hypothenemus moschatae* Schaef. и *Stephanoderes buscki* Норк. Короеды, живя скрытно внутри мускатных орехов, в период хранения орехов на складах способны размножаться непрерывно и могут довольно сильно их источить.

В мускатных орехах часто встречается и также может размножаться в условиях хранения какаовый ложнослоник — *Agacerus fasciculatus* Deg. О наличии этого вредителя в орехах можно судить по более крупным летным отверстиям на поверхности орехов. Диаметр этих отверстий 1,5—2 мм, в то время как летные отверстия короедов бывают значительно меньшего диаметра.

Сухие корневища имбиря необходимо подвергать особенно тщательной экспертизе, так как они могут оказаться зараженными таким карантинным объектом, как широкохоботный амбарный долгоносик — *Caulophilus latinasus* Say; этот вредитель встречается в тканях корневищ во всех стадиях своего развития.

В орехах кардамона, так же как и в мускатном орехе, может быть короед — *Coccotrypes cardamomi* Schaef.

В семенах зонтичных растений, являющихся пряностями, — кориандре, фенхеле, анисе — встречаются семееды из рода *Systole* (Hymenoptera): в кориандре — *S. coriandri* Guss., в анисе и в фенхеле — *S. foeniculi* Otten. Наличие круглых летных отверстий в оболочке плодов свидетельствует о том, что часть вредителей вылетела из семян еще с осени, а остальные находятся в семенах в стадии зимующих личинок.

Во всех перечисленных пряностях при экспертизе могут быть найдены различные стадии обычных вредителей запасов растительных продуктов. Например, в корице встречаются личинки и куколки табачного жука *Lasioderma serricornе* F., а также взрослые жуки, кроме того, гусеницы огневка *Ephestia calidella* Gn. и *E. künniella* Zell. Среди мускатного ореха и мускатного цвета встречаются такие типичные представители вредителей запасов, как жуки-блестянки — *Carpophilus dimidiatus* F., суринамский мукоед *Oryzaephilus surinamensis* L., табачный жук — *Lasioderma serricornе* F. В пряностях встречаются во всех ста-

диях развития жуки-притворяшки (Ptinidae), ряд видов кожеедов (Dermestidae), плоскотелки (сем. Cucujidae из рода *Ahasverus*) и мукоеды (*Laemophloeus* spp.), хрущаки (Tenebrionidae, в частности из рода *Gnathocerus*), точильщики (сем. Anobiidae), в частности хлебный точильщик (*Stegobium paniceum* L.), шитовидки (сем. Ostomatidae), мавританская козявка (*Tenebrioideus mauritanicus* L.) и другие виды.

Методика экспертизы пряностей

Пряности в виде семян: черный и душистый перец, тмин, кориандр, анис, фенхель — просматривают с помощью лупы или бинокля, обращая при этом внимание на наличие летных отверстий, наружных выгрызов, паутины, экскрементов или же насекомых среди просматриваемого материала. Просмотр растительных остатков и мусора, собранных со дна мешков или ящиков, обычно дает наиболее богатый материал в отношении вредителей, если они имеются в данном образце. Иногда наличие только порошкообразных экскрементов, скапливающихся на дне тары, указывает на наличие вредителей и заставляет более тщательно искать их среди семян или внутри них.

При экспертизе таких растительных материалов целесообразно просеивать через набор сит весь исследуемый образец и мусор со дна упаковки.

Сушеные корневища имбиря просматривают поштучно со всех сторон, обращая внимание на небольшие круглые отверстия диаметром около 1 мм или немного больше. Куски корневищ с такими отверстиями отбирают из образца и затем осторожно, полностью вскрывают скальпелем с тем, чтобы выявить личинок, куколок или взрослых насекомых.

Трубочки коры коричневого дерева (корицы) просматривают поштучно, а также проверяют на наличие вредителей мелкую крошку коры со дна упаковки.

Мускатный орех просматривают поштучно и отбирают для детального анализа экземпляры орехов, имеющие отверстия. Такие орехи раскалывают молотком или постепенно срезают ножом тонкие слои твердой оболочки, отламывают небольшие кусочки, вскрывая прогрызенные насекомыми ходы.

Экспертиза бобов какао и зерен кофе

Бобы какао поступают из-за границы в Советский Союз большими товарными партиями как сырье для кондитерской промышленности. Импортятся бобы какао или непосредственно из тропических стран, или через Англию. Они прибывают упакованными в джутовые мешки весом 60—70 кг.

Образцы бобов какао, отобранные карантинными инспекторами при досмотре больших партий, поступают на лабораторный анализ.

Отбор образцов для лабораторного анализа проводится не путем взятия средней пробы. Каждый образец бобов какао для лабораторного энтомологического анализа составляется следующим образом. Снимают со штабеля определенное количество мешков с бобами различных марок, ставят их вертикально и полностью вспарывают на них торцовые швы. Затем проводят выборочный поштучный осмотр отдельных бобов в поверхностных слоях в каждом мешке. По мере просмотра отбирают бобы, имеющие различного диаметра и очертания отверстия, прогрызенные насекомыми, а также бобы с выпавшим зародышем, т. к. часто в таких бобах можно найти вредителей, забравшихся внутрь зерна через образовавшееся отверстие. Отбирают и бобы, скрепленные паутиной или склеившиеся. Наличие прогрызенных отверстий на бобах не всегда указывает на то, что вредители покинули поврежденный ими боб. Обычно такие бобы содержат еще не вышедших живых вредителей в той или иной стадии развития.

Помимо выборки подозрительных на зараженность бобов какао из поверхностных слоев вертикально поставленных вспоротых мешков, один из мешков полностью высыпают на разостланный брезент и более детально просматривают его содержимое; при этом также отбирают подозрительные бобы и собирают всех живых и мертвых насекомых, которые были между бобами. Просмотр с помощью лупы донных остатков из мешка помогает обнаружить наибольшее количество насекомых, находившихся в свободном состоянии среди бобов.

В образец бобов какао для лабораторного анализа входят также собранные в пробирки насекомые, обнаруженные при досмотре поверхности мешков в штабелях, снятые с них паутинные коконы, располагающиеся в складках материи и вблизи швов, ползающие гусеницы, жуки и т. п.

При лабораторном анализе образца для выявления внутри бобов какао вредителей в той или иной стадии развития подозрительные на заражение бобы вскрывают скальпелем, снимая с них сухую оболочку, и затем разламывают на мелкие кусочки коричневые сморщенные семядоли. Часто определению помогают обнаруживаемые внутри бобов личиночные или куколочные шкурки.

Отбор зерен кофе для лабораторного анализа и их исследование проводятся аналогичным образом.

Виды вредителей, встречающиеся в бобах какао и зернах кофе

Наиболее обычными, часто встречающимися в бобах какао вредителями являются из жуков: какаовый ложнослоник (Агае-

cerus fasciculatus Deg.), табачный жук (*Lasioderma serricorne* F.), суринамский мукоед (*Oryzaephilus surinamensis* L.), рыжий маленький жучок (*Ahasverus advena* Walfl.), жук-блестянка с характерными укороченными надкрыльями (*Carpophilus dimidiatus* F.), синий блестящий жук-пестряк (*Necrobia rufipes* Deg.), мучной хрущак (*Tribolium castaneum* Hrbst.), реже встречаются жуки-притворяшки (*Niptus hololeucus* Fald., *Ptinus* spp.), жуки-кожееды (*Dermestes cadaverinus* F.), мавританская козявка (*Tenebrioides mauritanicus* L.), очень мелкие плоские коричневые жучки-мукоеды (*Laemophloeus minutus* Ol.) и другие виды. Из бабочек, гусеницы которых повреждают бобы какао, встречаются шоколадная огневка (*Ephestia elutella* Hb.), сухофруктовая огневка (*Ephestia cautella* Wlk.), реже рисовая огневка (*Corcyra cephalonica* Stt.) или арахисовая огневка (*Paraliparis* Zell.) и некоторые другие. Гусениц всех этих огневок можно различать только по хетотаксии и другим микропризнакам.

В бобах какао можно обнаружить также личинок и куколок различных видов жуков, определять которых можно при сравнительно небольшом увеличении под бинокляром.

Зерна кофе могут быть заражены кофейным короедом (*Nurothenetus hampei* Forst.). Внешним признаком повреждения этим вредителем является наличие на зерне темно-зеленых пятнышек в местах проникновения личинок жука в зерна.

Кроме того, зерна кофе часто повреждает какаовый ложнослоник (*Agaecerus fasciculatus* Deg.).

Техника энтомологического лабораторного анализа

Оборудование

Для проведения энтомологической экспертизы необходимо следующее оборудование:

Бинокляр — микроскоп биологический стереоскопический типа МБС-1 с увеличением от 3х до 119х или МБС-2;

Лупа биноклярная лобная, 3х;

Лупа диаметром 10 см на штативе (или с ручкой) 1,5х—2х;

Сита почвенные (набор с ячейками 0,25; 0,5; 1,0; 2,5 и 5,0 мм);

Кюветы эмалированные, белые, фотографические, размером 24×30 и 30×40 см;

Совок алюминиевый емкостью 0,5 кг;

Совок алюминиевый семенной, маленький;

Шпатель деревянный или из плексигласа для разборки семян;

Стекло настольное или плексиглас размером 80×60 см, толщиной 0,5 см;

Термоэлектрод;

Электроплитка;

Эксгаустер — прибор самодельной конструкции. Для изготовления его может быть использована широкая пробирка диаметром 2,5—3 см, длиной 10—12 см. В плотно пригнанной пробке проделываются два отверстия диаметром 4—5 мм. В одно отверстие вставляется изогнутая под углом стеклянная трубочка диаметром около 5—6 мм. Наружный конец этой трубочки слегка заостряется в виде пипетки с диаметром около 3—4 мм. Конец трубочки, опускающийся внутрь, примерно до половины длины пробирки, остается открытым. В другое отверстие в пробке вставляется вторая стеклянная трубочка, изогнутая аналогичным образом. Опушенный внутрь пробирки конец завязывается газом, тюлем или марлей. На наружный конец этой трубочки надевается резиновая трубочка длиной около 30—40 см. В свободный конец резиновой трубочки вставляется стеклянный мунштук с хорошо опаянными краями. Подводя заостренный конец эксгаустера к насекомому и втягивая ртом воздух через мунштук, удается легко и быстро собирать разбегающихся мелких и нежных насекомых, не повреждая их. Затем через резиновую трубочку в эксгаустер впускают немного табачного дыма, чтобы слелка приморить насекомых, открывают через некоторое время пробку и высыплют насекомых в чашку Петри или на часовое стекло.

Оборудование для макролюминесцентного метода

Кварцевая аналитическая лампа типа ЛЮМ;

Аппарат типа Л-84;

Люминесцентный осветитель ОИ-18.

Инструментарий

Иглы препаровальные прямые тонкие;

» » глазные, копьевидные;

» » изготовленные из энтомологических булавок;

Шпатель зубоветчебный;

Скальпели: большой брюшистый, глазной малый;

Пинцет: зубоветчебный длинный с изогнутым концом;

» хирургический прямой;

» глазной тонкий прямой и изогнутый;

Ножницы: хирургические;

» Вежкера;

» маникюрные;

Кисточки акварельные колонковые №№ 1 и 2;

Пресс для пробок обжимный;

Сверла для пробок, набор.

Посуда и материалы

Кристаллизаторы диаметром 25—30 см;

Колпаки стеклянные разных размеров;

Спиртовка стеклянная;
Эксикаторы с притертой крышкой большие и малые;
Банки стеклянные матеpнальные широкогорлые с притертой пробкой емкостью 0,1; 0,25; 0,5; 1,0 л;
Склянки узкогорлые с притертой стеклянной, резиновой или корковой пробкой емкостью 0,05; 0,1; 0,5; 1,0; 3,0 л;
Бюксы стеклянные с притертой крышкой емкостью 25 и 50 мл;
Чашки Петри диаметром 4 и 10 см;
Чашки Коха диаметром 4 и 10 см;
Колбочки Эйленмейера емкостью 50 мл;
Стекля часовые диаметром 3,5 и 7 см;
Тигли фарфоровые маленькие емкостью 0,025 л;
» » емкостью 0,250 л (для парафина);
Палочки стеклянные тонкие;
Пипетки глазные;
Капельницы;
Клеенка медицинская, белая, 3—4 куса по 1 м² (для разбора черенков и сажанцев);
Пленка хлорвиниловая, бесцветная, 1,5×1 м для заворачивания посылок с активными насекомыми;
Пробирки химические;
Пробирки энтомологические, плоскодонные размером 60×15 мм, 40×15 мм, 30×10 мм, 20×7 мм;
Пробки корковые разных размеров;
Пробки резиновые №№ 2, 4, 6, 8;
Кольца резиновые;
Глицерин чистый;
Кислота уксусная ледяная;
Спирт ректификат 96°;
Парафин (для заливки пробок, концов черенков и т. п.);
Натрий хлористый (для метода флотации);
Эфир уксусный (для умерщвления насекомых);
Угольный древесный порошок для присыпки срезов клубней и луковиц;
Мох или опилки древесные стерильные для замены импортной упаковки;
Вата;
Бумага фильтровальная;
Бумага белая плотная для этикеток;
Тушь черная чертежная;
Перья чертежные с ручкой;
Клей желатиновый или казеиновый;
Кисточка для клея щетинная.

Оборудование, материалы и реактивы для рентгенографии

Рентгеновский аппарат типа АРС-1 с мягколучевой рентгеновской трубкой типа БТВ-25;

Часы сигнальные лабораторные;
 Коробки объектные деревянные с дном из пергаментной бумаги размером $9 \times 12 \times 1,5$ см (60 шт.);
 Нумератор для рентгенограмм (набор проволочных цифр);
 Негатоскоп горизонтальный с вилкой-указателем;
 Кассеты-конверты из черной светонепроницаемой бумаги размером 9×12 см (60 шт.);
 Кюветы фотографические пластмассовые размером 13×18 см (3 шт.) и 30×40 см (1 шт.);
 Фотофонарь с темно-красным светофильтром;
 Пинцеты Пеано или Кохера (5 шт.);
 Зажимы фотографические (30 шт.);
 Шланг резиновый диаметром 1 см, длиной 1,30 м;
 Рентгенопленка размером 9×12 см (количество в зависимости от объема работы);
 Метол — 50 г*;
 Гидрохинон — 50 г;
 Сульфит натрия, кристаллический (натрий сернистокислый) — 600 г;
 Сода кристаллическая (натрий углекислый) — 1 кг;
 Гипосульфит (тиосульфат, натрий серноватистокислый) — 1,5 кг;
 Калий марганцевокислый — 25 г;
 Калий двуххромовокислый — 100 г;
 Аммоний хлористый — 0,5 кг;
 Квасцы алюмокалиевые — 100 г.

Микроскопические препараты

Часто даже под биноклем не удается рассмотреть отдельные мелкие признаки, такие, как расположение щетинок на теле или крючков на подошвах брюшных ног гусениц или другие детали строения тела насекомых, а также клещей, по которым можно точно установить видовую принадлежность исследуемого объекта.

Точное определение вида многих карантинных вредителей возможно лишь на препаратах под микроскопом. Чаще всего для этого приходится делать микроскопические препараты из отпрепарированных шкурок живых или мертвых гусениц, а также личинок и куколок жуков, червецов и щитовок, трипсов, сеноедов, различных мелких насекомых, а также из клещей.

Микроскопические препараты изготавливаются из отдельных частей тела насекомых — верхних или нижних челюстей, хвостовых придатков личинок, гениталий жуков, бабочек и т. п. Иногда изготавливают тотальные микропрепараты, на которых удается рассмотреть все детали строения тела исследуемых объектов.

* Количество фотохимикатов указано из расчета на 1000 рентгенограмм.

Изготовление микроскопических препаратов требует известных навыков и производится различными способами.

В ряде случаев, например при определении клещей, необходимо изготовление доброкачественных микропрепаратов с тонкими покровными стеклами, допускающими исследование объекта с применением иммерсии.

Исследуемое насекомое или отдельные части его тела приносится перед изготовлением микроскопического препарата соответствующим образом препарировать.

Препаровка гусениц. (По Герасимову с добавлениями). Если надо исследовать хетотаксию высохших мертвых гусениц, то гусениц сначала помещают в раствор едкого калия или натрия. Делается это в химической пробирке над пламенем спиртовой горелки. В пробирку наливают примерно 3—5 мл воды, добавляют с помощью пипетки несколько капель 10%-ного раствора щелочи и кладут в этот разбавленный раствор гусеницу. Пробирку держат в верхней части пламени спиртовки под углом 45° с помощью держалки, сделанной из полоски плотной бумаги, которой обхватывают верхнюю часть пробирки. Нагревание раствора ведут в течение 1—2 минут, все время вращая пробирку. Затем горячий раствор вместе с гусеницей выливают на большое часовое стекло или в чашку Петри, пинцетом осторожно вынимают гусеницу из раствора и переносят на небольшое часовое стекло в воду.

Чтобы покровы тела гусеницы во время дальнейшего препарирования лучше смачивались водой, не плавали на поверхности, что затрудняет дальнейшие операции, рекомендуется пользоваться способом, разработанным акад. Е. Н. Павловским.

Перед вскрытием насекомого его берут пинцетом и на 1—2 секунды погружают в 96°-ный спирт, после чего тотчас же опускают в физиологический раствор и выдерживают в растворе несколько секунд, пока не прекратятся диффузные токи. После этого насекомое переносят в небольшую каплю физиологического раствора на часовое стекло или на предметное стекло с углублением.

Физиологический раствор готовится из химически чистого хлористого натрия (поваренной соли) из расчета 0,7—0,8 г на 100 мл дистиллированной воды.

Препарирование производят под биноклем с помощью глазного скальпеля, придерживая гусеницу тонким острым пинцетом. Кожу гусеницы разрезают вдоль всего тела по правому боку, начиная от анального конца брюшка к голове. Разрез всегда делают именно с этой стороны, так как принято изучать и рисовать левую половину гусеницы, располагая ее головой влево и спиной вверх; это удобно для сравнения.

После этого гусеницу снова помещают в пробирку с более крепким раствором щелочи (10—15%-ный раствор едкого калия или натрия) и кипятят до тех пор, пока мягкие ткани не отде-

лется от кожи. Для этого достаточно кипятить от нескольких секунд до 1—2 минуты в зависимости от величины гусеницы. Эту операцию производят с большой осторожностью, чтобы не переварить гусеницу, т. к. на теле переваренных гусениц могут деформироваться или вовсе отпасть все щетинки, что затруднит в дальнейшем определение.

Вместо кипячения можно оставлять гусениц в щелочи на ночь. Очень хорошо действует щелочь при температуре 25—30°C в термостате. После мацерации объект тщательно промывают водой.

Если материал до этого был предварительно обварен кипятком и хранился в 70°-ном спирте, то гусеницы, хорошо промытые сильной струей воды из пипетки, после этого не требуют очистки от мягких тканей; необходимо лишь удалить трахеи.

В некоторых случаях, в особенности при других способах фиксации, удаляют после промывки оставшиеся куски жирового тела с помощью игл и тонкого пинцета или лучше специально изготовленных из тонких энтомологических булавок маленьких крючков. Еще лучше пользоваться иглой с расплюснутым в лопатку концом и загнутым в виде крючка.

Чтобы приготовленная таким образом шкурка хорошо расправилась на предметном стекле, следует сделать скальпелем надрезы между особо сморщившимися сегментами.

Очень мелких гусениц, которых ножницами препарировать нельзя, удается разрезать маленьким скальпелем. Положив гусеницу на спинную или брюшную сторону (лучше на восковую или парафиновую пластинку), разрезают ее вдоль посередине или ближе к правой стороне, надавливая скальпелем, придерживая и подправляя иглой или тонким пинцетом. Если это не удается, ее препарируют тонкими иглами, изготовленными из энтомологических минуций. При этом на одном экземпляре удастся отпрепарировать лишь некоторые сегменты, а для изучения остальных приходится брать другой экземпляр.

При обработке щелочью мелких гусениц не следует их в ней передерживать, иначе шкурка делается настолько нежной, что рвется при первом прикосновении иглы. В некоторых случаях лучше не употреблять щелочи, а очищать шкурку от жирового тела иглами.

Наряду с изготовлением препаратов из обработанных вышеописанным способом очищенных и развернутых шкурок гусениц иногда практикуется исследование гусениц без препарирования. При рассматривании хетотаксии на непрепарированных гусеницах не искажается взаимное расположение щетинок, чего трудно избежать при изготовлении препаратов из разрезанных гусениц, при этом не затрачивается время на изготовление микропрепарата. Но на целой гусенице часто нельзя рассмотреть всех щетинок, в особенности мелких, что без труда удастся на препаратах.

Для подробного морфологического изучения все же необходимо изготовление микропрепаратов. Если из отпрепарированных шкурок гусениц не требуется делать препараты, то после изучения и определения их можно хранить в маленьких пробирках в смеси из спирта и глицерина (2 части 96°-ного спирта, 2 части воды и 1 часть глицерина).

Голову гусениц приходится выдерживать в щелочи дольше и вообще очистка головы требует терпения, т. к. ткани трудно извлекаются и нужно не повредить тентория. Можно рекомендовать промывку головы шприцем; иглу его вставляют в затылочное отверстие и струей воды вымывают все ткани, если они хорошо мацерированы щелочью. Очистку головы производят, не отделяя ее от шкурки тела; со шкуркой удобно придерживать голову при промывании.

При отделении головы от шкурки нужно не повредить переднего участка переднегруди.

Сильно пигментированные головы полезно обработать диафанолом для депигментации, что делает щетинки более заметными.

Чтобы удобнее было рассматривать голову сбоку, ее приходится разрезать на три части; при этом фронтальную часть отделяют вместе с небольшими частями боковых полушарий так, чтобы щетинка P_1 осталась при ней.

Для исследования ротовых органов их расчлняют. Сперва с фронтальной стороны отделяют от головной капсулы комплекс из нижних челюстей и нижней губы. Выделенный комплекс можно рассматривать целиком или, если необходимо, расчлнить его для исследования подглоточника.

Верхняя губа и жвалы отделяются от головы без труда. В некоторых случаях при определении ограничиваются рассмотрением прядильного сосочка, который при навыке может быть выделен иглой без расчленения головы. Техника приготовления препаратов в данном случае ничем не отличается от обычной техники препарирования хитиновых частей насекомых.

Препаровка клещей. (По Рекку и Брегетовой). Для определения клещей, встречающихся при экспертизе растительных материалов, необходимо обязательно готовить микропрепараты на тонких предметных стеклах, покрытых очень тонкими покровными стеклами, допускающими рассматривание мельчайших морфологических деталей с применением иммерсии.

Желательно, чтобы в каждом препарате было по несколько экземпляров клещей, находящихся в различных положениях, облегчающих исследование мелких деталей их строения: спинной стороной вверх, спинной стороной вниз и на боку. Вследствие возможного сморщивания, раздавливания или неудачного расположения материала рекомендуется делать по несколько препаратов.

Наиболее удачные тотальные микропрепараты получаются, если брать для этого живых клещей. Длительное время хранившийся в консервирующей жидкости материал менее пригоден. Он сморщивается, затвердевает и плохо поддается просветлению.

В качестве среды, одновременно и фиксирующей и просветляющей, для приготовления микропрепаратов применяют гуммиарабиковую смесь (жидкость Фора-Берлезе), заранее изготавливаемую по следующему рецепту:

вода дистиллированная	50 частей
хлоралгидрат	200 »
глицерин чистый	20 »
гуммиарабик сухой	30 »

Практически удобна следующая навеска: хлоралгидрат — 160 г, гуммиарабик — 24 г, вода дистиллированная — 40 см³, глицерин — 16 см³. Получается порция смеси для большого количества препаратов, которая может храниться в стеклянной баночке с притертой пробкой.

Смесь готовится в хорошо закрывающейся стеклянной банке в такой последовательности: в воду всыпается гуммиарабик и ставится на несколько часов в термостат при температуре 50—60°C. Затем добавляется глицерин и хлоралгидрат и смесь снова ставится в термостат на двое суток. Когда гуммиарабик хорошо растворится, смесь фильтруют через стеклянную вату или чистую белую ткань. Фильтровать нужно в термостате, так как охлажденная смесь несколько густеет и не проходит через фильтр. Смесь следует хранить в темной посуде или в темноте.

Для текущей работы надо отлить небольшое количество смеси в маленькую баночку или в невысокую плоскодонную широкую пробирку с пробкой.

Предметные и покровные стекла выбракованных препаратов могут быть повторно использованы. При применении жидкости Фора-Берлезе стекла отмываются в теплой воде без затруднений.

Предметные и покровные стекла должны быть хорошо вымыты и насухо вытерты. Небольшой запас чистых стекол надо всегда иметь под руками. Хранить предметные стекла, защищая от пыли, надо в закрытой чашке Коха, а покровные — в небольшом боксе с притертой крышкой или в маленькой чашке Петри.

На предметное стекло препаративной иглой или тонкой стеклянной палочкой наносят каплю смеси Фора-Берлезе и в нее помещают живых клещей. Если препарат изготавливают из фиксированного материала, хранившегося в спирте, то клещей предварительно промывают дистиллированной водой в течение нескольких минут в часовом стекле и после этого помещают в каплю смеси Фора-Берлезе.

Клещей, долго хранившихся в консервирующей жидкости, предварительно мацерируют, поместив примерно на 12 часов в 5%-ный раствор едкого калия или натрия, налитого в небольшое часовое стекло. Чтобы щелочь не испарилась, стекло накрывают другим часовым стеклом.

После помещения клещей в каплю жидкости проверяют под биноклем размещение их в требуемом положении и затем осторожно покрывают покровным стеклом, прикоснувшись сначала ребром стекла к капле смеси и потом плавно опуская его.

Готовые препараты в строго горизонтальном положении помещаются в специальной папке в термостат или теплое место для просветления и подсушивания при температуре около 60°C на срок от 2 дней до 2 недель.

Способ изготовления микропрепаратов с применением смеси Фора-Берлезе очень удобен, т. к. значительно упрощает микроскопическую технику. В эту смесь можно помещать живых клещей или других мелких животных или насекомых без предварительной обработки, без проведения их через спирты различной крепости и просветления в пиводичном масле.

Помещенные в каплю смеси живые объекты постепенно прекращают двигаться и остаются в препарате с хорошо расправленными ногами.

Этикетировка микропрепаратов. Каждый препарат снабжается двумя этикетками, на которых тушью пишется: на первой (левой) этикетке латинское название клеща (или другого объекта); здесь же указывается количество и пол клещей — самцов (♂♂) и самок (♀♀), нимф I возраста, нимф II возраста и личинок. На этой этикетке пишется фамилия специалиста, определившего вид клеща. На второй (правой) этикетке указываются номер протокола экспертизы, страна происхождения, на каком растительном материале найден объект, латинское название растения, дата, а также пишется фамилия лица, проводившего экспертизу и изготовлявшего микропрепарат.

Этикетки приклеивают к стеклу казеиновым или желатиновым клеем, приготовление которых несложно.

Сухой казеин растирают в фарфоровой ступке, чтобы не было комочков, и разводят нашатырным спиртом до нужной густоты.

Для приготовления желатинового клея намачивают в воде желатин до разбухания, нагревают в тигле или чашке, не давая ему закипеть, вливают несколько капель крепкой уксусной кислоты (лучше ледяной) и размешивают. Если клей окажется слишком густым, его подогревают и добавляют еще кислоты.

Приклеенную этикетку обязательно следует несколько часов держать под грузом для лучшего «схватывания» клея. Всевозможные клеи-пасты, декстриновый фотоклей и конторский силикатный клей для этой цели непригодны, так как бумага от них

вскоре желтеет, надпись портится, а после высыхания этикетки часто отклеиваются от стекла.

Значительно удобнее вместо бумажных этикеток, приклеиваемых на предметные стекла микропрепаратов, все необходимые сведения писать непосредственно на предметном стекле специально приготовленной тушью.

Тушь для стекла изготавливают по следующему рецепту (метод Апати). Обыкновенную жидкую чертежную тушь смешивают с равным количеством белка свежего куриного яйца и глицерина и добавляют несколько кристаллов фенола. Смесь в хорошо закупоренной склянке может храниться годами. Надписи такой тушью надо делать по обезжиренному стеклу, чтобы тушь лучше пристала к стеклу. Место для надписи энергично протирают слегка мокрой марлей. Для надписывания лучше всего употреблять маленькое острое чертежное перо, которое сразу после употребления вытирают папиросной бумагой. Чтобы зафиксировать сделанную этой тушью надпись, место с надписью с обратной стороны осторожно нагревают над пламенем спиртовки до появления беловатых паров. После этого надпись очень крепко пристает к стеклу.

Хранение микропрепаратов. Хранить микропрепараты надо в папках в горизонтальном положении. Время от времени препараты следует просматривать и препаративной иглой добавлять сбоку смесь Фора-Берлеза в те из них, где смеси было взято недостаточно или где она высохла.

Окантовка микропрепаратов. Через несколько месяцев после изготовления препаратов их надо обвести рамкой из расплавленного воска (2 части по весу или объему) и канифоли (7 частей). При изготовлении этого сплава следует соблюдать осторожность, чтобы канифоль не вспыхнула. Рамку по сторонам покровного стекла делают с помощью специальной проволоки толщиной 0,8—1,0 мм, вставленной в деревянную ручку. Конец проволоки длиной около 2 см должен быть согнут под прямым углом. Слегка нагретым на спиртовке загнутым концом этой проволоки прикасаются к поверхности воско-канифольного сплава и затем прикладывают его к каждой стороне покровного стекла препарата. Таким образом препарат окантовывают со всех сторон.

Такая окантовка препятствует усыханию и порче препаратов и делает их пригодными для длительного хранения.

В последнее время для окантовки микропрепаратов с успехом применяется клей БФ-2.

Упаковка и пересылка микропрепаратов. Когда определение материала своими силами невозможно, микропрепараты отсылают в Бюро определений вредителей и болезней сельскохозяйственных культур (г. Ленинград, ул. Герцена, 42) или непосредственно специалисту-систематику по данной

группе животных. Для этого микропрепараты должны быть соответствующим образом упакованы.

Для пересылки хорошо подсохшие окантованные препараты складывают небольшими стопками, лучше попарно, лицевой стороной друг к другу, помещая между ними кусочки толстого картона или спичек. Необходимо, чтобы покровные стекла не соприкасались и не терлись одно о другое. Стопку из 10—12 препаратов туго связывают ниткой в двух местах или стягивают резиновыми кольцами и аккуратно завертывают в бумагу. Связанные так препараты пересылают в фанерных ящиках, укладывая их предварительно в картонные коробки с ватой. В ящике коробки не должны передвигаться и соприкасаться со стенками и поэтому их плотно обкладывают ватой, лигнином или мягкой бумагой.

Удобно для пересылки микропрепаратов иметь специальные небольшие деревянные ящики с гнездами для помещения в них препаратов в вертикальном положении, на ребре.

Оборудование, материалы и реактивы для микропрепаратов

Для изготовления микропрепаратов необходимо иметь следующее оборудование:

Микроскоп типа МБИ-1 с окулярами 7х, 10х, 15х и объективами 8х, 40х и 90х (для иммерсии);

Микрометр окулярный;

Щитки картонные для сушки микропрепаратов, закрывающиеся, с гнездами на 20 препаратов;

Ящики с пазами для хранения микропрепаратов на ребре, каждый на 100 препаратов;

Предметные стекла из тонкого бесцветного стекла со шлифованными краями размером 76×25 мм, толщиной 1,2 мм;

Покровные стекла обыкновенные толщиной 0,18 мм и тонкие толщиной 0,05 мм для иммерсии размером 18×18 мм;

Пластика стеклянная толстая с круглыми углублениями, зубо-врачебная (для мелких операций с фрагментами тела насекомых);

Смесь Фора-Берлезе;

Тушь для стекла;

Сплав воска и канифоли для окантовки покровных стекол микропрепаратов;

Едкий калий или едкий натрий, 10%-ный раствор;

Игла для окантовки микропрепаратов.

Препаровальные иглы. Для препарирования шкурок гусениц, личинок жуков, червецов и щитовок, ротовых частей или гениталий обычные препаровальные иглы не всегда пригодны. Употребляемые при микроскопии изогнутые или прямые хирургические иглы, закрепленные в иглодержателе, имеют то преимуще-

ство, что затупившуюся иглу легко сменить новой, острой, отвинчивая для этого колпачок.

Обычные препаровальные иглы слишком толсты и пригодны преимущественно для придерживания объекта. Такие иглы необходимо затачивать, пользуясь гладким твердым оселком.

Для очень мелких работ, например для расчленения ротовых органов или выделения и препаровки гениталий, шкурки червецов или мелких гусениц, очень удобно пользоваться иглами, сделанными из энтомологических минуций, которые втыкают тупым концом в деревянный иглодержатель или попросту в спичку. Иногда делают на конце такой иглы маленький крючок.

Копьевидные препаровальные иглы необходимы для отделения частей тела насекомых. Копьевидный конец хирургической глазной иглы, или тонкое копыце, для удобства загибается под углом 45°. Желательно затачивать конец копыца в виде округлой лопаточки, как рекомендует акад. Е. Н. Павловский.

Фиксация и хранение насекомых

Фиксация насекомых. Обнаруженных при экспертизе гусениц, а также личинок и куколок жуков лучше всего фиксировать и сохранять в 70°-ном спирте.

Для изготовления 70°-ного спирта из 96°-ного берут 70 см³ исходного спирта и разбавляют водой до 96 см³.

Перед тем как гусениц и личинок помещать в спирт, их погружают на 2—3 минуты в крутой кипяток или обваривают кипятком, но не кипятят и не варят. Эту операцию особенно рекомендуется делать с гусеницами, а также мягкокожими личинками и куколками белого, желтоватого, зеленоватого, красноватого или другого нежного цвета. Необваренные или непогруженные в кипяток гусеницы сморщиваются, быстро темнеют в спирте и становятся малоприспособными для определения, а переваренные в воде насекомые в дальнейшем легко распадаются на отдельные части.

Хранение насекомых на ватных слоях. Хранят насекомых на слоях ваты — матрасиках в плотно закрывающихся деревянных ящиках, чтобы не проникали кожееды, моли и не портились ими ценные сборы, особенно из импортных растительных материалов.

Слой ваты для хранения насекомых делают толщиной 0,5—1 см. Каждый ватный слой вкладывают в согнутый пополам лист писчей бумаги. На внутренней стороне этой обертки, прикрывающей непосредственно насекомых, записывают все необходимые сведения о каждом сборе насекомых соответственно их местоположению на слое. На одном слое можно разложить несколько небольших сборов по отдельным экспертизам и датам, по культурам и т. п.

Заполненный ватный слой с оберткой опоясывают полоской бумаги, концы полоски пригибают к ватному слою справа и слева; за эти концы удобно вынимать каждый ватный слой из ящика.

Для хранения ватных слоев с насекомыми используют деревянные ящики длиной 23 см, шириной 13 см, высотой (закрытого ящика) 8 см. Стенки ящика изнутри от самого дна обивают тонкой фанерой, верхний край которой выше краев ящика на 1 см и образует борт. При закрытии ящика крышку плотно надевают на борт.

На дно ящика насыпают немного нафталина, а на верхний слой кладут пакетик с нафталином, чтобы предохранить сборы от молей и других вредителей коллекций. Ящики с насекомыми хранят в сухом месте.

Хранение насекомых в спирте. Насекомых, которых рекомендуется сохранять в спирте, помещают в отдельные маленькие плоскодонные пробирки, в которые налит спирт с таким расчетом, чтобы объем жидкости не менее чем в 10 раз превышал объем хранимых насекомых. В каждую пробирку сразу же вкладывают этикетку, написанную хорошей черной тушью или мягким, хорошо отточенным простым карандашом, на пергаментной бумаге или на кальке. После этого пробирку закрывают ватным тампоном, смоченным в спирте, так, чтобы под тампоном не было пузырьков воздуха.

Для хранения пробирок со спиртовым энтомологическим материалом обычно служат широкогорлые банки объемом 250—500 см³, плотно закрывающиеся хорошо пригнанной корковой или резиновой пробкой.

На дно банки кладут слой гигроскопической ваты толщиной 1—1½ см, поверх него кладут пробирки с насекомыми и заливают 70°-ным спиртом на ⅔ объема банки.

При длительном хранении таких материалов пробку или крышку банки заливают воском или парафином.

Банки, в которых хранят спиртовой материал, периодически просматривают и по мере надобности доливают в них 70°-ный спирт. При этом спирт добавляют не только в банку, но и в каждую пробирку. Если спирт испарился и насекомые хотя бы немного подсохли, то такой материал становится мало пригодным для дальнейшего использования при определении, сравнении или для изготовления коллекций.

Очень нежных насекомых (например, галлиц, алейродид и др.) рекомендуется сохранять в жидкости Конике: 5 частей глицерина, 2 части ледяной уксусной кислоты и 3 части воды.

Материалы и реактивы для фиксации и хранения насекомых

Коробки энтомологические, с хорошим мягким торфом, размером 24×34×5 см (стандарт);

Энтомологические деревянные ящики для хранения насекомых на ватных слоях размером 23×13×8 см;

Эксикатор со стерильным песком для размягчения сухих насекомых перед монтировкой;

Пластины торфяные, обклеенные бумагой, размером 3×5 см и 10×15 см для прикалывания смонтированных насекомых при исследовании их под биноклем;

Расправилки для насекомых длиной 35 см, шириной каждой дощечки 35 мм;

Морилка для насекомых — большая толстостенная плоскодонная пробирка или широкогорлая материальная баночка емкостью 0,25 л, с хорошо пригнанной корковой пробкой;

Булавки энтомологические №№ 00; 0; 1; 2; 3;

Миниции очень тонкие длиной 10 мм;

Булавки канцелярские для расправления насекомых;

Пластины из тонкого белого картона для наклейки мелких насекомых: пятиугольные — размером 6×3 мм, 10×3,5 мм, 12×3,5 мм, прямоугольные — 11×4 мм;

Этикетки из плотной белой бумаги размером 18×7 мм;

Карточки каталожные для записи случаев обнаружения вредителей;

Коробки картотечные картонные;

Нафталин;

Тимол;

Клей для наклейки насекомых (раствор целлулоида в ацетоне).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Багдасарян А. Т. Тетранихонидные клещи (Надсем. Tetranychoidae), Издательство АН Арм. ССР, 1957.

Белосельская З. Г., Сильвестров А. Д. Вредители и болезни цветочных и оранжерейных растений, Сельхозгиз, М., 1953.

Богданов-Катков Н. Н. Руководство к практическим занятиям по общей энтомологии, Сельхозгиз, М.-Л., 1947.

Болдырев В. Ф. и др. Основы защиты с.-х. растений от вредителей и болезней, ч. 1 и 2, Сельхозгиз, М., 1936.

Борхсениус Н. С. Систематические особенности личинок второго возраста устрицевидных щитовок (Coccidae), распространенных в СССР, издание Ленингр. обл. карант. инспекции, Л., 1939.

Борхсениус Н. С. Семейство мучнистые червецы (Pseudococcidae), подотряд червецы и щитовки (Coccoidea). Фауна СССР, Насекомые хоботные, т. VII, Издательство АН СССР, М.-Л., 1949.

Борхсениус Н. С. Червецы и щитовки СССР (Coccoidea), Издательство АН СССР, М.-Л., 1950.

Борхсениус Н. С. Сбор и изучение червецов и щитовок, Издательство АН СССР, М.-Л., 1950.

Борхсениус Н. С. Семейство подушечницы и ложнощитовки (Coccidae), подотряд червецы и щитовки (Coccoidea). Фауна СССР, Насекомые хоботные, т. IX, Издательство АН СССР, М.-Л. 1957.

Бэкер Э., Уартон Г. Введение в акарологию, Издательство иностр. лит., М., 1955.

Варшалович А. А. Руководство по карантинной энтомологической экспертизе семян методом рентгенографии, Издательство МСХ СССР, М., 1958.

Васильев В. П., Лившиц И. В. Вредители плодовых культур, Сельхозгиз, М., 1958.

Болков С. М. и др. Альбом вредителей и болезней сельскохозяйственных культур Нечерноземной полосы европейской части СССР. Сельхозгиз, М.-Л., 1955.

Всесоюзная сводка по вредителям и болезням, задержанным на импортном растительном материале за 1934—1935 гг., издание Центральной карантинной лаборатории НКЗ СССР, М., 1937.

Герасимов А. М. Таблица для определения гусениц — вредителей запасов. Информ. бюллетень по вопросам карантина растений № 2(8), издание Сектора карантина и Центр. карант. лаборатории НКЗ СССР, М., 1940.

Герасимов А. М. Определитель видов рода *Phthorimaea*, повреждающих картофель, табак, томаты и другие культуры семейства пасленовых, издание Сектора карантина и Центр. карант. лаборатории НКЗ СССР, М., 1940.

Герасимов А. М. Таблица для определения куколок чешуекрылых — вредителей запасов и животных продуктов. Справочник по вопросам карантина растений № 1, издание Сектора карантина и Центр. карантинной лаборатории НКЗ СССР, М., 1940.

Герасимов А. М. Гусеницы и куколки огневков (*Lepidoptera Pyralidae*). Энтомологическое обозрение, т. XXIX, вып. 3—4, Издательство АН СССР, М.-Л., 1947.

Герасимов А. М. Гусеницы, ч. 1. Фауна СССР, Насекомые чешуекрылые, т. I, вып. 2, Издательство АН СССР, М.-Л., 1952.

Герасимов Б. А., Осницкая Е. А. Вредители и болезни овощных культур, Сельхозгиз, М., 1955.

Гусев В. И. и Римский-Корсаков М. Н. Определитель повреждений лесных и декоративных деревьев и кустарников европейской части СССР, Гослесбумиздат, М.-Л., 1951.

Данилевский А. С. Плодожорки, вредящие садоводству на Дальнем Востоке. Энтомологическое обозрение, т. XXXVII, вып. 2, Издательство АН СССР, М.-Л., 1958.

Двадцатилетние итоги карантинной экспертизы импортных растительных материалов (1931—1951), Сельхозгиз, М.-Л., 1952.

Долidae М. Д., Кунинская Г. М. Цитрусовая белокрылка (белая мушка), *Dialeurodes citri* — новый вредитель цитрусовых и других субтропических культур в Аджарской АССР, Батуми, 1958.

Захваткин А. А. Определитель клещей, вредящих запасам сельскохозяйственных продуктов в СССР. Ученые записки МГУ, вып. 42, Зоология, М., 1940.

Захваткин А. А. Тироглифоидные клещи (*Tyroglyphoidea*). Фауна СССР, т. VI, вып. 1, Издательство АН СССР, М.-Л., 1941.

Зверозомб-Зубовский Е. В. Определитель насекомых, встречающихся в зерне и зерновых продуктах, Петроград, 1923.

Иванова З. В. Амбарные вредители и меры борьбы с ними, Сельхозгиз, М., 1949.

Иллюстрированный справочник по вредителям и болезням внешнего карантина, Издательство МСХ СССР, М., 1948.

Калифорнийская шитовка в условиях СССР, под ред. Кириченко А. Н., Сельхозгиз, М.-Л., 1937.

Ламперт К. Атлас бабочек и гусениц Европы и отчасти Русско-Азиатских владений, ч. 1 и 2, С.-Петербург, 1911, 1913.

Ломакина М. И. К диагностике гусениц *Pectinophora malvella* Нб. и гусениц, близких к этому виду, развивающихся на хлопчатнике и на других мальвовых растениях. Труды Института земледелия МСХ Арм. ССР, Ереван, 1958.

Лукьянович Ф. К., Арнольд Л. В. Определитель долгоносиков-труляжков подсемейства *Cossolini* фауны СССР и сопредельных стран Европы и Передней Азии. Энтомологическое обозрение, т. XXXI, вып. 3—4, Издательство АН СССР, М.-Л., 1951.

Лукьянович Ф. К., Тер-Минасян М. Е. Жуки-зерновки (*Bruchidae*). Фауна СССР, Жесткокрылые, т. XXIV, вып. I, Издательство АН СССР, М.-Л., 1957.

Медведев С. И. Пластинчатосые (*Scarabaeidae*), подсемейства *Melolonthinae* (хрущи). Фауна СССР, т. X, ч. 2, Издательство АН СССР, М.-Л., 1952.

Медведев С. И. Личинки пластинчатосых жуков фауны СССР, Издательство АН СССР, М.-Л., 1952.

Медведева В. И. Фасолевая зерновка и меры борьбы с ней, Издательство МСХ СССР, М., 1953.

Мирам Э. Определитель отрядов взрослых насекомых и их личинок. Издательство АН СССР, Л., 1933.

Никольская М. Н. Хальциды фауны СССР (*Chalcidoidea*), Издательство АН СССР, М.-Л., 1952.

Никольский В. В., Радзневская С. Б. Розовый червь, М.-Ташкент, 1931.

Никольский В. В. Мальвовая моль — вредитель хлопчатника, Издательство МСХ СССР, М., 1959.

Определитель насекомых европейской части СССР, под ред. Тарбинского С. П. и Павлишниковой Н. Н., Сельхозгиз, М.-Л., 1948.

Определитель насекомых, под ред. Филиппова И. Н., изд. I, М., 1928, изд. 2, М.-Л., 1933.

Определитель насекомых по повреждениям культурных растений, под ред. Щеголева В. Н., Сельхозгиз, М.-Л., 1952.

Павловский Е. Н. Методы ручного анатомирования насекомых, Издательство АН СССР, М.-Л., 1957.

Песоцкая Е. А., Яковлева Н. С. Определитель вредителей и болезней citrusовых плодов, Издательство МСХ СССР, М., 1959.

Попова М. П., Соболева В. П. Вредители и болезни плодовых и ягодных культур и винограда, Сельхозгиз, М., 1956.

Присяжнюк А. А. Болезни и вредители семян древесных и кустарниковых пород и меры борьбы с ними, Всеросс. общ. охр. природы, М., 1949.

Рекк Г. Ф. Сбор и определение паутиных и плоских клещей, вредящих древесной растительности, Издательство АН СССР, М.-Л., 1952.

Рихтер А. А. Златки (*Buprestidae*), Фауна СССР, т. XIII, т. 2 и 4, Издательство АН СССР, М.-Л., 1949 и 1952.

Родендорф Б. Б. Фруктовые мухи (*Tyranidae*), их распространение и значение как карантинных вредителей, Сухуми, 1936.

Родендорф Б. Б. Определитель личинок фруктовых мух, издание Центр. карант. лаборатории НКЗ СССР, М., 1938.

Родендорф Б. Б. Отличия дынной мухи (*Cogropomyia* (*Myiopardalis*) *pardalina* Big.) от близких видов. Информ. бюлл. по вопросам карантинных растений № 6, издание Сектора карантина и Центр. карант. лаборатории НКЗ СССР, М., 1939.

Ромейс Б. Микроскопическая техника, Издательство иностр. лит., М., 1953.

Румянцев П. Д. Амбарные вредители и меры борьбы с ними, Заготиздат, М., 1940.

Савздарг В. Э. Вредители и болезни плодовых и ягодных культур, Сельхозгиз, М., 1954.

Словарь-справочник энтомолога, под ред. Щеголева В. Н., Сельхозгиз, М.-Л., 1953.

Список вредных насекомых СССР и сопредельных стран, ч. I. Вредители сельского хозяйства. Труды по защите растений, I серия, Энтомология, вып. 5, под ред. Штакельберга А. А., Институт защиты растений ВАСХНИЛ, Л., 1932.

Степанов Е. М. Серебристый клещик (*Phylloscopus oleivorus* Ashm.) и борьба с ним, издание Центр. карант. лаборатории НКЗ СССР, М., 1939.

Умнов М. П., Чураев И. А. Американская белая бабочка — новый вредитель растений, Кишинев, 1955.

Холодковский Н. А. Курс энтомологии теоретической и прикладной, т. 1, 2, 3, Сельхозгиз, М.-Л., 1927, 1931.

Чернышов П. К. Розовый кукурузный червь (*Pyroderces rileyi* Wals.) Информ. бюлл. по вопросам карантина растений № 6, издание Сектора карантина и Центр. карант. лаборатории НКЗ СССР, М., 1939.

Шевченко М. И. Защита зерна от вредителей при хранении. Сельхозгиз, М.-Л., 1954.

Шорохов П. И., Шорохов С. И. Вредители запасов зерна и зернопродуктов, Сельхозгиз, М., 1938.

Шутова Н. Н. Грушевая огневка (*Numonia pyrivorella* Mats.). Справочник по вопросам карантина растений № 1, издание Сектора карантина и Центр. карант. лаборатории НКЗ СССР, М., 1941.

Шутова Н. Н. Средиземноморская плодовая муха *Ceratitis capitata* Wied., Издательство МСХ СССР, М., 1957.

Якобсон Г. Г. Жуки России и Западной Европы, С.-Петербург, 1905.

Якобсон Г. Г. Определитель жуков, Сельхозгиз, М.-Л., 1931.

Яхонтов В. В. Вредители сельскохозяйственных растений и продуктов Сводней Азии и борьба с ними, Госиздат Узб. ССР, Ташкент, 1953.

ФИТОПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА

Целью карантинной фитопатологической экспертизы импортных растительных материалов является выявление не только карантинных, но и других болезней, представляющих большую или меньшую угрозу для нашего сельского хозяйства, в том числе неизвестных ранее. Поэтому при фитопатологической экспертизе растительных материалов приходится определять все обнаруженные грибы.

Подозрительные на зараженность грибами семена, клубни, луковицы и др. отбирают для определения возбудителей болезней.

Экспертиза семян

Образец семян тонким слоем высыпают на стекло, клеенку, пластикат или лист белой бумаги и просматривают под лупой.

Удобно пользоваться для этой цели бинокулярной лобной лупой (рис. 1).

Семена с плодоношениями грибов (подушечками, пикнидами, перитециями др.) отбирают для микроскопического исследования и определения обнаруженного возбудителя болезни.



Щуплые, деформированные, подозрительные на внутреннюю инфекцию семена, не имеющие явных внешних признаков заражения, отбирают и закладывают во влажную камеру, чтобы получить плодоношение гриба.

Если в условиях влажной камеры плодоношение гриба не образуется, а появляется только мицелий, последний пересевают на

Рис. 1. Бинокулярная лобная лупа.

питательную среду, чтобы получить чистую культуру и после этого приступают к определению гриба.

Методы выделения грибов из семян и других растительных материалов, а также рецепты наиболее часто употребляемых сред даются в главе «Техника фитопатологического лабораторного анализа».

Анализ семян хлопчатника на выявление антракноза —
— *Colletotrichum gossypii* Southw. и *Colletotrichum indicum* Dast.

При экспертизе хлопчатника просматривают макроскопически все семена, имеющиеся в образце. Для анализа на антракноз отбирают семена с побуревшим, склеившимся волокном, а также все семена с измененной окраской, щуплые, сильно деформированные и недоразвитые.

Побуревшее волокно на семенах анализируют микроскопически на наличие спор возбудителя антракноза, т. к. последние могут находиться на нем в виде желтовато-розовых скоплений. Если споры возбудителя антракноза не будут обнаружены, то семена высевают в пробирки на питательную среду, в качестве которой используют 3%-ный чистый агар.

Необходимость посева семян хлопчатника на агаровую среду вызвана тем, что возбудитель этого заболевания часто находится внутри семян в виде мицелия и образует плодоношения между эндоспермом и внутренней стороной семенной оболочки, не вызывая заметных внешних признаков, почему и не может быть обнаружен при просмотре семян.

Семена с побуревшим волокном, а также сильно деформированные, закладывают на стерилизации на агаровую среду в чашки Петри. На 6—8-й день вокруг семян или на волокне появляются плодоношения гриба в виде розовых подушечек.

Семена, нормальные по внешнему виду, но с измененной окраской, закладывают на агаровую среду в пробирки, т. к. на таких семенах антракноз может проявиться только на проростках.

В каждую пробирку наливают 3 мл агаровой среды, на поверхность которой, когда она застынет, помещают по одному семени. Предварительно, перед посевом на агар, семена дезинфицируют от поверхностной инфекции, для чего каждое семя берут пинцетом и быстро проводят через пламя спиртовой горелки (метод фламбирования), затем сразу же помещают его на питательную среду.

Прорастивают семена при температуре около 30°C. Если семя заражено возбудителем антракноза, то на корневой шейке проростков или на семядолях появляются темно-красные вдавленные пятна с плодоношениями гриба.

В Индии антракноз вызывается грибом *Colletotrichum indicum* Dast.

Семена, сильно пораженные этим грибом, заметно отличаются от здоровых: они частично или целиком теряют свой нормальный цвет и становятся бурыми, желтыми или желтовато-бурыми; кроме того, они часто бывают недоразвитыми и деформированными.

Слабо зараженные семена отличаются от здоровых только окраской. На наружной, а в большинстве случаев на внутренней стороне семенной оболочки во влажных условиях появляются подушечки гриба с конидиями.

Анализ семян с признаками, подозрительными на антракноз, без плодоношений гриба, проводят также методом закладки семян на агаровую среду.

Описание Colletotrichum gossypii Southw

Подушечки — округлые или продолговатые.

Щетинки — одиночные или пучками, длиной 100—250 микронов, с перегородками, у основания темно-коричневые, у вершины бесцветные.

Конидиеносцы — бесцветные, иногда разветвленные, 12—28×5 микронов.

Конидии — продолговато-овальные, с закругленными концами, обычно со светлой каплей в центре, бесцветные, в массе сего-розового цвета, 11—20×4—5,5 микрона.

Описание Colletotrichum indicum Dast

Подушечки — вначале розовые, впоследствии темнеющие, округлые, располагающиеся концентрическими кругами.

Щетинки — многочисленные с 6—7 перегородками, темно-коричневые, у вершины несколько бледнее окрашенные.

Конидиеносцы — короткие, часто слегка изогнутые, бесцветные, 7,7—13,2×1,6—2,7 микрона.

Конидии — серповидные, сильно заостренные с обоих концов или с одного конца, бесцветные, в массе сего-розового цвета, 15—25×1,3—4,3 микрона, с 1—2 вакуолями.

От *Colletotrichum gossypii* этот вид отличается серповидными, сильно заостренными конидиями.

Анализ семян кукурузы на выявление сухой гнили (диплоднотоза) —
— *Diplodia zeae* (Schw.) Lev.

В образце семян кукурузы, поступившем на экспертизу, рассматривают все семена.

Поверхность пораженных диплоднотозом семян лишена блеска, семена имеют сероватый или буровато-коричневый оттенок, осо-

бенно в зародышевой части. Чем сильнее они поражены, тем яснее заметна измененная окраска зародыша. Белый мицелий на поверхности семян, даже при сильном их заражении, наблюдается очень редко.

Пикниды *Diplodia zeae* в виде черных точек чаще всего образуются на зародыше, поэтому особенно внимательно надо просматривать именно эту часть семян. Так как пикниды *Diplodia zeae* иногда появляются на семенах кукурузы, совершенно здоровых по внешнему виду, то просматривают семена не только с признаками сухой гнили, но и здоровые на вид.

При наличии пикнид на семенах производят их микроскопическое исследование и определяют возбудителя болезни. На этом и заканчивается анализ образца.

Если пикнид не обнаружено, семена с признаками сухой гнили, а также щуплые, легковесные и с другими дефектами как подозрительные на скрытую зараженность диплодиозом закладывают (не менее 100 семян от каждого образца) во влажную камеру. Если такого количества семян нет, то помещают во влажную камеру все отобранные от образца семена.

Семена закладывают в чашки Петри, которые предварительно стерилизуют сухим жаром в течение 2 часов при 100°C вместе с уложенными на их дно двумя-тремя кружками фильтровальной бумаги. После стерилизации бумагу в чашках увлажняют стерильной водой. Семена раскладывают по 7—10 штук в каждую чашку и помещают в термостат при 24—25°C.

До закладки подозрительных на диплодиоз семян в чашки Петри их 3—5 секунд обеззараживают от поверхностной микрофлоры в растворе сулемы 1:1000, после чего промывают стерильной водой.

Если сулемы нет, можно использовать 1%-ный раствор марганцовокислого калия, затем промыть семена стерильной водой или погрузить их на 1—2 минуты в 96%-ный спирт с последующей просушкой между 2 листами стерилизованной фильтровальной бумаги.

Для дезинфекции семян применяют и метод фламбирования, т. е. каждое зерно берут пинцетом и быстро проводят через пламя горелки, после чего тут же помещают во влажную камеру.

На 5—6 день семена, пораженные диплодиозом, покрываются белым мицелием *Diplodia zeae*. Но иногда наблюдают на семенах мицелий гриба *Fusarium moniliforme*, который в массе отличается розоватым или темно-красновато-малиновым оттенком.

На 9—10-й, а иногда на 15—20-й день на семенах появляются пикниды, которые исследуют микроскопически.

Чтобы получить чистую культуру *Diplodia zeae*, появившийся на семенах мицелий, подозрительный на диплодиозный, пересе-

вают в пробирки на стерилизованные здоровые семена кукурузы, которые подготавливают следующим образом. Три грамма семян кукурузы заливают в пробирке 2 мл воды.

Пробирки стерилизуют текучим паром в аппарате Коха два дня подряд по 1 часу в день или в кипящей воде при этих же условиях.

При посеве мицелия *Diplodia zeae* на семена кукурузы уже на 8-й день образуются пикниды.

Описание Diplodia zeae (Schw.) Lev.

Пикниды — темные, поверхностные или погруженные в ткань; в последнем случае на поверхность выходит округлое сосковидное устье. Форма пикнид округлая или грушевидная, слегка сплюснутая.

Споры — светло-коричневые, цилиндрические, булавовидные, редко эллипсоидальные, прямые или изогнутые, с тупыми концами, с 1—3 перегородками. Размер спор 13—33×3—7 микронов (рис. 2).



Рис. 2 Споры *Diplodia zeae*.

В Советском Союзе сухая гниль кукурузы имеет распространение только в Грузинской ССР, где возбудителем болезни является один вид гриба, а именно *Diplodia zeae*.

В США, кроме *Diplodia zeae*, на кукурузе встречаются еще два вида грибов этого же рода: *Diplodia macrospora* Parl. и *Diplodia frumenti* Ell. et Ev.

При заражении кукурузы *D. macrospora* внешние признаки болезни те же, что и вызываемые *D. zeae*, поэтому определить гриб можно только при микроскопическом исследовании пикнид и спор.

Заражение кукурузы *D. frumenti* отличается по ряду внешних признаков от *D. zeae* и *D. macrospora*. На пораженных *D. frumenti* початках и семенах появляется характерное почернение, которое бывает вызвано темно-коричневым мицелием гриба, а также потемнением зараженных тканей. Больные семена внутри также бывают окрашены в черный цвет и мумифицированы в результате сильного развития грибницы и обильного образования пикнид.

Морфологические различия видов рода *Diplodia*, встречающихся на кукурузе, следующие:

Вид гриба	Цвет мицелия	Форма спор	Число клеток в споре	Цвет зрелых спор	Размер спор (в микронах)	
					средний	предельный
<i>D. zeae</i>	Белый	Цилиндрические или булавовидные, слегка изогнутые или прямые	1—3	Светло-коричневый	23,8×5,3	13—33×3—7
<i>D. macrospora</i>	Белый	Цилиндрические или булавовидные, слегка изогнутые или прямые	1—4	Светло-коричневый	67,8×9,0	43—95×6—13
<i>D. frumeti</i>	Бурый или темно-коричневый	Эллипсоидальные	1—2	Темно-коричневый	25,3×13,9	19—31×11—15

**Анализ семян льна на выявление «пасмо» —
Septoria linicola (Speg.) Garas.**

В образце, поступившем на анализ, просматривают все семена. Особое внимание обращают на щуплые, более светлой окраски, матовые семена. Иногда на поверхности таких семян, но чаще в зародышевой части могут быть пикниды гриба.

Кроме семян, тщательно просматривают имеющийся мертвый сор (обломки стеблей льна, листьев, коробочек и др.), чтобы установить, находятся ли на нем пикниды *Septoria linicola*.

Практика показывает, что при просмотре именно мертвого сора чаще и выявляется зараженность образцов «пасмо» льна, т. к. на самих семенах пикниды *Septoria linicola* обнаруживаются очень редко. Принадлежность пикнид к *Septoria linicola* устанавливают микроскопическим исследованием.

При отсутствии явных признаков заражения семена льна анализируют методом центрифугирования. Для этого семена, отобранные от образца по методу взятия средней пробы, насыпают в обычную химическую пробирку до $\frac{1}{3}$ ее объема, наливают воду в таком количестве, чтобы семена с водой занимали $\frac{2}{3}$ пробирки. Затем пробирку тщательно взбалтывают, но не более одной минуты, чтобы избежать ослизнения семян.

Сразу же после взбалтывания воду быстро сливают в центрифужные пробирки и центрифугируют в течение 5 минут. После центрифугирования осторожно сливают воду из пробирок, оставляя на дне осадок и около 1 мл воды. Осадок взмучивают встряхиванием пробирки и готовят из него микропрепараты, которые просматривают под микроскопом, чтобы

обнаружить споры *Septoria linicola*. Из осадка одной центрифужной пробирки готовят десять препаратов. Просмотр микропрепаратов следует вести при большом увеличении микроскопа, т. е. при окуляре 15х и объективе 40.

При отсутствии спор *Septoria linicola* в центрифугате производят анализ семян путем посева их на питательную среду в чашки Петри, которые предварительно должны быть простерилизованы.

Перед посевом поверхность семян дезинфицируют спиртом, после чего их просушивают между листами стерильной фильтровальной бумаги.

От просматриваемого образца высевают не менее 100 щуплых, более светлоокрашенных семян с шероховатой поверхностью. В каждую чашку Петри закладывают не более 20 семян. Чашки Петри с заложенными в них семенами помещают в термостат с температурой 21—25°C.

При появлении колоний гриба в чашках Петри делают пересев из этих колоний в пробирки с той же средой. Микроскопический анализ гриба в чашках Петри и в пробирках проводят на 8—10 день после посева.

Лучшей средой для роста гриба является двухпроцентный картофельно-глюкозный агар (рецепт среды дается в разделе «Техника фитопатологического лабораторного анализа»). На этой среде *Septoria linicola* образует мелкие приподнятые колонии с редким белым или сероватым мицелием и оранжевыми слизистыми каплями выделяющихся спор.

Описание Septoria linicola (Speg.) Garas.

Пикниды — черные, чечевицеобразной формы, иногда имеют не вполне сформированную оболочку. Развиваются под эпидермисом. Размер пикнид 75—100 микронов в диаметре (рис. 3).

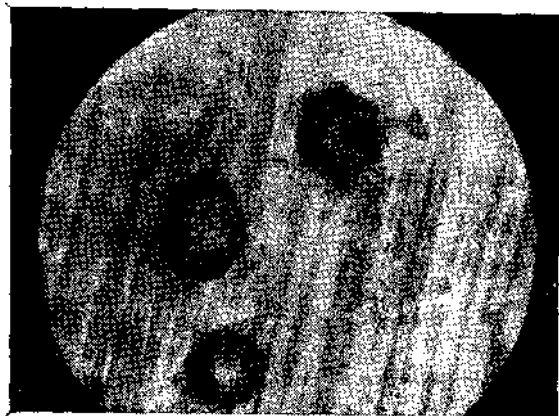


Рис. 3. Пикниды *Septoria linicola*.

Споры — бесцветные, цилиндрические, почти нитевидные, прямые или слегка изогнутые, обычно с 3 перегородками, размер спор $20-30 \times 1,5-3$ микрона (рис. 4).

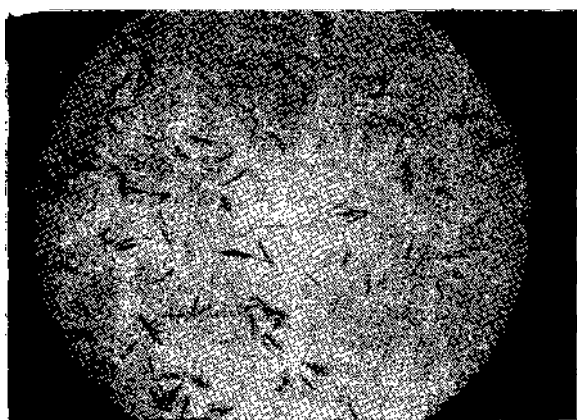


Рис. 4. Споры *Septoria linicola*.

Анализ семян пшеницы, риса и ячменя на выявление видов головни: индийской головни пшеницы — *Tilletia* (*Neovossia*) *indica* Mitra, головни риса — *Tilletia* (*Neovossia*) *horrida* Tak. и головни ячменя — *Tilletia* *Pancicii* Bub. et Ran

В образцах, поступивших на анализ, просматривают под лупой все семена на наличие головневых зерен, которые характеризуются следующими признаками.

Индийская головня пшеницы — семена поражаются головней не полностью, а частично. Наиболее часто заболевание проявляется в зародышевой части зерна, где пораженные участки напоминают дустулы ржавчины. Споры часто скапливаются в бороздке зерна в виде черной массы.

Головня риса — головневые семена риса более шуплые по сравнению со здоровыми. В большинстве случаев, не раздавив семени, трудно обнаружить головневые зерна, так как кроющиеся чешуи хорошо сохраняются и споровая масса через них не просвечивает. Очень редко, когда чешуи бывают раздвинуты, обнаруживается черная масса спор.

Мокрая головня ячменя — семена ячменя, пораженные мокрой головней, обычно имеют более темную оболочку и целиком заполнены темно-коричневой споровой массой. Они несколько короче и толще, чем здоровые семена.

Если при просмотре семян головневые зерна не будут обнаружены, то прибегают к анализу образца методом центрифугирования.

От анализируемого образца семян (пшеница, рис или ячмень) в зависимости от его веса по методу взятия средних проб берут навеску от 5 до 25 граммов.

Взятую навеску семян высыпают в колбу Эрленмейера или в химический стакан и заливают на 30 минут водой, нагретой до 30—35°C. Воды наливают такое количество, чтобы ее уровень был выше уровня семян на 1,5—2 сантиметра. Через 30 минут колбу с семенами взбалтывают в течение 5 минут, после чего воду быстро сливают в центрифужные пробирки и центрифугируют в течение 5 минут. После центрифугирования осторожно сливают воду из пробирок, оставляя образовавшийся на дне осадок и 1,5 мл воды. Осадок взмучивают встряхиванием пробирки. Стеклой палочкой берут каплю взмученного осадка и наносят ее на предметное стекло. Каплю покрывают покровным стеклом, и подготовленный таким образом препарат просматривают под микроскопом при малом увеличении, т. е. при окуляре 15х и объективе 8, на наличие спор головни.

Из осадка каждой пробирки готовят для просмотра пять микропрепаратов.

Описание спор головни пшеницы, риса и ячменя

Tilletia (Neovossia) indica Mitra — индийская головня пшеницы. Споры коричневого цвета, в массе черные, шаровидные или овальные, сетчатые, размером 22—42×25—40 микронов. Отдельные споры достигают 55 микронов (рис. 5).

Tilletia (Neovossia) horrida Tak.— головня риса. Споры



Рис. 5. Споры *Tilletia (Neovossia) indica*.

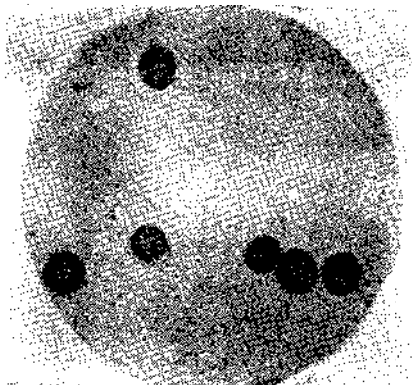


Рис. 6. Споры *Tilletia (Neovossia) horrida*.

в массе черного цвета. Отдельные споры шаровидные или округлые, реже широко эллипсоидальные, размером $21,7-31 \times 26-35$ микронов, молодые светло-или темно-коричневые, зрелые — матово-черные, непрозрачные, с заостренными выступами (рис. 6).

Tilletia Panicis Bub. et Rap. — мокрая головня ячменя. Споры в массе темно-буро-фиолетовые. Отдельные споры желтоватые или фиолетово-коричневые, шаровидные, яйцевидные или эллипсоидальные,

размером $20-28 \times 18-24$ микрона, сетчатые, с петлями 2—6 микронов ширины и выступами в 2—3,2 микрона высоты (рис. 7).

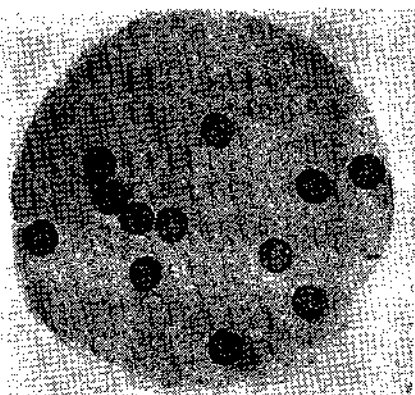


Рис. 7. Споры *Tilletia Panicis*.

Анализ семян

на выявление южной склероциальной гнили — *Sclerotium Rolfsii* Sacc.

Семена всех субтропических культур и арахиса просматривают под лупой на наличие мицелия и склероциев.

При анализе арахиса, который чаще других культур оказывается пораженным южной склероциальной гнилью, особенно тщательно просматривают внутреннюю поверхность створок у загнивающих бобов, чтобы выявить веерообразно стелющийся мицелий и склероции. Если обнаружен только мицелий, его просматривают на наличие пряжек, которые характерны для мицелия *Sclerotium Rolfsii*.

Если мицелий и склероции отсутствуют, то подозрительные семена и оболочки плодов закладывают во влажную камеру в стерилизованные чашки Петри, которые ставят в термостат при температуре $25-28^{\circ}\text{C}$. На 4—5-й день появляется мицелий, на котором дней через 10 образуются многочисленные склероции.

Чтобы избежать развития сапрофитных грибов, рекомендуется пересевать мицелий, появившийся на семенах, заложенных в чашки, на стерилизованные ломтики картофеля, на которых происходит массовое образование склероциев на 5—10-й день.

Приготовление стерилизованного картофеля указано в разделе «Техника фитопатологического лабораторного анализа» (стр. 84).

Описание *Sclerotium Rolfsii* Sacc.

Склероции — по форме, размерам и цвету напоминают семена крестоцветных культур. Они мелкие, 1—3 мм в диаметре,

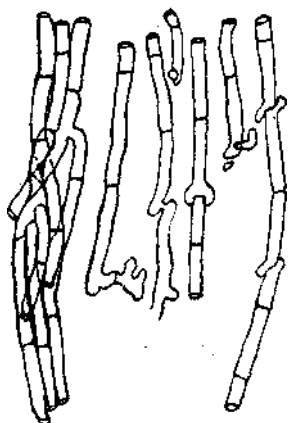


Рис. 8. Мицелий *Sclerotium Rolfsii*

округлые. Окраска склероциев в зависимости от степени их зрелости колеблется от светло-желтой до темно-коричневой, но никогда не бывает черной.

Мицелий — бесцветный, лучисто-расходящийся по субстрату, с хорошо выраженными перегородками, около которых образуются пряжки.

Наличие пряжек на мицелии является одним из основных диагностических признаков этого гриба. Гифы гриба, толщиной 2—9 микрон, тесно срастаются друг с другом и дают тяжи или пленки (рис. 8).

Экспертиза клубней, луковиц и других подземных частей растений

Все клубни, луковицы и другие подземные части растений, составляющие образец, просматривают макроскопически. При этом из них отбирают экземпляры, подозрительные на заболевания или явно зараженные, для определения возбудителя болезни.

При просмотре клубней картофеля особое внимание обращают на глазки, где могут быть выявлены наросты рака картофеля.

Почву, имеющуюся на поверхности подземных частей растений, независимо от того, из какой страны они поступили, проверяют на наличие зимних спорангиев возбудителя рака картофеля.

Если на подземных частях растений имеются только следы почвы, то анализ ее проводится следующим образом.

Клубни, луковицы и другие части растений, составляющие образец, обмывают в чашке Коха или кристаллизаторе в небольшом количестве воды (250—500 мл). Воду по мере обмывания в ней клубней или луковиц постепенно доводят до указанного объема.

После того как образец будет весь обмыт, воду сливают в химический стакан и дают ей отстояться 3—5 минут. Затем пипеткой из стакана берут 4—5 мл жидкости так, чтобы захватить немного осадка, сливают ее в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 5 минут. От каждого анализируемого образца готовят для центрифугирования по 4 пробирки.

После центрифугирования осторожно сливают воду из каждой пробирки до осадка, который взмучивают встряхиванием пробирки. Стеклой палочкой берут каплю взмученного осадка на предметное стекло, покрывают ее покровным стеклом и приготовленный микропрепарат просматривают под малым увеличением микроскопа, т. е. при окуляре 15х и объективе 8, на наличие зимних спорангиев возбудителя рака картофеля.

Из осадка каждой центрифужной пробирки готовят для просмотра по пять микропрепаратов.

Если на подземных частях растений почва имеется в сравнительно большом количестве, то анализ ее проводится одним из методов, приведенных на стр. 78—83.

Описание зимних спорангиев *Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc.

Зимние спорангии имеют форму округлых тел желтовато-коричневого цвета с зернистым содержанием. Они покрыты оболочкой, состоящей из трех слоев, из которых наружный является остатками отмерших клеток хозяина и часто имеет от одного до нескольких выростов различной формы.

Оболочка окрашена в довольно яркий светло-бурый цвет и служит хорошим отличительным признаком, позволяющим легко обнаруживать спорангии как в ткани растения, так и в почве. Размер их 50—80 микрон (рис. 9).



Рис. 9. Зимние спорангии *Synchytrium endobioticum*.

Экспертиза живых растений

Саженьцы и черенки всех культур просматривают макроскопически на наличие признаков заболевания (пятнистость, язвочки, наплывы, раковые образования). Экземпляры с такими признаками отбирают для определения возбудителя болезни. Если невозможно выявить и определить возбудителя болезни обычным микроскопированием пораженных частей растений, проводят дополнительное исследование, применяя влажную камеру или посев на питательную среду.

Посадочный материал цитрусовых и косточковых культур на вирусные болезни не анализируют, черенки и саженцы этих культур направляют в карантинные питомники.

**Анализ саженцев и черенков лимона
на выявление «мальсекко» — *Deuterophoma tracheiphila* Petri**

Саженцы и черенки лимона тщательно просматривают под лупой, т. к. при заражении их «мальсекко» на торцах этих черенков находятся расположенные группами многочисленные пикниды.

Древесина зараженного лимона обычно бывает окрашена в различные оттенки красноватого или желтовато-оранжевого цвета, это особенно хорошо видно на косом поперечном срезе. В зависимости от степени заражения пигментация иногда охватывает всю поверхность или часть торца, иногда же бывает в виде отдельных разбросанных пятен.

Применением 1%-ного раствора едкой щелочи (KOH, NaOH), наносимой кисточкой на поверхность среза черенка или саженца, можно усилить типичную для «мальсекко» окраску древесины и выявить ее в образцах, где имеется внутренняя инфекция.

Быстрота появления пигментации от действия едкой щелочи не всегда бывает одинакова, что зависит от месторасположения пигмента в исследуемом образце. Если пигмент сосредоточен во внешних слоях древесины, пигментация выявляется мгновенно; если в лежащих глубже слоях, то появление ее несколько задерживается.

При изготовлении водных растворов едких щелочей необходимо соблюдать следующие меры предосторожности: едкий натрий или калий брать пинцетом или шпателем, но не руками. Если при взвешивании приходится раскалывать кристаллы щелочи, то надо надевать предохранительные очки, чтобы частицы щелочи не попадали в глаза.

Описание Deuterophoma tracheiphila Petri

Пикниды — многочисленные черные, грушевидные или шаровидные, расположенные на черенках и листовых прикреплених. Размер пикнид 50—150 микронов.

Споры — палочковидные или слегка овальные, бесцветные, одноклеточные, $2,8-4,2 \times 1,0-1,5$ микрона. Выходят из пикниды через сосочкообразное отверстие в виде ленты, образующей петли и на конце расширенной (рис. 10).

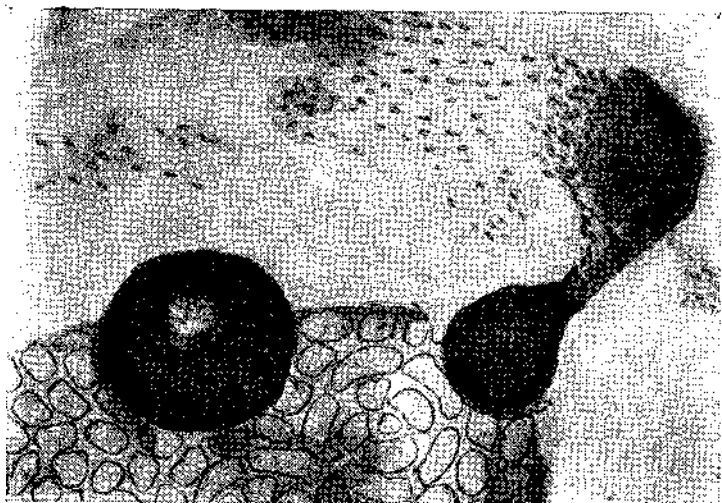


Рис. 10. Пикниды и споры *Deuterophoma tracheiprila*.

Грибница — в основном бесцветная, отдельные участки гиф красновато-оранжевого цвета.

**Анализ саженцев
на выявление тexasской корневой гнили — *Phymatotrichum omnivorum*
(Shear) Duggar (*Ozonium omnivorum* Shear)**

Ареал распространения тexasской корневой гнили ограничен американским континентом, а именно: Мексикой и США. Поэтому, чтобы выявить заболевание, анализируют образцы, поступившие только из этих стран.

У растений осматривают под 15—20-кратной лупой корневую шейку и корни на выявление гиф, тяжей и склероциев *Ph. omnivorum*, при обнаружении которых проводят микроскопический анализ для определения этого гриба.

Корни растений просматривают на наличие охряно-желтых пятен, которые являются характерными для данного заболевания. Если на корнях растений имеется почва, ее анализируют на присутствие склероциев. Для просмотра берут почву из мест, прилегающих к подземным частям растений. В зависимости от количества имеющейся почвы с каждого растения для анализа берется 2—5 проб по 20—50 г каждая. Почву предварительно доводят до воздушно-сухого состояния и просеивают через сито с отверстиями диаметром 0,25 мм. Оставшуюся на сите почву просматривают на наличие склероциев под биноклем.

Описание *Phymatotrichum omnivorum* (*Ozonium omnivorum*)

В цикле развития гриба могут быть отмечены 3 стадии: мицелиальная, конидиальная и склероциальная. На корневой шейке и корнях растений встречаются первая и последняя стадии.

1. Мицелиальная стадия гриба бывает трех типов:

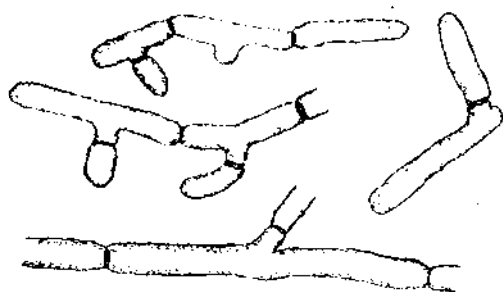


Рис. 11. Крупноклетный мицелий *Ozonium omnivorum*

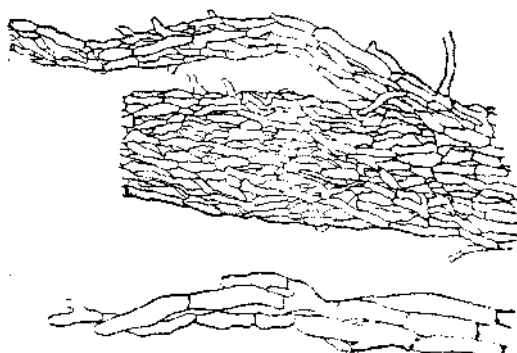


Рис. 12. Тяжи мицелия *Ozonium omnivorum*.

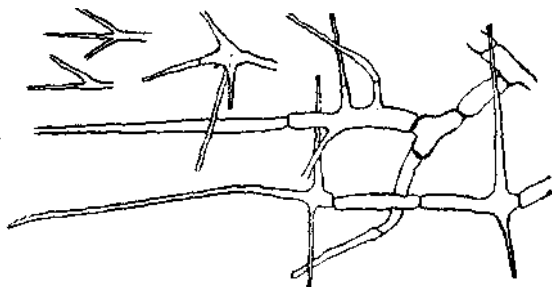


Рис. 13. Игольчатый мицелий *Ozonium omnivorum*.

а) мицелий крупноклеточный, состоит из крупных бесцветных зернистых клеток, этот тип мицелия часто образует значительное число боковых выступов (рис. 11);

б) мицелий состоит из нескольких многоклеточных гиф, собранных вместе и образующих так называемые тяжи (рис. 12).

Центральная гифа всегда толще остальных гиф, окружающих ее.

Тяжи вначале бесцветные, но со временем они становятся рыжевато-коричневыми, а иногда красновато-коричневыми;

в) мицелий игольчатый имеет паутинистый вид и представляет собой разветвленные под прямым углом гифы (рис. 13).

2. Конидиальная стадия при экспертизе растительного материала не обнаруживается, так как она образуется на поверхности почвы на некотором расстоянии от пораженных растений.

3. Склероциальная стадия — склероции мелкие, тем-

лые, размером 1—2 мм, округлые или веретеновидной формы, одиночные. Встречаются склероции, расположенные цепочкой или собранные в клубочки.

При разрезе склероция видны псевдопаренхиматические слои ткани темно-коричневой окраски с наружной стороны и светлой — с внутренней.

**Анализ саженцев
на выявление южной склероциальной гнили — *Sclerotium Rolfsii* Sacc.**

Саженцы всех культур проверяют на зараженность южной склероциальной гнилью. Корневая шейка и корни всех растений, имеющих в образце, представленном на анализ, просматривают под 15—20-кратной лупой на наличие мицелия и склероциев. На пораженных южной склероциальной гнилью частях растений побуревшая ткань покрыта хорошо заметными тяжами мицелия, состоящими из тонких белых гиф, на которых часто образуются склероции.

Если же мицелия или склероциев при просмотре не выявлено, но обнаружено загнивание корневой шейки или корней, то с них срезают кусочки пораженной ткани и закладывают во влажную камеру. При заражении южной склероциальной гнилью на 3—5-й день во влажной камере на заложенном материале появляется мицелий и на 8—10-й день образуются склероции.

Почву, если она имеется на растениях, просматривают на наличие склероциев. Для анализа используют почву с корневой шейки и корней. В зависимости от количества почвы с каждого растения берут 2—5 проб по 20—50 г каждая. Почву предварительно доводят до воздушно-сухого состояния и просеивают через сито с ячейками диаметром 0,25 миллиметра.

Оставшуюся на сите почву просматривают на наличие склероциев под биноклем.

Если склероции не будут обнаружены в почве, тогда ее пересыпают опять в сито и ставят под струю воды, чтобы отмыть илистые частицы.

После промывки почву помещают в химический стакан, под который подкладывают лист белой бумаги, и заливают водой. Часть склероциев, если они имелись в почве, всплывает на поверхность воды, часть остается на дне, но они хорошо бывают видны на белом фоне. Подобным же образом анализируют почву на луковичах и на других подземных частях растений.

Описание гриба *Sclerotium Rolfsii* Sacc. приведено в разделе «Анализ семян на выявление южной склероциальной гнили» (стр. 71).

Экспертиза почвы на зараженность возбудителем рака картофеля

При наличии почвы в образцах импортного растительного материала независимо от того, какими культурами они представлены, проверяют, нет ли в ней зимних спорангиев возбудителя рака картофеля.

Для анализа почвы рекомендуются четыре метода:

Метод Г. Н. Дорогина пригоден для анализа любого типа почв. При количестве почвы в образце до 20 г ее анализируют как одну пробу. Если почвы имеется 20—100 г, ее хорошо перемешивают, делят на две части и каждую анализируют отдельно. Когда почвы в образце больше 1 кг, то берут среднюю пробу в 1 кг, делят ее на 6—7 частей, которые анализируют отдельно.

Каждую анализируемую пробу почвы просеивают через сито с ячейками 5 мм. Остаток почвы на сите после просеивания просматривают, чтобы установить, имеются ли в ней кусочки раковых наростов.

Просеянную часть почвы помещают в химический стакан и взбалтывают в течение 2—3 минут в 250 мл воды, после чего оставляют на 1 минуту для оседания крупных частиц почвы. Через минуту воду со взмученными в ней мелкими частицами почвы сливают в химический стакан и оставляют для отстаивания осадка на 30 минут. Затем пипеткой берут 20 мл воды над осадком, но так, чтобы захватить немного осадка, разливают ее в 4 центрифужные пробирки и центрифугируют в течение 5 минут.

После центрифугирования воду из пробирок осторожно сливают, оставляя осадок и 1—1,5 мл воды. Осадок взмучивают встряхиванием пробирки. Стеклой палочкой берут каплю взмученного осадка и наносят на предметное стекло. Приготовленный микропрепарат просматривают под малым увеличением микроскопа (окуляр 15х, объектив 8) на наличие зимних спорангиев возбудителя рака картофеля.

Из осадка каждой центрифужной пробирки готовят для просмотра по пять препаратов.

Метод К. Е. Шарикова. Почву, предназначенную для анализа, доводят до воздушно-сухого состояния. От каждого образца берут среднюю пробу почвы. Для этого образец воздушно-сухой почвы, предварительно размельченной и просеянной через сито с отверстиями в 1 мм, высыпают на лист бумаги, клеенку или пластикат, разравнивают тонким слоем (не более 0,5 см) и делят на небольшие квадратики, примерно 3×3 см. Из каждого квадрата ложечкой или шпателем берут немного почвы, стараясь по возможности захватить всю толщину слоя (рис. 14).

От средней пробы, которая должна быть хорошо перемешана, берут навеску почвы в 2—5 г, растирают в фарфоровой ступке пестиком (лучше резиновым) и просеивают через мельничный

газ или сито с отверстиями 0,25 мм. Спорангии легко проходят через такое сито, а крупные частицы почвы задерживаются. Можно почву просеивать и через двойные марлевые мешочки, которые используются только для одного образца, после чего сжигаются.

После высыпания почвы из ступки на сито стенки ступки очищают мягкой кисточкой. Просеивать почву лучше на лист глянцевої бумаги или на целлулоидную пленку. Целлулоидная

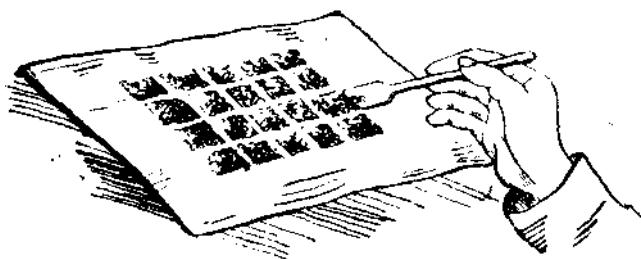


Рис. 14. Взятие почвенной навески.

пленка удобна тем, что с нее легко стряхивается почва и спорангии к ней почти не прилипают.

Просеянную почву сыпают в пробирку для центрифугирования и туда же наливают 3—4 мл четыреххлористого углерода (можно заменить дихлорэтаном). Пробирку закрывают корковой пробкой и жидкость тщательно взбалтывают в течение 1—2 минут, а затем центрифугируют не более 2 минут при медленном вращении центрифуги. После центрифугирования на дне пробирки оказывается осадок почвы, а на поверхности жидкости или во взвешенном в ней состоянии — спорангии с небольшим количеством органических примесей. Жидкость с находящимися в ней спорангиями сливают на часовое стекло для испарения.

После испарения четыреххлористого углерода (или дихлорэтана), что происходит за 3—4 часа при комнатной температуре (при подогревании в сушильном шкафу за 15—20 минут), на часовом стекле остается легкий осадок, в который добавляют несколько капель воды или машинного масла, или глицерина, разбавленного водой, и просматривают под микроскопом при окуляре 15х и объективе 8.

Просматривать осадок на часовом стекле лучше в машинном масле или глицерине, чем в воде: обе эти жидкости несколько просветляют спорангии, что позволяет легче найти их под микроскопом. Благодаря вогнутой форме часового стекла спорангии стягиваются к центру углубления и поэтому легко могут быть обнаружены.

Когда спорангии на часовом стекле обнаруживаются немно-го (не более 10), то их легко здесь же подсчитать. При большом количестве спорангиев на часовом стекле сосчитать их трудно. Если необходимо произвести точный учет спорангиев в пробе, то нужно весь осадок с часового стекла перенести на предметное стекло (иногда для этого нужно сделать несколько препаратов) и сосчитать их, передвигая препарат под микроскопом с по-мощью препаратоводителя. Осадок с часового стекла на пред-метное переносят глазной пипеткой вместе с несколькими капля-ми жидкости.

Просмотр и подсчет спорангиев лучше всего производить при окуляре 15х и объективе 8. Препарат удобнее водить попе-рек предметного стекла, просматривая одно поле зрения за дру-гим, а затем, дойдя до конца, переходить на другой ряд (рис. 15).

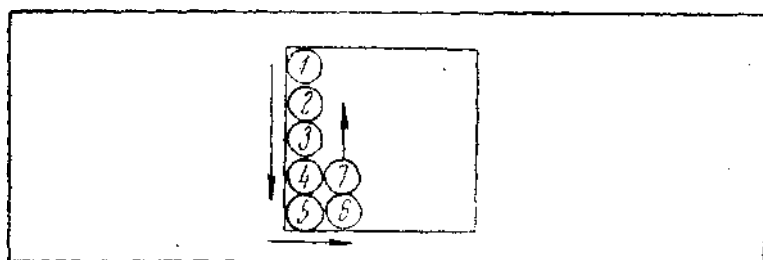


Рис. 15. Схема просмотра препарата под микроскопом.

Часовое стекло после переноса с него осадка просматривают под микроскопом. Оставшиеся на нем единичные спорангии про-считывают и прибавляют к общему количеству.

При подсчете спорангиев нормальные, деформированные и пустые учитываются отдельно.

Метод анализа почвы по Шарикову разработан для легких супесчаных почв, но его можно применять и для анализа черно-земных почв.

В черноземных почвах спорангии сильно адсорбируют гумус и поэтому окрашиваются в черный цвет, что очень затрудняет их обнаружение при анализе почвенных проб. Чтобы избежать этого, применяют обесцвечивающие вещества, такие, как 3%-ный раствор перекиси водорода или крепкий этиловый спирт, слегка подкисленный соляной кислотой.

Обесцвечивание наступает неодинаково быстро — от несколь-ких минут до нескольких часов. Более высокие концентрации перекиси водорода быстрее обесцвечивают спорангии, но они могут разрушать их оболочки.

Пленочный метод (метод Н. Н. Владимирской) раз-работан для анализа легких супесчаных почв.

Почвенные образцы, предназначенные для анализа, доводят до воздушно-сухого состояния. Почва каждого образца после высушивания хорошо перемешивается и просевается через сито с отверстиями 3 мм. Просеянную почву тщательно растирают в фарфоровой ступке резиновым пестиком.

От всего анализируемого образца почвы берут в зависимости от его размера от одной до нескольких средних навесок по 5 г каждая. Каждая навеска просевается вторично через сито с отверстиями 0,25 мм, высыпается в выпаривательную чашку диаметром 6—7 см и заливается дихлорэтаном (можно пользоваться четыреххлористым углеродом). Жидкости для заливки почвы берется в 2—3 раза больше объема взятой почвы.

Спорангии обладают большой прилипаемостью, поэтому посуду, в которой почву растирают и просеивают, необходимо тщательно обметать мягкой кисточкой или перышком, стряхивая с них почву в выпаривательную чашку.

После заливки почвы дихлорэтаном на поверхности жидкости сразу же появляется, чаще всего в центре чашки, пленка в виде тонкого налета (слабой мути). Эта пленка состоит из скопления поднявшихся на поверхность жидкости тонких минеральных и растительных частиц и спорангиев, если они имелись в почве. Пленку следует собирать сразу же, как только она появится, не допуская ее оседания на стенках чашки. Поэтому до заливания почвы дихлорэтаном необходимо подготовить предметное стекло с каплей воды и чистое сухое покровное стекло.

Снимают пленку уголком или ребром покровного стекла, которым покрывают каплю воды на предметном стекле. Полученный препарат кипятят на пламени спиртовки, охлаждают, добавляют воду, если ее недостаточно в препарате, и просматривают под микроскопом. Кипячение препарата удаляет пузырьки воздуха со спорангиев, разбивает комочки склеившихся спорангиев.

Практика показала, что при приготовлении препарата снятую пленку лучше помещать не в каплю воды, а в каплю машинного масла. Это дает возможность избежать кипячения препарата, которое нежелательно тем, что при нем возможно разбрызгивание воды из-под покровного стекла, вместе с которой могут быть выброшены и спорангии. Машинное масло хорошо просветляет спорангии, что значительно облегчает их нахождение в препарате.

Приготовленные препараты просматривают при малом увеличении (окуляр 15х, объектив 8) и при большом увеличении (окуляр 15х, объектив 40). При обнаружении спорангиев почва считается зараженной. Если требуется установить степень зараженности почвы, тогда ведут подсчет спорангиев, для чего тщательно собирают всю пленку, чтобы приготовить 2—3 препарата.

Метод А. Г. Николаева разработан для анализа легких и тяжелых почв. От анализируемого образца почвы берется

средняя проба весом 20—25 г, которую доводят до воздушно-сухого состояния, растирают в фарфоровой ступке резиновым пестиком и просеивают через сито с отверстиями 0,1—0,2 мм. Просеянную почву анализируют на присутствие спорангиев. Для извлечения спорангиев из почвы пользуются следующими органическими жидкостями или водными растворами минеральных солей с удельным весом 1,36—1,45:

органические жидкости — четыреххлористый углерод; смесь четыреххлористого углерода и эфира; смесь дихлорэтана и четыреххлористого углерода; хлороформ. Можно также пользоваться и чистым дихлорэтаном;

водные растворы минеральных солей — хлористый кальций 40%-ный; азотнокислый кальций 45%-ный.

Для тяжелых почв рекомендуются органические жидкости. Растворы минеральных солей применяют при анализе супесчаных почв.

Анализ почвы ведут в приборе, состоящем из обычной пробирки для отсасывания и делительной воронки, укрепленных на штативе и соединенных между собой резиновой трубкой. Делительная воронка устанавливается так, чтобы уровень содержащейся в ней жидкости находился выше верхнего края пробирки.

В делительную воронку наливают одну из перечисленных жидкостей. В пробирку насыпают 2 г просеянной почвы (если анализируют почву без просеивания, навеску увеличивают до 3—5 г), а затем, открыв кран делительной воронки, впускают в пробирку жидкость до $\frac{3}{4}$ объема пробирки. Закрыв кран воронки, хорошо размешивают почву в пробирке стеклянной палочкой и отстаивают 5—10 минут для того, чтобы крупные частицы почвы осели на дно, после чего с поверхности жидкости снимают всплывшие спорангии.

Снятие спорангиев производят следующим образом. Центральную часть предметного стекла при помощи стеклянной палочки покрывают тонким слоем 4—5%-ного раствора желатина, нагретого до 40°C и дают желатину остыть. Пробирку для отсасывания покрывают предметным стеклом, обращенным желатиновым слоем вниз, а затем, осторожно открывая кран воронки, в пробирку медленно впускают жидкость до тех пор, пока ее поверхность не соприкоснется с предметным стеклом, после чего кран закрывают. Через 3—4 минуты предметное стекло снимают, покрывают покровным стеклом и просматривают прилипший к желатину слой под микроскопом.

Просмотр ведут при окуляре 15х и объективе 8. Если спорангии в препарате не окажутся, их извлекают вторично. Для этого почву в пробирке снова взмучивают стеклянной палочкой и всплывшие на поверхность частицы снимают прежним способом.

При невозможности иметь описанный выше прибор анализа почвы методом А. Г. Николаева можно вести, пользуясь обычной химической пробиркой. В пробирку с ровно отогнутыми краями насыпают 2 г исследуемой почвы, наливают нужную жидкость почти до верха и взбалтывают содержимое стеклянной палочкой. После этого пробирку ставят в штатив и накрывают предметным стеклом, обращенным желатиновым слоем вниз. Затем, как только верхняя часть жидкости просветлеет, снимают всплывающие частицы. С этой целью предметное стекло осторожно сдвигают до образования узкой щели между стенкой пробирки и предметным стеклом. Через образовавшуюся щель в пробирку вносят жидкость каплями из пипетки до тех пор, пока всплывшие частицы не коснутся желатинового слоя, после чего предметное стекло осторожно сдвигают в прежнее положение. Через 1—2 минуты предметное стекло снимают и прилипший к желатину слой просматривают под микроскопом.

Недостатком прибора, рекомендуемого А. Г. Николаевым для анализа почвы, является то, что почву в пробирке взбалтывают стеклянной палочкой. Так как спорангии обладают высокой прилипаемостью, большая часть их может быть унесена стеклянной палочкой, что может сказаться особенно на результатах анализа слабо зараженной почвы. Поэтому рекомендуется в пробирке для отсасывания отводный тубус перенести вниз (рис. 16, 17). Это позволит не прибегать к взбалтыванию почвы стеклянной палочкой, почва будет взмучиваться током жидкости, поступающей в пробирку снизу из делительной воронки.

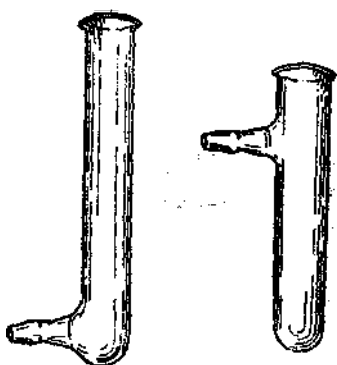


Рис. 16. В пробирке слева отводный тубус перенесен вниз.

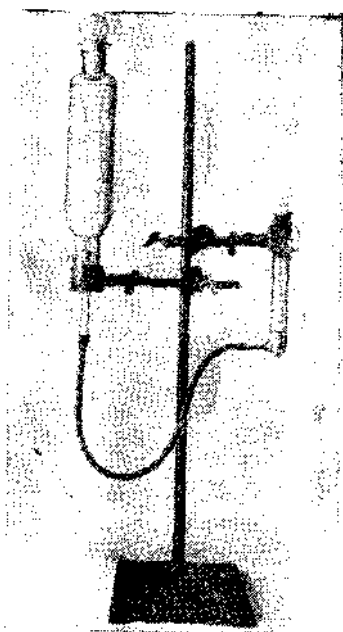


Рис. 17. Усовершенствованный прибор для анализа почвы по методу Николаева.

Техника фитопатологического лабораторного анализа

Для проведения фитопатологического лабораторного анализа необходимо иметь соответствующую оптику, аппаратуру, оборудование, мелкий инструментарий и лабораторную посуду.

Оптика

Микроскоп является основным и важнейшим оптическим прибором для фитопатологических исследований. Он дает увеличение до 1300х и служит для изучения микроскопических объектов в проходящем свете.

Существует много систем микроскопов, но в настоящее время в наших лабораториях пользуются преимущественно микроскопом отечественного производства, марки МБИ-1 (биологический микроскоп). Этот микроскоп очень удобен в работе благодаря тому, что имеет наклонный тубус и низко расположенные устройства макро- и микронаводки. Кроме того, к нему может быть приобретена бинокулярная насадка АУ-12, описание которой дается ниже. Правила пользования микроскопом следующие.

При дневном освещении микроскоп устанавливают так, чтобы на зеркало не падали прямые лучи солнца. Микроскоп лучше располагать перед окном, обращенным на север. Работая при искусственном освещении, можно пользоваться матовыми или молочного стекла электрическими лампами (75—100 ватт). Эффективнее при работе с микроскопом пользоваться специальными осветителями, которые дают равномерное и сильное освещение препарата. В настоящее время выпущены осветители типа ОИ-7. При искусственном освещении в особый держатель под столиком микроскопа вставляют светло-синий матовый светофильтр, а если свет очень резкий, то светофильтр из матового стекла.

Плоское зеркало микроскопа употребляют в том случае, если источник света расположен далеко. При источнике света, расположенном близко, применяют вогнутое зеркало. Диафрагма служит для регулирования степени освещения поля зрения микроскопа, что позволяет получить более четкое изображение.

Осветив поле зрения, помещают на предметный столик микроскопа препарат и, глядя в окуляр, поднимают или опускают тубус при помощи макрометрического винта до тех пор, пока не станет видна верхняя поверхность стекла с препаратом. Установив таким образом тубус, осторожно передвигают препарат, чтобы отыскать нужный объект. Когда объект найден, то, вращая макрометрический винт, достигают возможно более ясно и четкого изображения. Начинают микроскопирование всегда при слабом увеличении, т. е. при окуляре 15х и объективе 8, а затем уже переводят на большее увеличение, пользуясь объективом 40.

Определение видов возбудителей грибных болезней связано с необходимостью микроскопических измерений спор, пикнид

и т. д. Поэтому необходимо из вспомогательных приспособлений к микроскопу иметь окулярный и объективный микрометры.

Окулярный и объективный микрометры. С помощью окулярного микрометра производят непосредственное измерение микроскопических объектов. Объективный же микрометр (объектмикрометр) нужен только один раз: для определения абсолютной величины делений окулярного микрометра. Окулярный микрометр представляет собой круглую стеклянную пластинку с нанесенной в центре линейкой длиной 1 см, разделенной на 100 частей по 0,01 см каждая (рис. 18).

Прежде чем пользоваться окулярным микрометром, нужно определить величину одного его деления при различных комбинациях, имеющихся при микроскопе окуляров и объективов. Для определения величины делений окулярного микрометра пользу-

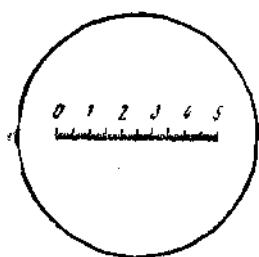


Рис. 18. Окулярный микрометр.

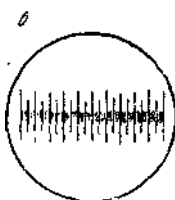
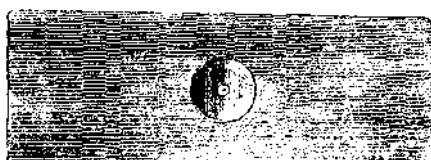


Рис. 19. Объективный микрометр.

ются объективным микрометром. Последний имеет вид микроскопического препарата, у которого между предметным и покровным стеклами в центре нанесена линейка длиной в 1 мм, разделенная на 100 равных частей (рис. 19). Каждое деление объективного микрометра, таким образом, равно 10 микронам (0,01 мм). Чтобы определить величину одного деления окулярного микрометра при какой-либо комбинации окуляра и объектива, нужно знать, какое количество его делений уместится в определенном количестве делений объективного микрометра. С этой целью объективный микрометр помещают на предметный столик микроскопа, а окулярный микрометр вкладывают в окуляр, на диафрагму между верхней и нижней линзами, для чего предварительно отвинчивают верхнюю линзу окуляра. После этого устанавливают фокус и точно совмещают первые черты делений шкал обоих микрометров. Если при этом, например, в четырех делениях объективного микрометра точно уместится 20 делений окулярного микрометра, то, зная, что каждое деление

объективного микрометра равно 10 микронам, а четыре его деления — 40 микронам, определяют, что 1 деление окулярного микрометра равно 2 микронам ($\frac{40}{20}$). Расчет можно производить по формуле:

$$\frac{0.01 \cdot x}{y} = z,$$

где x — количество делений объективного микрометра, совпадающее с делениями окулярного микрометра; y — количество делений окулярного микрометра, совпадающее с делениями объективного микрометра; z — величина одного деления окулярного микрометра в микронах.

Определение величины деления окулярного микрометра и все дальнейшие измерения во время работы всегда надо производить при одной и той же длине тубуса микроскопа, выдвинутого до черты 160 мм. В микроскопе МБИ-1 тубус установлен постоянно на эту длину.

Полученные данные с указанием, для какой комбинации объектива и окуляра (а также при какой длине тубуса) они действительны, рекомендуется свести в табличку и хранить при микроскопе.

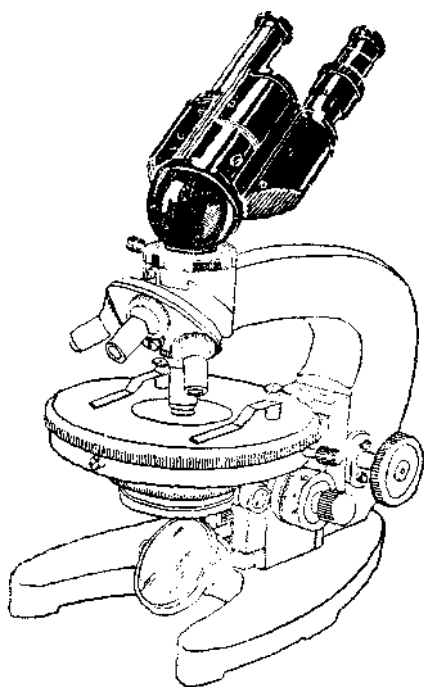


Рис. 20. Бинокулярная насадка АУ-12 к микроскопу МБИ-1.

Стереоскопический микроскоп МБС-1. Этот микроскоп имеет минимальное увеличение 3,5х, а максимальное 119х, что не позволяет исследовать с его помощью микроскопические объекты. Несмотря на это, он имеет ряд преимуществ по сравнению с обычными микроскопами: он дает прямое, а не обратное и притом объемное изображение рассматриваемого предмета. Работы с этим микроскопом могут вестись как при искусственном, так и при естественном освещении в проходящем или отраженном свете. Смена объективов производится только поворотом рукоятки объективного барабана. При всех увеличениях фокусное расстояние остается равным 64 миллиметрам, т. е. при смене объектива не приходится вновь наводить микроскоп на фокус. Такое большое фокусное расстояние и значительно большее поле зрения, чем в обычных микроскопах, позволяют использовать ми-

микроскоп МБС-1 при экспертизе семян и других частей растений для обнаружения плодоношений грибов.

Бинокулярная насадка АУ-12 — оптический прибор к микроскопу МБИ-1 предназначен для рассматривания микроскопических объектов одновременно двумя глазами (рис. 20). Это значительно облегчает длительную работу при поисках спор в микропрепаратах и не утомляет зрения. Рассматриваемые через эту насадку объекты представляются объемными. Состоит она из двух тубусов, соединенных подвижно шаровидным корпусом; ставится она на микроскоп взамен монокулярного тубуса и закрепляется винтом.

Аппаратура

Сушильный шкаф служит для стерилизации сухим жаром химической посуды. Он представляет собой камеру различной конструкции; в последнее время стали выпускать сушильные шкафы цилиндрической формы. Сверху шкаф имеет два отверстия — для термометра и вентиляции. Нагрев шкафа производится с помощью электронагревателей, находящихся или в нижней части шкафа, или между двойными стенками. Сушильный шкаф дает температуру до 220 градусов.

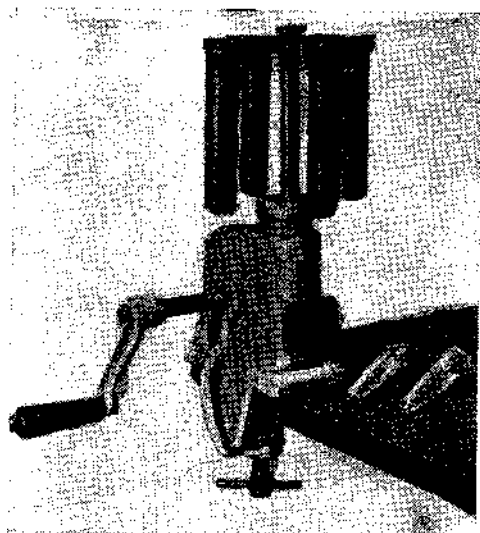
Термостат используют для проращивания семян, выявления их зараженности микроорганизмами, а также для культивирования выделенных возбудителей болезней растений. Он представляет собой камеру с двойными стенками, внутри которых помещены электронагреватели. Термостат имеет два отверстия — одно для терморегулятора, другое для термометра. С помощью терморегулятора в термостате в течение длительного срока можно поддерживать определенную температуру.

Аппарат Коха (кипятильник) применяется для стерилизации питательных сред текучим паром. Состоит кипятильник из металлического бака, закрывающегося сверху крышкой с двумя отверстиями: одно для термометра, другое для выхода пара. В аппарат Коха наливается вода, над поверхностью которой на специальной металлической подставке с отверстиями для прохождения пара помещают стерилизуемые предметы. Время стерилизации отсчитывают с момента непрерывного выхода пара.

Автоклав служит для стерилизации питательных сред насыщенным паром под давлением. Представляет он собой медный толстостенный, герметически закрывающийся котел, в котором можно получить давление водяного пара до 2—3 атмосфер. Удобнее всего пользоваться автоклавом с электрическим обогревом. Автоклав снабжен кранами для выхода воздуха и пара, манометром для определения давления пара внутри котла и предохранительным клапаном. В автоклав до определенного уровня наливают воду. На металлическую подставку ставят стерилизуемые среды, герметически завинчивают крышку и, включив нагрев, доводят давление пара до нужного показателя.

Техника работы с сушильным шкафом, аппаратом Коха и автоклавом подробно указана в разделе «Стерилизация питательных сред и посуды».

Центрифуга применяется для осаждения частиц, находящихся в жидкости во взвешенном состоянии. Центрифуги бывают нескольких типов: открытые, закрытые, ручные и электрические.



Открытая ручная центрифуга (рис. 21) состоит из вертикальной вращающейся оси, перпендикулярно которой на верхнем конце ее прикреплена планка с подвижно укрепленными на ней двумя (или четырьмя) металлическими гильзами. В эти гильзы вставляются специальные, суженные книзу пробирки с жидкостью, в которой необходимо осадить взвешенные частицы. При быстром вращении центрифуги все на-

ходящиеся в воде или в какой-либо жидкости частицы, в том числе споры грибов, благодаря центробежной силе опускаются на дно пробирки, образуя осадок. Пробирки наполняют так, чтобы расстояние от края до уровня жидкости было не менее 10 мм. Пускают центрифугу не сразу на полный ход, а постепенно. Это относится как к ручным, так и к электрическим центрифугам.

Водяная баня (рис. 22) при фитопатологических работах применяется в основном для разогревания питательных сред.



Рис. 22. Водяная баня.

Она представляет собой цилиндрический, чаще круглодонный металлический (обычно из красной меди) сосуд, закрывающийся крышкой, состоящей из набора колец разного диаметра, концентрически налегающих одно на другое. В сосуд наливают воду настолько, чтобы до краев оставалось 2—3 см. Нагреваемую

колбу с питательной средой помещают на кольцо такого диаметра, чтобы ее дно заходило на 1,5—2 см внутрь бани. Особен-

ностью этой бани является то, что разогреваемая питательная среда не доводится до кипения, так как ее температура не поднимается выше 97—98 градусов.

Кроме перечисленного основного оборудования, необходимо иметь технические весы с набором разновесов, лобные биноклярные и ручные лупы.

Из мелких инструментов для фитопатологических работ необходимы: бритвы, скальпели, пинцеты, препаровальные иглы и иглы для пересевов (платиновые), ножницы. Вспомогательным оборудованием являются: почвенные сита, фарфоровые ступки, спиртовки, штативы для пробирок (металлические и деревянные), металлические корзинки для стерилизуемых в автоклаве или аппарате Коха пробирок.

При лабораторных фитопатологических анализах наиболее часто употребляется следующая химическая посуда, без которой нельзя провести большинство работ: химические и центрифужные пробирки, колбы конические Эрленмейера, чашки Петри и Коха.

Химические пробирки применяются главным образом для культивирования грибов на искусственных твердых и жидких питательных средах.

При анализе семян на механическую засоренность спорами головневых и других грибов, который проводится методом обмывки семян и последующего исследования центрифугата, применяют центрифужные пробирки.

Обычно при лабораторных фитопатологических исследованиях пользуются чашками Петри диаметром 8—10 см. Растительный материал, подозрительный на зараженность грибами, закладывают в них на увлажненную фильтровальную бумагу (влажная камера) или на питательную среду. Эти чашки удобны тем, что колонии грибов на питательной среде можно в них рассматривать под микроскопом при малом увеличении, перевернув чашку нижней стороной вверх.

Колбы Эрленмейера, в которых обычно производят варку искусственных питательных сред для культивирования грибов, употребляют различной емкостью от 100 до 1000 мл.

Кроме того, необходимы для работы предметные и покровные стекла, часовые стекла, стеклянные воронки, химические стаканы различной емкости, кристаллизаторы, мерные цилиндры, пипетки, эксикаторы, капельницы, фарфоровые тигельки и чашки для выпаривания.

Подготовка лабораторной посуды

Лабораторная посуда, употребляемая при фитопатологических анализах, должна быть совершенно чистой, обезжиренной. Чтобы проверить, достаточно ли чисто вымыта посуда, ее нужно

ополоснуть водой, затем воду слить и посуду перевернуть вверх дном. Вода должна стекать, оставляя на стенках тонкую ровную водяную пленку. Если при этом на стекле останутся отдельные капли воды, то это свидетельствует о том, что стекло вымыто недостаточно и такую посуду надо мыть снова.

Новую стеклянную посуду, прежде чем пустить в употребление, кипятят в 1%-ном растворе соляной кислоты, после чего тщательно промывают водой. Посуду со следами агара, желатина и других питательных сред за сутки перед мытьем намачивают в щелоче, приготовленном из печной золы или технического едкого натрия, так называемой каустической соды. Затем посуду обрабатывают химическим путем, для чего чаще всего применяется хромовая смесь или марганцовокислый калий. Для приготовления хромовой смеси на литр воды берут 50 г двуххромовокислого калия и 100 г технической серной кислоты.

При мытье посуды хромовой смесью рекомендуется сначала промыть ее водой, по возможности удалить механическим путем твердые загрязнения (налеты, осадки, остатки питательных сред), если они имеются, и только после этого наливать в посуду хромовую смесь приблизительно на $\frac{1}{4}$ объема посуды. Затем хромовой смесью осторожно обмывают стенки посуды, наклоняя и поворачивая ее во все стороны. После этого медленно выливают хромовую смесь в ту банку, в которой она хранится. Приготовленная один раз хромовая смесь может применяться многократно. Она делается непригодной только тогда, когда цвет ее из оранжево-красного станет зеленым.

Обращаться с хромовой смесью надо очень осторожно, так как она ядовита и, кроме того, из-за наличия в ее составе серной кислоты дает ожоги кожи, портит одежду и обувь. Если это заметить вовремя, то действие ее можно прекратить, обмыв место, куда она попала, сначала слабым раствором щелочи (соды или др.), а затем хорошо промыв водой.

Марганцовокислый калий для мытья посуды применяют в виде 4—5%-ного раствора. Наливают в посуду раствор этой соли и добавляют в него немного концентрированной серной кислоты; при этом раствор становится теплым. Посуду этим раствором моют также, как и хромовой смесью. После обработки раствором марганцовокислого калия на стенках посуды может остаться бурый налет. Его удаляют обработкой соляной или щавелевой кислотой.

Раствор марганцовокислого калия для мытья посуды используется только один раз, после чего его выливают.

Посуду, вымытую хромовой смесью и марганцовокислым калием, ополаскивают не менее 5—6 раз водопроводной водой, а потом дистиллированной. После мытья посуду сушат при комнатной температуре или в сушильном шкафу при температуре 50°C.

Стерилизацией называется полное обеззараживание от микроорганизмов какой-либо среды. Чаще всего применяется стерилизация нагреванием. Существует несколько способов стерилизации: текучим паром, паром под давлением и сухим жаром. Питательные среды, приготовляемые для культивирования грибов и других микроорганизмов, стерилизуются текучим паром или паром под давлением.

Стерилизация текучим паром производится в аппарате Коха. Текучий пар образуется при кипении воды, налитой на дно кипяильника до уровня металлической сетки, на которую ставят для стерилизации колбы и пробирки с питательными средами, помещенные в проволочные корзинки (рис. 23). Время начала стерилизации отмечают с момента выхода пара непрерывной струей из отверстия в крышке и с момента показаний термометра 100°C. Стерилизация сред производится обычно три дня подряд в течение часа.

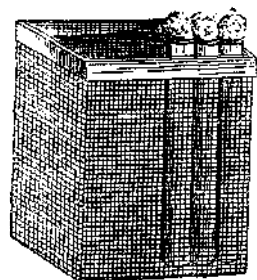


Рис. 23. Проволочная корзинка для пробирок.

Стерилизация под давлением является более надежным способом стерилизации и производится в автоклаве. Применяется она в тех случаях, когда требуется температура выше 100°C, и проводится следующим образом. В автоклав вливается вода до определенного уровня. На металлическую сетку ставят химическую посуду со стерилизуемой средой. После этого герметически привинчивают крышку автоклава и, оставив открытым воздушный кран, включают нагрев. Кран оставляют открытым до тех пор, пока не выйдет из котла весь воздух и не начнет выходить непрерывной струей пар. Закрыв кран, доводят давление по манометру до одной или полутора атмосфер и поддерживают его в течение часа, после чего прекращают нагрев автоклава. Когда стрелка манометра упадет до нуля, открывают кран и только после этого отвинчивают крышку автоклава. Если кран будет открыт слишком рано, то от быстрого понижения давления стерилизуемая жидкость может вскипеть и выбросить ватные пробки, которыми закрыты колбы и пробирки.

В автоклаве можно стерилизовать питательные среды и без давления. В таком случае воздушный кран автоклава совсем не закрывают и пар свободно выходит из автоклава во время стерилизации.

Чашки Петри, чашки Коха, химические пробирки и другую лабораторную стеклянную посуду стерилизуют сухим жаром в сушильном шкафу. Перед стерилизацией пробирки закрывают ватными пробками, а чашки заворачивают в бумагу. Сушильный

шкаф загружают так, чтобы между посудой и стенками шкафа оставались промежутки. Это делается для того, чтобы в сушильном шкафу температура воздуха везде была ровная. Стерилизацию проводят при температуре 130°C в течение двух часов или при температуре 170°C в течение полутора часов. Поднимать температуру выше 170°C не следует, т. к. будут обугливаться ватные пробки и бумага. Вынимают простерилизованную посуду только после того, как шкаф остынет.

Мелкие инструменты: пинцеты, скальпели, ножницы и др. стерилизуют путем проведения их несколько раз через пламя спиртовки, предварительно погружая в спирт (ректификат или денатурат).

Иглы для пересева стерилизуют также обжиганием в пламени, но без предварительного погружения в спирт. Прогревают вначале стеклянную палочку, проводят ею горизонтально в пламени горелки до тех пор, пока она хорошо не прогреется. После этого держат иглу вертикально над пламенем горелки, прогревают проволочку до красного каления три раза.

Простерилизованные инструменты помещают на стерильную подставку для остывания, при этом концы их не должны касаться стола или каких-либо предметов, чтобы не загрязниться вновь. Мелкие металлические инструменты рекомендуется периодически стерилизовать кипячением в воде, добавляя в нее соду.

Приготовление питательных сред для грибов

Для культивирования грибов и выделения их из растительного материала применяют различные питательные среды. Питательные среды бывают естественные (природные) и искусственные. К первым относятся: зерно, плоды, овощи, стебли и пр. Искусственные среды — вытяжки или отвары из плодов, овощей — готовятся путем переработки естественных продуктов. При этом для того, чтобы сделать жидкую среду твердой, добавляют к ней агар или желатин.

Агар является продуктом переработки морских водорослей. Он содержит мало питательных веществ, но придает среде плотную консистенцию, на которой грибы хорошо растут и дают плодовые тела. Агар бывает в продаже в виде порошка, но чаще в виде тонких узких прессованных полосок. Агара для приготовления питательных сред берут в количестве от 2 до 40%.

Агаровые среды готовят следующим образом: агар нарезают мелкими кусочками, замачивают в течение 4 часов в химической колбе, наполненной половинным количеством воды, требуемой для приготовления среды, после чего нагревают в аппарате Коха или на водяной бане для расплавления агара. Затем, когда агар расплавится, к нему добавляют растворенные в воде составные части приготовляемой питательной среды соглас-

но рецепту. Добавляют воду до нужного объема и стерилизуют. В зависимости от состава среды стерилизация производится или в автоклаве под давлением в одну атмосферу в течение часа, или текучим паром в аппарате Коха два дня по одному часу.

При застывании агара выделяется вода на поверхности среды и на стенках посуды. Чем медленнее застывает агар, тем меньше выделяется капель воды. Поэтому рекомендуется не вынимать колбы или пробирки из автоклава или аппарата Коха со стерилизованной средой до тех пор, пока они не остынут. Кроме того, чтобы избежать выделения воды, к агаровой среде добавляют 2% желатина.

Агаровые среды в большинстве случаев не просветляют, но если это необходимо, то поступают следующим образом: берут белок от одного куриного яйца (из расчета на один литр воды), взбивают его до появления легкой пены и вливают в теплую, но не горячую среду. Затем начинают нагревать эту смесь, доводя ее до кипения. Смесь кипятят 10 минут, после чего фильтруют через марлю для удаления сгустков белка. Затем в воронке для горячего фильтрования или в нагретом аппарате Коха фильтруют ее через обыкновенный бумажный фильтр.

Желатин является продуктом животного происхождения. Он так же, как и агар, не содержит веществ, питательных для грибов, и применяется для того, чтобы придать твердость питательным средам. Для приготовления питательных сред берут 10—12% желатина. Недостатком желатиновых сред является то, что они разжижаются уже при 24—26°C, кроме того, при сильноокислой реакции они не застывают. Поэтому наиболее часто употребляются агаровые среды.

Приготовленные питательные среды сохраняют в колбах или пробирках. Разливку сред по пробиркам производят сразу же, чтобы не дать среде застыть. Колбы и пробирки, в которые разливают питательную среду, закрывают ватными пробками.

Ватные пробки изготовляют из гигроскопической ваты следующим образом: кусок ваты расправляют на столе в виде продолговатой четырехугольной пластинки, загибают ее края внутрь, чтобы получить ленточку шириной, соответствующей длине пробки, и скатывают из нее валик размером, равным диаметру пробирки. Пробка должна быть туго свернутой и плотно входить в пробирку, но вместе с тем и достаточно легко выниматься из пробирки. В пробирку пробка должна входить на 2 см, а ее конец, выходящий наружу, должен составлять не менее $\frac{1}{3}$ длины всей пробки (рис. 24).

Чтобы при разливке среды не смачивать края стенок пробирки, поступают следующим образом. Стекланную воронку вставляют в металлической или деревянный штатив. На конец воронки надевают тонкую резиновую трубочку с зажимом и стеклянной трубочкой на конце. В воронку наливают питательную среду, а конец стеклянной трубочки опускают в пробирку и, ос-

лабляя зажим, наливают нужное количество среды. Обычно в каждую пробирку наливают по 4 мл среды, если готовят ее с наклонно застывшей поверхностью (косяки), и по 8 мл, если она нужна для разливки в чашки Петри. Затем пробирки помещают в проволочную корзину для того, чтобы во время стерилизации они были в вертикальном положении, хорошо закрывают их сверху бумагой, чтобы не намокли пробки, и ставят для стерилизации в аппарат Коха или в автоклав.

После стерилизации пробирки или оставляют в проволочной корзине для застывания, или при-

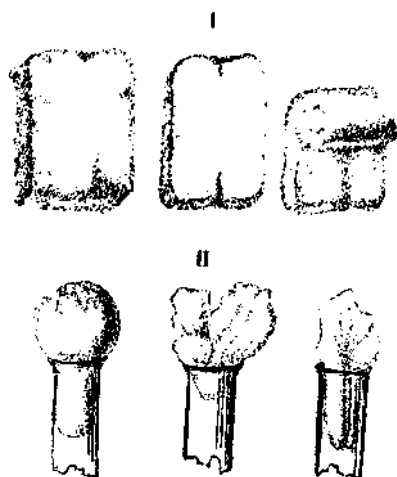


Рис. 24. Приготовление ватных пробок:

I. Слева—плоский кусок ваты; в середине—кусочек ваты после загиба краев; справа—приготовление пробки. II. Слева правильно сделанная ватная пробка, в середине и справа—вид пробок, приготовленных неправильно.

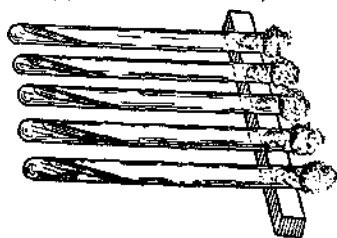


Рис. 25. Агар в пробирках, положенный для косо́го застывания.

дают им наклонное (косое) положение (рис. 25). Косая поверхность удобна тем, что площадь питательной среды при этом увеличивается и это значительно облегчает наблюдение за развитием гриба. В таком положении пробирки остаются до тех пор, пока питательная среда не станет твердой. Агаровые среды, предназначенные для чашек Петри, не следует разливать очень горячими, чтобы избежать большой отдачи воды. Производить разливку сред в пробирки следует с расчетом, чтобы они хранились или были использованы в течение месяца.

Питательные среды рекомендуется хранить при комнатной температуре. Если приготовленная питательная среда не полностью разлита по пробиркам, то остаток ее стерилизуют повторно ввиду возможного заражения микроорганизмами во время разлики.

Рецепты питательных сред для культивирования грибов

Искусственные среды

Картофельный агар. 100 г вымытого, очищенного, нарезанного мелкими ломтиками картофеля заливают 500 мл

воды и кипятят в течение 40 минут. Затем жидкость отфильтровывают, добавляют воду, восстанавливая объем до 500 мл, и 10 г сухого агара, затем стерилизуют в текучем пару до полного расплавления агара. После стерилизации прибавляют в среду лимонную кислоту на кончике скальпеля, после чего агар разливают по пробиркам и стерилизуют в аппарате Коха два дня подряд по одному часу.

Двухпроцентный картофельно-глюкозный агар. Берут 100 г очищенного, вымытого картофеля, 10 г глюкозы и 10 г агара на 500 мл воды. Картофель нарезают ломтиками, заливают водой и кипятят в течение 40 минут, затем жидкость фильтруют, восстанавливают добавлением воды объем до прежнего и прибавляют агар. Смесь стерилизуют в аппарате Коха до полного расплавления агара. После этого добавляют глюкозу, смесь хорошо размешивают, разливают в пробирки и стерилизуют текучим паром два дня по одному часу.

Овсяный агар. 25 г овсяного толокна или 50 г слегка растолченных овсяных зерен заливают 500 мл воды, оставляют на сутки при комнатной температуре. Затем жидкость отфильтровывают через вату или через несколько слоев марли, прибавляют к ней 20 г агара и ставят в аппарат Коха до полного расплавления агара. Полученный таким образом овсяный агар разливают по пробиркам и стерилизуют текучим паром в течение двух дней по одному часу.

Пивное сусло с агаром. В пивном сусле определяют сахарометром содержание сахара и добавляют воды столько, чтобы процент его был от 5 до 10 (желательно 7). Чаще всего это выражается следующим соотношением: 1 часть пивного сусла на 3—5 частей воды. В разбавленное водой сусло добавляют 2% агара. После полного расплавления агара в аппарате Коха приготовленную среду разливают по пробиркам и стерилизуют текучим паром два дня подряд по одному часу.

Мальце-пептонный агар. 10 г мелко нарезанного агара несколько часов замачивают в 250 мл воды, добавляют еще 250 мл воды и ставят в аппарат Коха до полного расплавления агара. После этого небольшую часть жидкости немного охлаждают, размешивают в ней 5 г пептона и выливают обратно в колбу. Добавляют 10 г мальц-экстракта и затем всю жидкость нагревают 10 минут в аппарате Коха. После этого добавляют в питательную среду на кончике скальпеля лимонную кислоту, разливают по пробиркам и стерилизуют текучим паром два дня по одному часу.

Картофельный желатин. 100 г вымытого, очищенного картофеля нарезают на маленькие кусочки, опускают в 150 мл воды, варят в течение полутора часов, затем фильтруют. После

этого восстанавливают объем, добавляют 10 г желатина, стерилизуют текучим паром по одному часу два дня подряд.

Синтетическая среда Чапека. В 100 мл горячей воды растворяют следующие соли (в граммах):

азотнокислый натрий	0,2
фосфорнокислый калий однозамещенный .	0,1
сернокислый магний	0,05
хлористый калий	0,05
сернокислое железо	0,001

К этому составу добавляют 3 г сахара.

Соли и сахар растворяют в горячей воде, затем фильтруют через бумажный фильтр и стерилизуют в автоклаве при давлении в одну атмосферу в течение 15 минут. Сюда же может быть добавлен агар в количестве 2% (агар по Чапеку).

Естественные среды

Картофель свежий. Клубни картофеля моют в проточной воде щеткой, выдерживают 30 минут в растворе сулемы 1:1000, тщательно промывают в водопроводной, затем в стерильной воде, обсушивают на воздухе и далее очищают стерильным ножом кожуру. У очищенного клубня срезают оба конца, затем нарезают ломтики толщиной 3—3,5 см. Из ломтиков нарезают стерильным ножом или стерильным сверлом брусочки или цилиндрики. Эти брусочки или цилиндрики помещают в заранее приготовленные стерильные пробирки с небольшим количеством воды в них (1—1,5 мл). Приготовленная таким образом среда готова для использования.

Стерилизованный картофель. Картофель хорошо моют и очищают, нарезают в виде цилиндров, опускают в пробирки и стерилизуют без добавления воды текучим паром по одному часу два дня подряд. Можно стерилизовать под давлением в одну атмосферу 30 минут.

Рис. На один объем риса (крупа), положенного в колбу или пробирку, берут два объема воды. Все это стерилизуют текучим паром два дня подряд по одному часу.

Корни и стебли различных растений. Очищенные от почвы корни и стебли растений нарезают на кусочки длиной 5—7 см и вымачивают в течение двух часов в воде. В каждую пробирку опускают по одному кусочку стебля или корня, добавляют воду от 1 до 1,5 мл и стерилизуют текучим паром по одному часу в течение двух дней. Лучшей средой для культивирования многих грибов являются стебли донника.

Выделение грибов из семян

Анализ семян на выявление возбудителей грибных болезней начинают с наружного осмотра семян, который производится при помощи лупы.

Наружным осмотром могут быть выявлены головневые зерна, спорынья, склероции и различные плодоношения грибов на самих семенах. При этом осмотре также могут быть выявлены семена с признаками внутренней грибной инфекции, т. е. шуплые, со сморщенной семенной оболочкой, потерявшие нормальный цвет, а также имеющие различного рода пятна. Если на семенах нет зрелых плодоношений гриба, позволяющих определить возбудителя болезни, прибегают к анализу биологическим методом.

Биологический метод анализа основан на том, что для грибов, наличие которых предполагается внутри семян, создаются оптимальные условия развития и роста. Этот метод имеет несколько форм, из которых наиболее часто применяется закладка семян во влажные камеры, т. е. помещение их в оптимальные условия влажности и температуры или раскладка семян на твердые питательные среды.

В качестве влажной камеры для семян используются чашки Петри, в которые вкладывают вырезанную кружками фильтровальную бумагу или марлю. Бумагу кладут в 2 слоя, а марлю в 3 слоя. Между слоями бумаги, положенной на дно чашки, иногда прокладывают тонкий слой ваты. После этого чашки закрывают, завертывают каждую отдельно в бумагу и стерилизуют в сушильном шкафу.

Перед тем как положить семена в чашки, фильтровальную бумагу или марлю увлажняют стерильной свежeproкипяченной водой, для чего крышку чашки слегка приоткрывают. Воды для увлажнения берут такое количество, чтобы была смочена вся бумага, но не было избытка ее на поверхности бумаги. Раскладку семян в чашки проводят в стерильных условиях, для чего дезинфицируют рабочее место, пинцет, которым берут семена, и другие употребляемые инструменты.

Если целью анализа является обнаружение грибов, имеющих ся на поверхности семян, последние перед закладкой их во влажную камеру не дезинфицируют. Если же необходимо выявить внутреннюю инфекцию, то прибегают к наружной дезинфекции семян. Семена дезинфицируют 1%-ным раствором марганцовокислого калия с последующей промывкой в стерильной воде или на 1—2 минуты опускают в 96%-ный спирт, после чего обсушивают между двумя листами стерильной фильтровальной бумаги. Чашки Петри с разложенными в них семенами (рис. 26) ставят

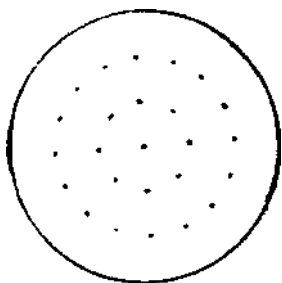


Рис. 26. Схема раскладки семян.

в термостат, где поддерживается температура 22—25°C. Наблюдения за ростом гриба начинают через 3—4 дня после посева семян, как только появится мицелий грибка. Фильтровальную бумагу в чашках по мере ее высыхания увлажняют стерильной водой.

Посев семян на твердые питательные среды применяется главным образом для выявления скрытой зараженности семян грибами. Питательная среда в пробирках подогрывается в водяной бане или в стакане с горячей водой. После того как среда делается жидкой, ее разливают в стерилизованные чашки Петри. При выливании среды из пробирки крышку чашки только слегка приподнимают с одной стороны (рис. 27), чтобы в нее не попали споры из воздуха. Осторожным вращением чашки распределяют среду равномерно по всей поверхности ее дна. После этого чашки ставят на горизонтальную поверхность для застывания среды. Агаровые среды застывают быстро, желатиновые — медленнее. Когда питательная среда в чашках застывает, на нее раскладывают семена.



Рис. 27. Выливание среды из пробирки в чашку Петри.

Так же, как и при закладке семян во влажные камеры, семена или не дезинфицируют, если посев производят с целью выявления поверхностной грибной инфекции, или дезинфицируют, если анализ ведется на выявление скрытой зараженности. Посев семян проводят в стерильных условиях и стерильным пинцетом. Чашку во время высева семян приоткрывают только слегка. После того как семена разложены на питательной среде, на чашках надписывают цветным восковым карандашом или специальными чернилами дату посева и номер образца (рецепт чернил для стекла: смесь 10 см³ обычных чернил с 3 см³ кремнекислого натрия — жидкого стекла). После этого чашки закрывают в бумагу, в которой они стерилизовались, и ставят в термостат, где поддерживается температура 22—25°C.

Через 2—3 дня начинают наблюдать за ростом гриба. Повернув чашку Петри нижней стороной к объективу микроскопа, рассматривают рост и характер колоний при малом увеличении

(окуляр 15х, объектив 8). Иногда для более быстрого обнаружения скрытой зараженности предварительно продезинфицированные семена разрезают пополам стерильным скальпелем и разрезанной поверхностью кладут на питательную среду. Через несколько дней, когда начнет появляться грибница, ее переносят стерильной платиновой иглой в пробирки с питательной средой для получения чистой культуры гриба, к определению которого приступают после образования плодоношений.

Пересев гриба из чашки в пробирку производят следующим образом: пробирку с питательной средой берут между большим

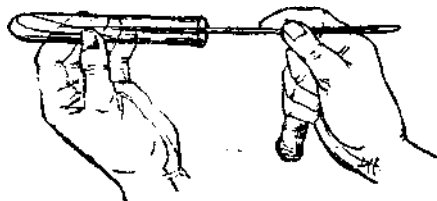


Рис. 28. Посев культуры в пробирку.

и указательным пальцами левой руки так, чтобы пробирка находилась почти в горизонтальном положении (рис. 28). Вынув затем ватную пробку и прижав ее мизинцем к ладони правой руки таким образом, чтобы часть пробки, бывшая внутри пробирки, не касалась руки, слегка обжигают край пробирки над пламенем спиртовки и прокаленной, но несколько остывшей иглой наносят на поверхность питательной среды кусочек мицелия, взятый из чашки. После этого опять обжигают горлышко пробирки и закрывают ее ватной пробкой, предварительно проведя внутреннюю часть пробки также через пламя спиртовки.

Если в чашках Петри появляется мицелий гриба, загрязненный сапрофитными микроорганизмами, то его очищают методом разливки и только после этого пересевуют в пробирки.

Метод разливки заключается в следующем: стерильной иглой берут из чашек кусочки мицелия, по возможности со спорами, если они образовались, и переносят в разогретую жидкую питательную среду. Закрыв пробирку пробкой, начинают вращать ее между ладонями, чтобы кусочки мицелия и споры разошлись в питательной среде. Затем из пробирки выливают питательную среду в стерильную чашку Петри. Когда отдельные колонии гриба появятся в чашках Петри, их пересевуют в пробирки с питательной средой.

Для первоначальных пересевов грибов лучшей средой является стандартная желатиновая среда или суслый агар. Если колонии гриба очень маленькие, их стерильной иглой снимают и целиком переносят в пробирки с питательной средой. Если же колонии уже развиты, то снимают и переносят на питательную среду в пробирку часть колонии.

Иногда, несмотря на принятые предосторожности, в пробирках наблюдается рост двух или нескольких видов грибов. В таком случае для их разделения вторично прибегают к методу разливки или используют следующие методы выделения: питательную среду разливают в чашки Петри, дают ей застыть. Кусочки мицелия, взятые из чашки или пробирки, разбалтывают в пробирке со стерильной водой. На поверхность питательной среды наносят несколько капель стерильной воды, содержащей кусочки мицелия или споры. Через несколько дней начинают вести наблюдения за ростом гриба под микроскопом, просматривая чашки с нижней стороны при малом увеличении. При появлении чистых колоний их переносят на питательную среду в пробирки.

Для получения чистых отдельных колоний гриба иногда прибегают к другому методу: на твердую питательную среду (желательно желатиновую), разлитую в чашки Петри, наливают на 1—2 минуты стерильную воду, содержащую небольшое количество спор, после чего эту воду быстро сливают. Через 2—3 дня, просматривая чашки Петри с нижней стороны при малом увеличении, находят отдельно лежащие споры, обводят эти места тушью и по мере образования колоний пересекают их в пробирки с питательной средой.

Выделение грибов из плодов

Выделение грибов с поверхности плодов производят методом проращивания грибницы во влажной камере. Для этого исследуемый материал помещают в стерильную чашку Коха, на дно которой положена фильтровальная бумага, смоченная стерильной водой. Если гриб во влажной камере через несколько дней не даст плодоношений, то производят пересев мицелия на питательную среду.

При выделении грибов из внутренних частей плодов поступают следующим образом: плоды дезинфицируют 2—3 минуты в 96°-ном спирте, обсушивают стерильной фильтровальной бумагой, снимают стерильным скальпелем кожицу и разрезают плод на мелкие кусочки, которые раскладывают на питательную среду в чашки Петри на значительном расстоянии друг от друга.

Иногда плоды, предварительно продезинфицированные, разрезают стерильным скальпелем на две части и помещают в чашки Коха разрезанной поверхностью вверх, на которой и появляется мицелий гриба.

Выделение грибов из стеблей и подземных частей растений

При выделении грибов с поверхности стеблей или подземных частей растений (корней, корневищ и пр.) пользуются методом влажной камеры с последующим пересевом появившегося мице-

лия в пробирки с питательной средой. При загрязненной культуре прибегают к методу разлива.

При выделении грибов из внутренних частей стебли и особенно корни и корневища тщательно моют, последние помещают для этого не менее чем на $\frac{1}{2}$ часа под сильную струю воды, чтобы отмыть почву, просушивают фильтровальной бумагой, опускают на 2—3 секунды в 96°-ный спирт, после чего прожигают в пламени спиртовки. Затем делают поперечные или продольные срезы бритвой и в стерильных условиях раскладывают их на твердую питательную среду.

Выделение грибов из листьев

Выделение грибов с поверхности листьев производится так же, как и с поверхности плодов. При выделении грибов из внутренней части листьев поступают следующим образом: небольшую часть листа с признаками заболевания опускают в спирт на 2—3 секунды, промывают после этого несколько раз в стерильной воде и, положив на стерильное предметное стекло, расщепляют на мелкие кусочки, которые и закладывают на твердую питательную среду в чашки Петри. После появления роста гриба в чашках производят пересев в пробирки на питательную среду.

Микроскопические препараты

Микроскопические препараты готовят следующим образом.

Временные препараты. Пипеткой или концом стеклянной палочки наносят на чистое предметное стекло каплю дистиллированной или свежепрокипяченной воды. Скальпелем или препаровальной иглой соскабливают с поверхности исследуемого растительного материала часть пораженной ткани с мицелием или плодоношением гриба или же делают бритвой тонкий срез этой ткани. Соскоб или срез переносят в каплю воды на предметном стекле. После этого каплю осторожно покрывают покровным стеклом и препарат рассматривают под микроскопом. Каплю воды берут таких размеров, чтобы вода не выходила за края покровного стекла.

Постоянные препараты. Для получения постоянного препарата приготовленный микроскопический препарат заделывают в глицерин-желатин, который готовят следующим образом: 5 г желатина помещают в колбу, заливают 30 мл воды и оставляют набухать в течение нескольких часов. Затем, подогревая колбу с желатином, вливают 35 мл глицерина и добавляют фенол на кончике скальпеля. Для просветления смеси берут белок куриного яйца. Сначала белок разбавляют в небольшом ко-

личестве остуженной смеси, затем вливают в остальную теплую, но не горячую смесь и тщательно размешивают, чтобы получить однородную жидкость. Нагревают жидкость до кипения. Белок свертывается, увлекая всю муть, в результате жидкость получается прозрачной. Осадок отфильтровывают через вату с помощью воронки для горячего фильтрования и прозрачный глицерин-желатин разливают по пробиркам, которые закрывают резиновыми или корковыми пробками.

Заделка постоянного микроскопического препарата в глицерин-желатин производится следующим образом: соскоб или тонкий срез с исследуемого материала помещают в каплю расплавленного глицерин-желатина, нанесенного на нагретое предметное стекло. Каплю глицерин-желатина осторожно покрывают покровным стеклом.

Если нужно приготовить постоянный микроскопический препарат из временного препарата, то поступают следующим образом. После того как вода в препарате высохнет, кусочек твердого глицерин-желатина наносят к одному краю покровного стекла. Осторожно проводя предметное стекло над пламенем горелки, расплавляют глицерин-желатин, он всасывается под покровное стекло и застывает, когда прекратится прогревание стекла. Для лучшей сохранности постоянных препаратов их окантовывают по краям покровного стекла лаком. Для этой цели имеются специальные лаки, но можно применять обычный асфальтовый или мебельный лак.

Для постоянной надписи на микропрепарате можно пользоваться тушью для стекла, способ изготовления которой указан в I части, на стр. 53. Место с надписью нагревают над пламенем спиртовки до появления белого пара, чтобы тушь хорошо пристала к стеклу. Нагревать препарат надо очень осторожно, чтобы не расплавился глицерин-желатин, поэтому над пламенем надо держать только ту часть предметного стекла, где сделана надпись.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Владимирская Н. Н. Пленочный метод определения зараженности супесчаных почв возбудителем рака картофеля. Инструкция. Ленинградская научно-исследовательская станция по раку картофеля, Издательство МСХ СССР, М., 1952.

Воскресенский П. И. Основы техники лабораторных работ, Госхимиздат, М., 1956.

Наумов Н. А. Методы микологических и фитопатологических исследований, Сельхозгиз (Ленинградское отделение), М.-Л., 1937.

Наумов Н. А. Методы микроскопических исследований в фитопатологии, Гос. издательство сельскохозяйственной и колхозно-кооперативной литературы, М.-Л., 1932.

Наумова Н. А. Анализ семян на грибную и бактериальную инфекцию. Сельхозгиз, М.-Л., 1951.

Ромейс Б. Микроскопическая техника. Издательство иностранной литературы, М., 1954.

Самуцевич М. М. Техника фитопатологических исследований. Госиздательство сельскохозяйственной и колхозно-кооперативной литературы, М.-Л., 1931.

Шариков К. Е. Выявление картофельного рака микроанализом. (Методические указания). Минская научно-исследовательская станция по раку картофеля МСХ СССР. Минск, Издательство МСХ БССР. 1954.

Правила по карантину растительных грузов, прибывающих в СССР из иностранных государств. Главная госинспекция по карантину и защите растений, Издательство МСХ СССР, М., 1956.

Сборник статей — Вопросы микроскопии. Гос. научно-техническое издательство машиностроительной литературы, М.-Л., 1956.

Сборник методических и технических указаний по обследованию посадок картофеля на выявление очагов возбудителя картофельного рака и по применению и проверке эффективности химического метода борьбы с ним. Всесоюзная научно-исследовательская станция по раку картофеля, Издательство МСХ СССР, М., 1954.

Указания по обследованию посевов кукурузы на выявление сухой гнили (диплодиоза), бактериального увядания (вилта) и о мерах борьбы с ними. Главная Госинспекция по карантину и защите растений МСХ СССР. Издательство МСХ СССР, М., 1956.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА

Бактериологический анализ пораженных растительных тканей состоит практически из двух частей: первая — выделение бактерий, возбудителей болезней, из пораженной ткани больного растения в чистую культуру; вторая — определение морфологических и культуральных или физиологических свойств выделенных бактерий. Если свойства выделенного возбудителя болезни совпадают со свойствами, описанными для него в определителях, то на этом определение болезни может считаться законченным для бактериозов, хорошо изученных и описанных в литературе. В случаях, когда надо определить болезни, мало или совершенно ранее не изученные, следует прежде всего установить патогенность бактерий для тех растений, из которых они выделены, т. е. доказать, что выделенные микроорганизмы являются возбудителями наблюдаемого заболевания, после чего изучают свойства возбудителя.

Патогенность и вирулентность фитопатогенных бактерий устанавливаются опытами искусственного заражения. Опыты эти можно проводить в лаборатории или теплице, но не в открытом грунте, чтобы избежать распространения инфекции. Проверка патогенности бывает необходима иногда и при определении хорошо изученных бактериозов, например, в тех случаях, когда свойства изолированных бактерий несколько отличаются от описанных в литературе или когда хорошо изученные заболевания за рубежом впервые обнаружены на территории СССР.

Экспертиза семян и растений кукурузы

Анализ семян кукурузы на выявление возбудителя бактериального увядания (вилта) — *Bacterium stewartii* E. F. Smith, 1914

Щуплые и сморщенные зерна кукурузы, пораженные возбудителем увядания, как правило, бывают расположены в нижней части початка. Их легко отличить от здоровых семян и отобрать для проведения бактериологического анализа (рис. 1).

Если семена кукурузы поступают без початков (россыпью), то отбор следует производить, как и при фитопатологической эк-

спертизе семян, при помощи бинокулярной лобной лупы. Для анализа берут семена шуплые, сморщенные, но с ненарушенной кожицей. Отобранные семена кукурузы подвергают длительно-му бактериологическому анализу, т. е. высевают на мясо-пептон-ный агар (МПА) в чашках Петри способом, описанным в разделе «Техника бактериологического лабораторного анализа» (стр. 118).

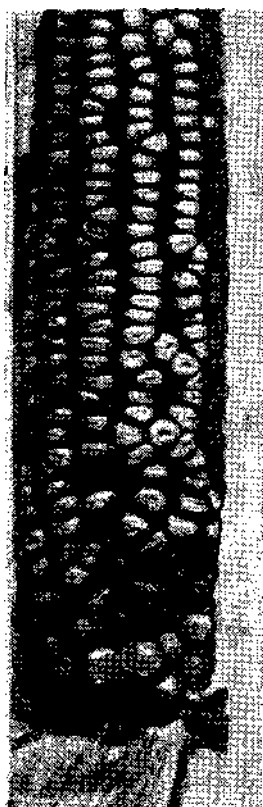


Рис. 1. Початок кукурузы. В нижней части — шуплые и сморщенные зерна, пораженные вилтом.

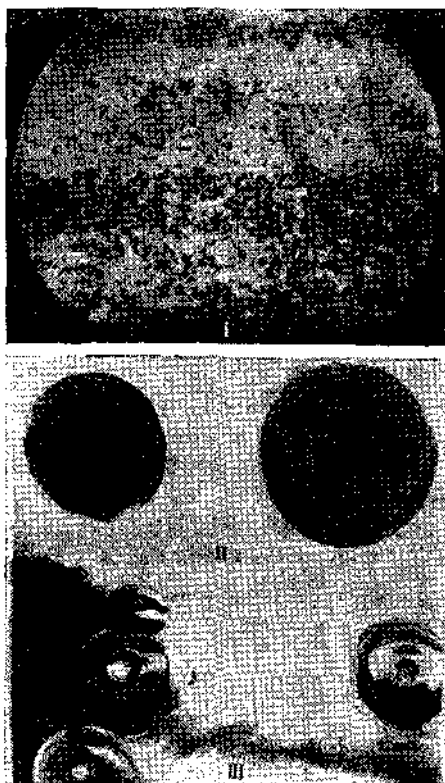


Рис. 2.
I. Палочки *Bacterium stewartii*; вид под микроскопом; II. Обычный вид колоний *Bacterium stewartii* на поверхности агара; III. Колония с кратерообразными углублениями по Смитту.

После посева на МПА в термостате при 28°C выросшие на поверхности агара колонии рассматривают под лупой или лучше под микроскопом при малом увеличении. Если через 48 часов на МПА вырастают сначала палевые, а затем желтеющие колонии с ровным краем, иногда с кратерообразным углублением в центре (рис. 2), то из них производят выделение из одной колонии на

косой агар нескольких одинаковых штаммов бактерий, морфологические и культуральные свойства которых определяются методом, также описанным в разделе «Техника бактериологического анализа». Если свойства выделенных штаммов совпадают с описанными ниже, определение возбудителя бактериального увядания кукурузы практически может считаться законченным.

Морфологические и культуральные свойства Bacterium stewarti

Бактерии имеют вид неподвижных палочек величиной 0,5—0,7×1,0—2,0 микрона, образуют короткие цепочки и капсулы, грамтрицательны, аэробы. Колонии на агаре медленнорастущие, светло-желтые, мелкие, круглые, гладкие с ровным краем, иногда колонии имеют углубление в центре. На МПА имеют слабый рост, беловатое колечко и желтый осадок. Желатин не разжижают, молоко не свертывают. Лакмусовое молоко розовеет. Нитраты не редуцируют, крахмал не гидролизуют, сероводорода и индола не образуют. Образуют кислоту, но не образуют газа на декстрозе, сахарозе, лактозе, а некоторые штаммы и на глицерине. Имеют хороший рост на среде Ушинского, слабый рост на среде Ферми, нет роста на среде Кона. Оптимальная температура роста 30°C, максимальная 39°C, бактерии погибают при 53°C.

Анализ живых растений кукурузы на выявление возбудителя бактериального увядания

Вилт кукурузы, или сосудистый бактериоз, характеризуется образованием желтой слизи в сосудистой системе больного ра-



Рис. 3. Листья кукурузы, пораженной бактериальным увяданием.

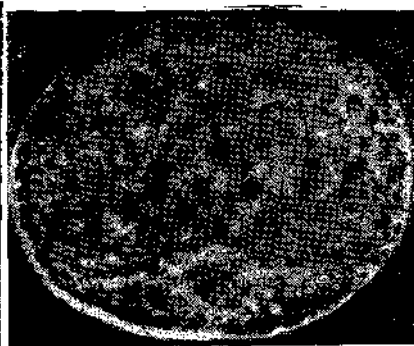


Рис. 4. Разрез стебля кукурузы. Стрелками указаны капли бактериальной слизи, выступающей из сосудов (по Эллиот).

стения, потемнением узлов, карликовостью растений и усыханием листьев. На листьях появляются бледно-зеленые, постепенно темнеющие продольные полосы (рис. 3), переходящие при сильном поражении растения на стебель.

Пораженное растение выбрасывает метелки преждевременно и они имеют белый цвет. Погибшее от болезни растение остается частично зеленым, имея вид пораженного морозом. Желтая слизь, содержащая массу бактерий (их можно видеть под микроскопом), выступает каплями на поперечном срезе стебля (рис. 4). Из всех частей пораженного вилтом растения, имеющих признаки заболевания, можно делать посев на МПА так же, как и из семян для выделения и определения возбудителя болезни.

Экспертиза плодов и посадочного материала цитрусовых культур

Анализ на выявление рака цитрусовых,
вызываемого *Xanthomonas citri* (Hasse) Dowson, 1939

Рак цитрусовых — весьма вредоносный бактериоз, вызывающий образование наростов на плодах, ветвях и листьях цитрусовых деревьев. Возбудитель болезни, проникая через устьица и ранения, распространяется в межклетных пространствах, вызывая гипертрофию тканей.

В результате деятельности бактерий на пораженном растении образуются весьма характерные наросты: небольшие, круглые с приподнятыми краями и кратерообразными углублениями в центре. На листьях вокруг наростов рака появляются светлые ореолы, и образующиеся таким образом пятна достигают 3—4 мм в диаметре. На плодах и ветках наросты не имеют светлых ореолов (рис. 5). На ветках восприимчивых сортов встречаются раковые образования до 15 см в диаметре.



Рис. 5. Плод и листья, пораженные раком цитрусовых *Xanthomonas citri*.

При столь характерном проявлении болезни ее во многих случаях можно диагностировать по внешнему виду. Однако иногда проявление рака citrusовых маскируется другими микроорганизмами, которые поселяются на ткани наростов. Бывает, что наросты, сливаясь и разрастаясь (особенно на плодах), напоминают болезнь citrusовых (цитрус-скэб), вызываемую грибным паразитом *Sporotrichum citri*.

Есть и другие грибные заболевания, сходные по признакам повреждений с раком citrusовых: *Phomopsis citri*, *Phoma citricarpa*, *Colletotrichum gleosporioides*.

Во всех сомнительных случаях необходимо для точной диагностики рака citrusовых проводить длительный бактериологический анализ с выделением возбудителя и определением его свойств.

Морфологические и культуральные свойства Xanthomonas citri

Бактерии представляют собой палочки величиной $0,5-0,75 \times 1,5-2,0$ микрона. Они образуют цепочки и капсулы. Бактерии неспороносные, подвижные, имеют по одному полярному жгутику, граммотрицательны, аэробы. Колонии на МПА соломенно-желтые, блестящие, с цельными краями, вязкие, в отраженном свете матово-желтые, переходящие в голубоватые. Желатин разжижают, на МПБ образуют желтое кольцо; на картофеле — желтый блестящий налет, вначале окруженный узкой белой зоной, которая довольно быстро исчезает. Молоко свертывают, нитраты не редуцируют. Образуют аммиак, индол не образуют, крахмал гидролизуют. На средах Гиса с углеводами (декстроза, сахароза, лактоза, глицерин) ни кислоты, ни газа не образуют. Дают слабый рост на среде Ушинского. Оптимальная температура роста бактерий от 20° до 30°C , максимальная 35°C , бактерии погибают при $49-52^{\circ}\text{C}$.

Анализ на выявление ожога citrusовых, вызываемого *Pseudomonas citripustulae* (C. O. Smith) Stapp, 1923

Этот возбудитель также поражает плоды, ветви и листья citrusовых, но не вызывает разрастания тканей. На поражаемых ожогом плодах образуются вдавленные темно-коричневые пятна, иногда даже черного цвета, отчего эта болезнь была описана в литературе под названием «черная ямка». Совершенно сходные пятна на кожице плодов citrusовых могут образоваться при хранении или транспортировке. Сильные колебания температуры вызывают нарушение железок, и содержащиеся в них эфирные масла, ожигая кожицу плода, образуют такие же вдавленные пятна, но не инфекционного происхождения. Поэтому для выде-

ления возбудителя ожога цитрусовых *Pseudomonas citriputeale* необходимо из ткани вдавленных пятен на плодах цитрусовых делать посевы на МПА. Рост колоний *Pseudomonas citriputeale* настолько характерен, что можно по их виду определить заболевание. Колонии — флуоресцирующие с волнистым краем (рис. 6).

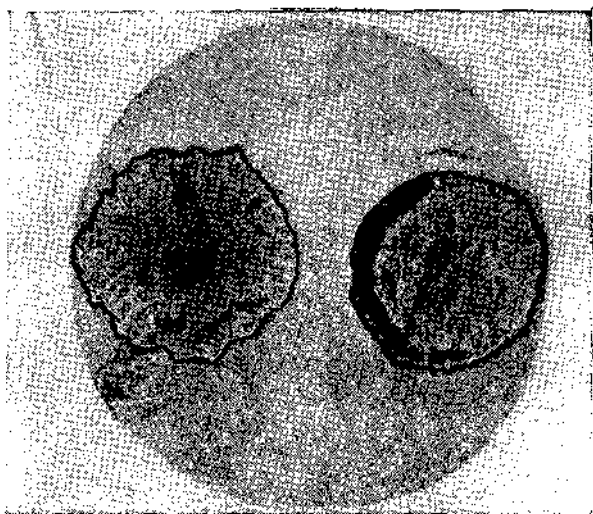


Рис. 6. Прозрачные колонии *Pseudomonas citriputeale* с волнистым краем.

Из таких флуоресцирующих колоний легко выделить культуры бактерий на косой агар. Если нет времени или возможности определять свойства выделенных штаммов, то можно уточнить определение заболевания более быстрым способом — искусственным заражением плодов лимона, т. е. проверкой патогенности выделенных бактерий. Для этого берут здоровые лимоны с кожей без пятен и повреждений, обтирают их спиртом. Наметив тушью место для заражения и написав на них номер штамма, которым заражают, делают несколько уколов иглой, смоченной разводкой бактерий. На место укола накладывают ватку, смоченную взвесью бактерий в стерильной воде. Для определения одного образца необходимо два лимона, так как один ставится как контроль: с уколами, но без инфекции. Контроль должен быть помещен в отдельную стеклянную посуду (большую чашку Коха или кристаллизатор с крышкой, или стеклянную банку с крышкой). Если проводится несколько определений одновременно, контроль можно ставить общий. Как правило, для всех опытов искусственного заражения контроль обрабатывается прежде, чем делается заражение бактериями. Уколы лимонов и контрольных и опытных надо делать тонкой энтомологической иглой и неглу-

боко на кожице, не проникая до мякоти плода, так как кислота, выступившая из мякоти плода, может препятствовать развитию внесенных при заражении бактерий.

Если испытываемые штаммы бактерий патогенны для цитрусовых и являются возбудителями ожога *Ps. citriputeale*, то на зараженных лимонах через 4—5 дней при температуре 14°C должны образоваться темные вдавленные пятна (рис. 7).

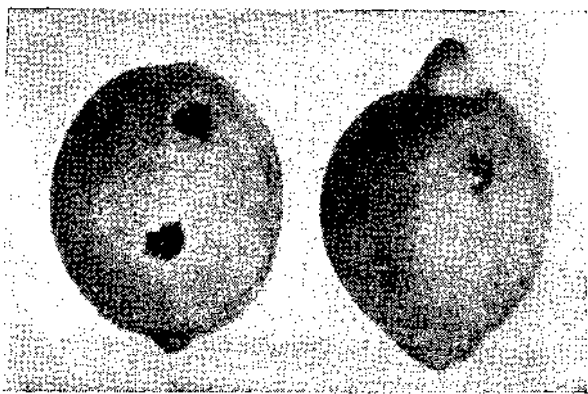


Рис. 7. Искусственное заражение лимонов различными штаммами *Pseudomonas citriputeale*: с л е в а — культуры выделены из веток лимона; с п р а в а — контроль.

При экспертизе посадочного материала или живых растений цитрусовых следует знать, что ожог от *Pseudomonas citriputeale* на коре ветвей образует довольно большие красно-коричневые пятна у черенков листьев или вокруг шипов. Эти пятна имеют вид как бы лакированных. Они резко отграничены от здоровой ткани. Пораженные листья чернеют начиная с черенков и опадают. Если необходимо точно выявить возбудителя, то проводят бактериологический анализ. Для посева на МПА следует материал срезать с пораженной коры ветвей на границе со здоровой тканью. Вид колоний на МПА должен быть, как и при выделении *Ps. citriputeale* из плодов. Выделив штаммы из одной колонии на кривой агар, определяют их свойства.

Морфологические и культуральные свойства Pseudomonas citriputeale

Бактерии имеют вид подвижных с одним полярным жгутиком палочек размером $0,6 \times 1,2$ — $1,8$ микрона. Встречаются одиночные бактерии, парами или короткими цепочками. Спор и капсул не образуют. Грамотрицательны, аэробы. Колонии на агаре

круглые с волнистыми краями и волнистой поверхностью, прозрачные, бесцветные, голубоватые в проходящем свете. При большом количестве бактерий колонии бывают с почти ровным краем, но с волнистой поверхностью. На МПБ образуют муть со слабой флуоресценцией. Молоко сначала слегка свертывают, затем пептонизируют. Лакмусовое молоко синее. Желатин разжижают. На средах Гиса образуют кислоту без выделения газа на декстрозе, сахарозе, глицерине, но не на лактозе. Нитраты не редуцируют. Имеют слабую диастатическую активность. Образуют аммиак; сероводорода и индола не образуют, хорошо растут на средах Ушинского и Ферми, слабо на среде Кона. Оптимальная температура роста бактерий 28°C, максимальная 35°C, погибают при 61°C. *Pseudomonas citriputeale* принадлежит к флуоресцирующей группе фитопатогенных бактерий и является полиморфной формой. У разных штаммов имеются различные и мелкие отклонения в биохимических свойствах. Некоторые штаммы свертывают молоко, а некоторые пептонизируют его без предварительного свертывания. Сильно варьируют *Ps. citriputeale* в образовании кислот на средах Гиса. По данным отечественной литературы, некоторые штаммы образуют кислоту только на глюкозе, другие только на сахарозе, но никогда не наблюдается образования кислот на лактозе.

Все среды, содержащие лактозу (лакмусовое молоко, среда Гиса с лактозой), всегда делаются щелочными. Подщелачивание среды происходит от усвоения бактериями углеродной цепи аминокислот, в результате чего выделяются аммиак и амины.

Экспертиза посадочного материала и укорененных растений маслин на выявление возбудителя туберкулеза —

Pseudomonas savastanoi (E. F. Smith) Stevens, 1913

Наросты туберкулеза маслин образуются главным образом на ветвях, но бывают и на листьях и на корнях. Название болезни произошло от латинского слова бугорок *tuberculum*.

Заболевание начинает проявляться с образования на маслинах небольших бугорков, которые, разрастаясь, могут достигать величины грецкого ореха (рис. 8). Наросты туберкулеза имеют шероховатую поверхность и округлую форму, они похожи по внешнему виду на наросты корневого рака *Bacterium tumefaciens* E. F. Smith., C. O. Townsend, 1907, особенно в тех случаях, когда расположены на корнях или около корневой шейки. Однако внутреннее строение этих образований совершенно различно.

Наросты корневого рака плодовых имеют плотную структуру внутренних тканей, а наросты туберкулеза маслин имеют внутри лабиринтообразные полости, наполненные слизью, содержащей бактерии — возбудители болезни. Полости эти хорошо видны на разрезе нароста. Бактерии-паразиты способны из поло-



Рис. 8. Маслина, зараженная туберкулезом *Pseudomonas savastanoi*

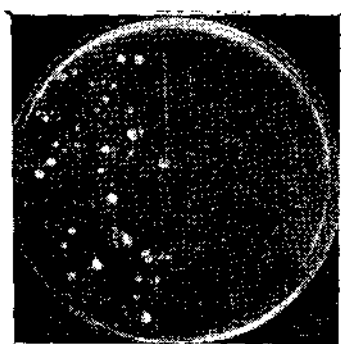


Рис. 9. Колонии *Pseudomonas savastanoi* в чашке Петри на МПА на темном фоне.

стей внутри первичного нароста проникать по древесине через спиральные сосуды в еще не зараженные части дерева и образовывать так называемые вторичные наросты, т. е. наросты, возникающие на пути продвижения инфекции внутри зараженного растения.

Для диагностики *Ps. savastanoi* следует выделять культуру бактерий и определять их свойства. Посев на МПА лучше всего делать из внутренних тканей наростов, предварительно дезинфицируя наросты с поверхности, смачивая спиртом и обжигая в пламени горелки. Поверхностные слои нароста после обжигания срезают стерильным скальпелем, а для посева на МПА вырезают небольшой кусочек внутренней, более мягкой ткани.

Чашки Петри с МПА и выросшими колониями ставят на черную бумагу. Колонии *Ps. savastanoi* белого цвета, поэтому хорошо видны на темном фоне (рис. 9).

Морфологические и культуральные свойства Pseudomonas savastanoi

Бактерии представляют собой палочки размером $0,4-0,8 \times 1,2-3$ микрона; располагаются парами или короткими цепочками; подвижные, имеют от 1 до 4 полярных жгутиков; грамотрицательны, аэробы. Колонии на МПА белые, гладкие, блестящие с ровными краями; на МПЖ колонии морщинистые с волнистыми краями (рис. 10).

МПБ на второй день мутнеет и образуется белая не сплошная пленочка. На картофеле бактерии образуют коричневый пигмент; желатин не разжижают; молоко не свертывают, но пептонизируют; нитраты

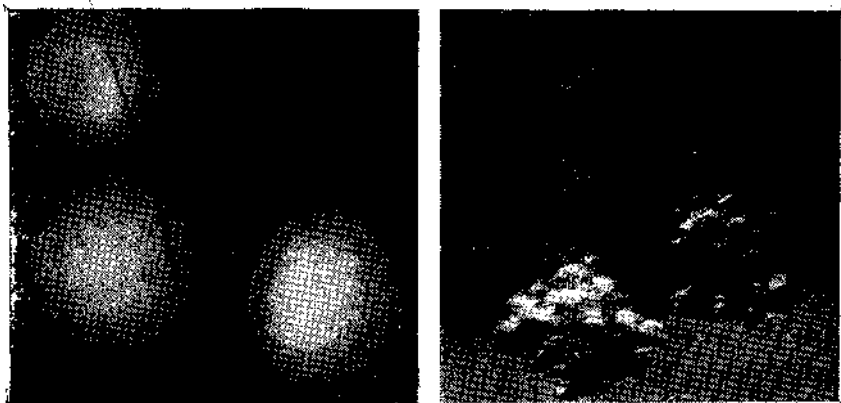


Рис.10. Колонии *Pseudomonas savastanoi*: слева—на МПА, справа—на МПЖ (увеличено в 10 раз).

не редуцируют; крахмал гидролизуют. На средах Гиса образуют кислоту, но не образуют газа с сахарозой и декстрозой. Индол образуют слабо; сероводорода не образуют; растут на средах Ушинского, Кона и Ферми. Оптимальная температура роста бактерий 23—25°C, максимальная 35°C, бактерии погибают при 43—45°C.

При определении свойств *Ps. savastanoi* следует, кроме обычных посевов, во-первых, делать рассев выделенных бактерий на поверхность МПЖ в чашки Петри, так как они на МПЖ образуют характерного вида колонии; во-вторых, посев на картофель, чтобы проверить образование коричневого пигмента.

Экспертиза посадочного материала плодовых (семечковых и косточковых) на выявление ожога, вызываемого *Erwinia amylovora* (Burrill) Com. S.A.B., 1932

Ожог плодовых деревьев проявляется в явной и активной форме весной во время цветения. Цветы, соцветия, молодые побеги и листья сначала делаются как бы налитыми водой, а потом чернеют и отмирают, но не опадают, а остаются на деревьях. Пораженные ожогом деревья имеют вид опаленных пожаром. Весной из пораженных частей растения обильно выступает эксудат в виде капель жидкости, содержащей массу бактерий. С наступлением летней, более теплой и сухой погоды выделение эксудата прекращается, но почерневшие от ожога цветы и листья остаются на деревьях в течение всей вегетации (рис. 11) и их можно видеть одновременно с уже образовавшимися плодами.

Незрелые плоды яблони и груш также поражаются ожогом: они чернеют и тоже, не опадая, остаются на ветвях. Зрелые пло-



Ис. 11. Ветка яблони, пораженная ожогом плодовых *Erwinia amylovora*.

ды уже не заражаются бактериями даже при искусственном заражении. Очень сходные проявления заболеваний плодовых происходит при поражении их бактериями из группы флуоресцирующих *Pseudomonas syringae*, *Ps. cerasi*, но при этом никогда не наблюдается выделения экссудата весной. В остальное время года бывает трудно различить эти два бактериоза, поэтому для выявления карантинного ожога плодовых от *Erwinia amylovora* необходимо проводить выделение возбудителя и определение его свойств.

Возбудитель болезни *Erwinia amylovora* зимует в коре пораженных деревьев. Весной пораженные участки коры набухают и из них также выступают капли жидкого экссудата, содержащего

бактерии, которые можно видеть под микроскопом в висячей капле или в окрашенном мазке (приемы эти описаны в главе «Техника бактериологического лабораторного анализа»).

Пораженные участки коры заметно отличаются от здоровой ткани: кора подсыхает, морщится и опадает. Материал для посева на МПА при выделении возбудителя болезни следует брать на границе между здоровой и пораженной тканью. Колонии *Erwinia amylovora* мелкие, белого цвета, поэтому их хорошо видно на темном фоне. Рост колоний на МПА в чашках Петри удобно рассматривать на черной бумаге.

Морфологические и культуральные свойства Erwinia amylovora

Бактерии — подвижные палочки с перитрихальными жгутиками размером $0,7-1,0 \times 0,9-1,8$ микрона. Располагаются одиночно, парами или короткими цепочками. Спор и капсул не обра-

зуют. Грамотрицательные. Аэробы или факультативные анаэробы. Колонии на МПА мелкие, белые, опалесцирующие, круглые, блестящие, маслянистые, с ровными краями. На МПБ образуют сильное помутнение с легкой пленочкой. Желатин разжижают, молоко свертывают и пептонизируют. Нитраты не редуцируют. Индола, аммиака и сероводорода не образуют. Крахмал не гидролизуют. На средах Гиса с декстрозой, сахарозой, лактозой и глицерином образуют кислоту, но без выделения газа. Нет роста на среде Кона, некоторые штаммы способны слабо расти на среде Ушинского. Оптимальная температура 30°C, минимальная около 3°C, погибают при 45—50°C.

Биохимические свойства *Erwinia amylovora* весьма постоянны, более изменчива их вирулентность.

Экспертиза плодов и растений томатов на выявление возбудителя бактериального рака — *Corynebacterium michiganense* (E. F. Smith) Jencen., 1934

Плоды томатов поражаются бактериальным раком как с поверхности, так и изнутри. Бактерии — возбудители болезни, попадая на поверхность плодов, образуют мелкие, круглые, темные пятна, окруженные светлым ореолом («птичий глаз»), рис. 12, I. Пятна настолько характерны, что определение болезни

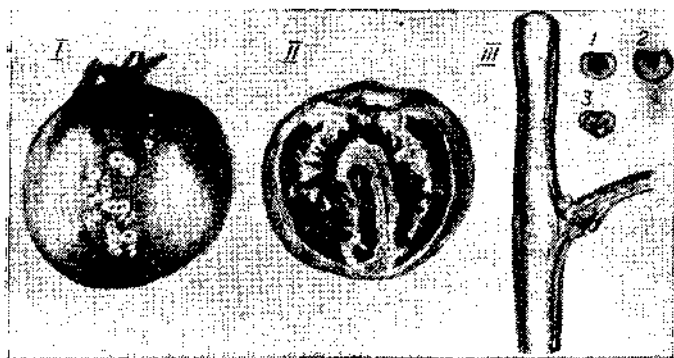


Рис 12. Томат, пораженный бактериальным раком:

I — плод томата с пятнами «птичий глаз»; II — потемневшая сосудистая система плода наполнена бактериями—возбудителями болезни; III—стебель и поперечные срезы черешков: 1—здоровый, 2—слабопораженный, 3—сильнопораженный (видны полости, наполненные бактериями).

возможно по внешнему виду. Внутреннее заражение плодов возникает в тех случаях, когда бактерии-паразиты проникают по сосудистой системе больного растения во внутренние ткани плодов. При сильном внутреннем поражении плоды деформируются и опадают незрелыми, но пятна «птичий глаз» на них не образу-

ются. На разрезе плодов с внутренней инфекцией можно видеть пожелтевшие тяжи пораженных бактериями сосудов (рис. 12, II). Потемнение внутренних тканей плодов томатов не служит диагностическим признаком бактериального рака, потому что такое явление может возникнуть и от многих других причин. Определение возбудителя *Corynebacterium michiganense* во внутренних тканях плодов томатов проводится окраской по Граму (метод изложен в описании морфологических и культуральных свойств).

Бактериальный рак томатов (БРТ) — сосудистый бактериоз. Проникая в сосудистую систему пораженного растения, бактерии-возбудители болезни, размножаясь, вызывают закупорку сосудов, что ведет к увяданию и гибели всего растения. БРТ — заболевание, обычно медленно протекающее, увядает пораженное растение не сразу: вначале теряют тургор отдельные ветки, сосуды которых наполнены бактериями — так называемое одностроннее увядание. На стеблях больных растений образуются продольные трещины или язвы. На поперечных срезах стеблей видно, частично или полностью, потемневшее кольцо пораженных сосудов (рис. 12, III-3).

Потемнение сосудов в стеблях растений томатов могут вызвать и другие микроорганизмы, поражающие томаты: грибного и бактериального происхождения. Из этого видно, что для определения БРТ следует проводить бактериологический анализ с выделением возбудителя и проверкой его свойств.

Морфологические и культуральные свойства Corynebacterium michiganense

Бактерии представляют собой неподвижные короткие палочки величиной $0,35-0,4 \times 0,8-1,0$ микрон, спор не образуют; грамположительные, аэробы. На МПА колонии медленно растущие, мелкие, круглые, выпуклые, с ровным краем, вначале белые, затем желтеющие. На картофеле рост хороший, колонии ярко-желтого цвета. На МПБ бактерии образуют медленное помутнение, через 3—4 дня появляется слабый слизистый осадок; образуют аммиак; серовода и индола не образуют. Желатин бактерии разжижают медленно, молоко медленно свертывают, некоторые штаммы молоко пептонизируют. Лакмусовое молоко обесцвечивают (восстанавливают лакмус), крахмал слабо гидролизуют, некоторые штаммы не имеют диастатической активности. Нитраты не редуцируют. На средах Гиса газа не образуют, кислоты образуют на декстрозе и сахарозе, слабее на лактозе и глицерине, одни штаммы образуют кислоты на одних углеводах, другие на других. Оптимальная температура роста $25-27^{\circ}\text{C}$, максимальная 33°C , погибают бактерии при 53°C . Бактерии очень устойчивы к высушиванию. Практически выделение культуры

Corynebacterium michiganense затрудняется тем, что бактерии очень медленно растут на МПА, особенно при первичных посевах из тканей растения. В этих случаях колонии вырастают на 6—7 день после посева. Вообще же для диагностики всякого бактериального заболевания желательно иметь методы более быстрые, чем длительный бактериологический анализ, продолжающийся от 3 до 5 недель.

Для быстрого определения БРТ в Центральной лаборатории по карантину растений МСХ СССР профессор В. П. Израильский и З. С. Артемьева разработали очень точный и скорый метод — метод окраски по Граму бактерий в тканях растений. Он был проверен при обследованиях посевов томатов для определения ареала распространения болезни и при контрольных обследованиях по оценке эффективности проводимых по борьбе с БРТ мероприятий и показал хорошие результаты.

Приготовление препаратов из ткани растения томата для окраски по Граму

Если получены или отобраны для лабораторного анализа свежие растения, то из поперечных или продольных срезов пораженных стеблей следует сделать на чистом предметном стекле отпечатки этих срезов. Если материал поступил на анализ уже подсушенным, то, сделав срезы стеблей, где видна пораженная ткань, делают соскоб этой ткани в каплю воды на предметном стекле и затем иглой распределяют растительный материал, смоченный водой на стекле равномерно. Более крупные и грубые кусочки ткани удаляют пинцетом.

Препараты, приготовленные указанным способом, подсушивают, а затем фиксируют, проводя их над пламенем горелки 3—5 раз. Окрашивают их по Граму так же, как препараты, изготовленные из чистых культур любых бактерий, свойства которых изучаются. Наиболее удобной для определения бактериального рака мы считаем окраску по Граму в модификации Саватеева.

Окраска по Граму готовых препаратов

На препарат наливают раствор генциан- или кристалл-виолета и выдерживают 1—1,5 минуты, затем краску сливают и на препарат наливают раствор Люголя, в котором препарат выдерживают тоже 1—1,5 минуты, после чего его отмывают спиртом (с йодом по Саватееву). Отмытый спиртом препарат дополнительно окрашивают раствором фуксина и сразу, не выдерживая в краске, хорошо промывают водой. Окраску генциан-виолетом можно производить при помощи бумажек, окрашенных раствором этой краски. Окрашенные по Граму препараты рассматри-

вают при большом увеличении с иммерсией. В одном препарате просматривают от 20 до 40 полей зрения.

Раньше препарат после окраски генциан-виолетом и обработки раствором Люголя отмывали спиртом, но теперь в спирт добавляют йод, который окрашивает бактериальную клетку в постоянный, невымывающийся темно-лиловый цвет, если бактерия грамположительна.

Окраска бактерий по Граму основана на способности протоплазмы некоторых видов грамположительных бактерий образовывать с генциан-виолетом и йодом комплексное соединение темно-фиолетового цвета, неразрушающееся при обработке спиртом. Однако при слишком длительной обработке спиртом комплекс этот может быть разрушен и бактериальные клетки обесцвечены. Наличие в спирте йода, которым промывают препарат (по способу Саватеева), предохраняет это комплексное красящее вещество от разрушения и этим облегчает процесс отмычки спиртом окрашенного генциан-виолетом препарата.

Разработанный в Центральной лаборатории по карантину растений метод определения БРТ окраской бактерий в тканях растений по Граму основан на том, что других грамположительных фитопатологических бактерий во внутренних тканях томов в сосудистой системе не встречается. Загнившие растения анализировать нельзя, так как среди гнилостных бактерий встречаются грамположительные. Этот метод применим также и для диагностики других грамположительных возбудителей бактериальных болезней растений: *Corynebacterium insidiosum* — возбудитель увядания и корневой гнили люцерны; *Corynebacterium flaccumfaciens* — возбудитель увядания фасоли; *Corynebacterium sepedonicum* — возбудитель кольцевой гнили картофеля.

Техника бактериологического лабораторного анализа

Оборудование

Для проведения бактериологического анализа необходимо иметь оптические приборы, аппаратуру, оборудование, мелкие инструменты и лабораторную посуду, рассмотренные в главе «Техника фитопатологического лабораторного анализа». Поэтому здесь даются только некоторые дополнения, специфичные для проведения бактериологического анализа.

Микроскоп. При работе с биологическим микроскопом марки МБИ-1 для изучения и измерения бактерий, кроме малых увеличений, чаще всего приходится прибегать к большим увеличениям с объективом 90 и к иммерсионной системе. Определение подвижности бактерий в висячей капле проводят с объективом 40. Для этого употребляют специальные предметные стекла с углублениями.

Каплю с культурой бактерий в жидкой среде наносят на покровное стекло и затем, перевернув его так, чтобы капля оказалась в висющем положении, опускают на предметное стекло, следя за тем, чтобы капля свободно свисала над углублением. Рассматривая каплю под микроскопом, сначала находят край капли, а затем уже бактерии. Определение подвижности бактерий требует некоторого навыка, надо хорошо отличать самопроизвольное движение бактерий от броуновского, несущего беспорядочный пассивный характер. Подвижные бактерии оживленно движутся в поле зрения, изменяя направление, что хорошо видно, когда некоторые бактериальные клетки движутся от края капли. Если возникает сомнение в природе движения, то к культуре на МПБ прибавляют 5% карболовой кислоты или 0,1% сулемы. Если и после этого движение сохраняет прежний характер — значит оно броуновское.

С иммерсией просматривают сухие препараты с бактериями, окрашенными по Граму или другими способами, а также препараты, приготовленные из ткани растений томатов для определения их зараженности бактериальным раком. На такие препараты, находящиеся на предметном стекле, наносят каплю иммерсионного масла и рассматривают их при большом увеличении с объективом 90 и окуляром 15х, погрузив объектив в каплю масла. При такой системе препарат рассматривают без покровного стекла, поэтому делать наводку следует очень осторожно, чтобы не коснуться объективом предметного стекла. Измерения величины бактериальных клеток делают также с иммерсией. Определение цены деления окулярной линейки делают специально для иммерсионной системы. Каплю иммерсионного масла наносят на объективмикрометр и, опустив в нее объектив 90, делают совмещение окулярной и объективной линеек так же, как при малых увеличениях, и определяют величину деления окулярной линейки для данного увеличения, пользуясь такими же расчетами, как указано на стр. 85. После работы с иммерсионным маслом объектив микроскопа следует протереть тряпочкой, смоченной химически чистым бензином.

Биокулярный стереоскопический микроскоп МБС-1 используется для просмотра более крупных объектов, чем бактериальные клетки, например, для просмотра колоний бактерий, вырастающих на МПА в чашках Петри. Такую чашку с агаром ставят крышкой вниз на столик микроскопа и рассматривают выросшие на МПА колонии в проходящем и отраженном свете. Цвет колоний и характер их роста являются важными диагностическими признаками.

Выделение чистой культуры бактерий из одной колонии на косой агар тоже можно делать при помощи этого бинокуляра. Для данной операции чашку Петри открывают и ставят без крышки на столик микроскопа. Платиновую иглу, трижды прокаленную в пламени горелки, вводят между объективом и по-

верхностью агара и притрагиваются ею к намеченной для выделения колонии, контролируя эту операцию глазом через окуляр и объектив микроскопа. Взятый материал на кончике иглы вводят в пробирку с косым агаром и делают посев штрихом или волнистой линией.

Аппаратура для стерилизации посуды и сред, для выращивания бактерий используется такая же, как описана для фитопатологического анализа, только режим стерилизации необходим более строгий, такой же, как в медицинской бактериологии.

Стерилизация паром при работе по бактериологии применяется для питательных сред и воды. В зависимости от стойкости среды применяют стерилизацию текучим паром или перегретым паром под давлением в автоклаве. Каждому показанию манометра, обозначающему величину давления пара, соответствует определенная температура:

Давление (атм.)	Температура (градусы)
0,5	112,0
1,0	121,4
1,5	128,8

Перечень стеклянной и фарфоровой посуды, указанный для фитопатологического анализа, следует дополнить фарфоровыми ступками, пипетками Пастера и шпателями Дрегалевского.

Подготовка лабораторной посуды

Лабораторную посуду для выращивания бактерий и приготовления сред не моют хромовой смесью. Ее обезжиривают, тщательно отмывая мылом, содой, едким натрием или соляной кислотой. Насыщенным раствором двуххромовокислого калия в крепкой серной кислоте обрабатывают только предметные стекла, которые после этого отмывают водой, а перед употреблением — спиртом.

Посуда, использованная для выращивания бактерий, перед мытьем обеззараживается кипячением с содой в течение часа или стерилизацией в автоклаве в течение часа текучим паром или 30 минут под давлением в 1 атмосфере.

Способы стерилизации в основном такие же, как и для работы по фитопатологии, их следует дополнить лишь характеристикой некоторых приемов, используемых в бактериологии.

Фарфоровые ступки с пестиками, требующиеся для растирания растительного материала перед посевом на МПА, стерилизуются смачиванием чистым 96%-ным спиртом: 1—2 мл спирта зажигают в ступке и горящим пламенем хорошо обжигают пестик и края ступки. Употреблять для этого денатурированный спирт не следует, потому что после выгорания денатурата в ступке могут остаться ядовитые вещества, способные задерживать

или совсем останавливать рост бактерий. Стеклянные шпатели Дрегалевского перед употреблением прокаливают в пламени горелки, а для охлаждения помещают их прокаленными согнутыми концами в стерильную чашку Петри, слегка приподняв с одной стороны крышку.

Мелкие металлические инструменты: ножницы, пинцеты, ланцеты — стерилизуют, опуская только в чистый спирт, но не в денатурат и обжигая в пламени горелки.

Приготовление питательных сред для выращивания бактерий

Материалы (агар-агар, желатин и др.), из которых готовятся естественные и искусственные среды для грибов, в равной степени применяются и при изготовлении сред для выращивания бактерий.

Среды для выращивания бактерий и рецепты приготовления их имеют свою специфику.

Основным отличием сред для бактерий от сред для грибов является их реакция. Среды для грибов должны иметь кислую реакцию, а среды для бактерий — нейтральную или слегка щелочную с рН 7,0—7,5. Некоторые среды используются как для грибов, так и для бактерий, например картофельно-глюкозный агар. Для выращивания на нем бактерий этот агар должен иметь рН 7,0—7,2, стерилизовать его надо текучим паром без давления три дня подряд или под давлением в 1 атмосферу 10 минут. Режим стерилизации сред для бактериологических работ должен быть строже, чем для фитопатологических.

При изготовлении сред для выращивания бактерий рН устанавливают упрощенным калориметрическим способом с универсальным индикатором — бромтимолблеу по цветной шкале, прилагаемой к нему. Бромтимолблеу указывает изменения рН в пределах от 6,0 до 7,6, изменяя цвет от желтого до синего. Реакцию среды проверяют, наливая в фарфоровую палетку несколько капель среды и индикатора; получающийся цвет сравнивают с цветной шкалой. Желтая окраска указывает на кислую реакцию среды, следовательно, среду надо нейтрализовать, добавляя немного соды до получения нужного рН, каждый раз сравнивая цвет среды с индикатором в палетках. Зеленовато-голубой цвет индикатора указывает, что рН 7,0.

Питательные среды по своему составу разделяются на белковые, содержащие белки или пептоны животного и растительного происхождения, и на безбелковые, или синтетические, в которых белковый или пептонный азот заменен минеральным азотом.

Белковые питательные среды

Мясо-пептонный бульон (МПБ). Для приготовления мясо-пептонного бульона берут 500 г мяса без сухожилий, без жира и костей, пропущенного через мясорубку, кладут в эмалированную посуду, заливают одним литром водопроводной воды и оставляют на 12 часов в холодном месте или на 4—6 часов в летнее время при комнатной температуре. Затем кипятят в течение 30 минут. Свернувшиеся белки отфильтровывают через холстину и второй раз пропускают через складчатый фильтр из фильтровальной бумаги. Фильтрат выливают в мерный литровый цилиндр и добавляют до одного литра дистиллированной или хорошо прокипяченной воды.

На 1 литр полученного отвара прибавляют 10 г сухого пептона и 5 г чистой поваренной соли и подщелачивают содой до pH 7—7,2, затем осветляют МПБ белком так же, как МПА (см. ниже). После этого МПБ разливают по пробиркам или колбам и стерилизуют в автоклаве в течение 30 минут под давлением в одну атмосферу.

Мясо-пептонный агар (МПА). Для приготовления мясо-пептонного агара на один литр мясо-пептонного бульона берут 15 г агар-агара и кипятят смесь до расплавления агара.

Для осветления агара берут белок одного куриного яйца, тщательно отделенного от желтка, смешивают с двойным количеством воды и сбивают в пену. Полученную массу прибавляют к одному литру охлажденного до 50°C агара, хорошо размешивают и ставят в автоклав на 45 минут при давлении в пол-атмосферы. После этого агар фильтруют через вату, разливают по пробиркам или колбам и стерилизуют в течение 30 минут при давлении в 1 атмосферу. При возможности следует пользоваться сухим питательным агаром, выпускаемым Институтом эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалея Академии медицинских наук СССР.

Зеленый агар готовят путем прибавления к одному литру профильтрованного горячего МПА 1 мл краски малахитгрюн, после чего смесь тщательно перемешивают, разливают в колбы и стерилизуют так же, как и МПА. Раствор малахитгрюна для получения зеленого агара готовят следующим образом: 1,02 г малахитгрюна растирают в ступке, высыпают в колбочку, доливают 100 мл 96°-ного спирта и оставляют на сутки. По истечении суток раствор фильтруют. В склянке с притертой пробкой краска сохраняется длительный срок.

МПА с крахмалом. Для приготовления этой среды на 1 литр расплавленного горячего МПА добавляют 5 г растворимого крахмала, который предварительно размешивают в небольшом количестве холодной воды и выливают при помешивании в

агар; после этого крахмальный агар разливают по пробиркам или колбам и стерилизуют в течение 30 минут при давлении в 1 атмосферу. Фильтровать агар после прибавления крахмала не следует.

МПБ с селитрой готовится путем добавки 2 г химически чистой селитры на 1 литр МПБ. После растворения селитры смесь разливают по пробиркам и стерилизуют в течение 30 минут при давлении в 1 атмосферу.

Мясо-желатиновый желатин (МПЖ). Для приготовления МПЖ берут МПБ с pH 7,5 и кипятят. Затем опускают в него лучший по качеству желатин в количестве 16%, снимают с огня, помешивают до полного растворения и вновь доводят pH до 7,5. После этого в остывшую до 40—50° жидкость прибавляют белок куриного яйца на 1 литр приготовленной среды, затем нагревают текучим паром в автоклаве до тех пор, пока осадок свернувшегося белка не опустится на дно. После этого желатин фильтруют через горячую воронку, разливают в стерильные пробирки и стерилизуют в течение 10—15 минут при температуре 112°. Для приготовления МПЖ в зимнее время желатина идет около 10—11%.

Продолжительное нагревание желатина понижает температуру его застывания. Желатин в пробирках, зараженный бактериями, в термостат не ставят, так как при температуре 28—30° он расплавляется. Такие посевы выдерживают при комнатной температуре зимой и в относительно прохладном помещении летом (при температуре приблизительно 18—22°C).

Все питательные среды, которые стерилизуются в течение непродолжительного времени (10 минут при температуре 112°), разливают в стерильные пробирки, чтобы избежать излишней споровой и другой микрофлоры. Для этой цели сухие пробирки закрывают ватными пробками и стерилизуют отдельно в сушильном шкафу так же, как и чашки Петри, при температуре 170° в течение одного часа или автоклаве при 120° с последующим высушиванием их в сушильном шкафу.

Молоко простое обезжиренное (сепарированное) или снятое разливают в стерильные пробирки и стерилизуют в течение 10 минут при температуре 112°. После стерилизации молоко выдерживают трое суток в термостате при 28—30° для того, чтобы проросли споровые или другие устойчивые к нагреванию формы. Через три дня пробирки с молоком просматривают и те, в которых наблюдается прорастание, удаляют.

Лакмусовое молоко готовится добавлением к 100 мл обезжиренного молока 5 мл лакмусовой настойки, после чего его подвергают стерилизации так же, как и простое молоко.

Методика приготовления лакмуса заключается в следующем. 10 г сухого лакмуса мелко растирают в ступке,сыпают в колбочку и обливают десятикратным количеством 96°-ного спирта. Плотнo закрывают колбу пробкой, тщательно смешивают встряхиванием и ставят в термостат при 37° на трое суток. Спирт еже-

дневно сливается с осадка декантацией и к осадку с лакмусом ежедневно прибавляется такое же количество чистого спирта. На третьи сутки спирт сливают вместе с осадком на фильтр, лакмус вместе с фильтром высушивают в термостате, после высушивания лакмус вновь растирают, заливают десятикратным количеством дистиллированной воды и держат в течение трех суток при комнатной температуре, периодически встряхивая. По истечении трех суток лакмусовую настойку фильтруют, разливают в стерильные пробирки по 5 мл и стерилизуют в течение 10 минут под давлением 0,5 атмосферы.

Среды Гиса для определения сбраживания углеводов. Для получения сред Гиса необходимо прежде всего приготовить пептонную воду. Для этой цели на 1 литр дистиллированной воды прибавляют 10 г сухого пептона и 5 г поваренной соли. Доводя pH до 7,4—7,6, добавляют 1% соответствующего углевода и около 1,0—1,25% лакмусовой настойки до получения слабо-синего цвета. Лакмусовую настойку можно заменить индикатором бромкрезолпурпур, окрашивать также до слабо-синего цвета (изменение цвета от индикатора идет в пределах pH 5,2—6,8 от желтого до пурпурно-фиолетового). Индикатор поступает в продажу расфасованным в маленьких пробирках с навеской в 0,1 г. Содержание пробирки растворяют в 20 мл теплого спирта и прибавляют воды до 100 мл.

Приготовленные таким образом среды разливают в стерильные пробирки с поплавками для учета газообразования и стерилизуют в течение 10 минут при температуре 112°. После стерилизации пробирки со средами ставят на трое суток в термостат. По истечении этого срока просматривают каждую пробирку и уничтожают те пробирки, в которых изменилась окраска или произошло помутнение среды. Поплавки или обратные пробирочки можно изготовить из стеклянной трубочки 0,8—0,9 см в диаметре. Один конец такой пробирочки должен быть хорошо запаян, в противном случае газ, образующийся в поплавке, может выходить через отверстие и тогда нельзя будет учесть его образование.

При разливании сахаров в пробирки с поплавками последние всплывают, но после стерилизации в охлажденных пробирках поплавки должны быть полностью заполнены средой. Пробирку с имеющимся хотя бы очень маленьким пузырьком воздуха необходимо браковать, иначе могут получиться неправильные данные при чтке пестрого ряда (цветные среды с углеводами).

Безбелковые или синтетические питательные среды

Синтетические среды содержат минеральные соли и минеральный азот в виде селитры, солей аммония, аминокислот или

их солей. В качестве источников энергии в эти среды добавляют углеводы. Ниже мы указываем лишь те из синтетических сред, которые упоминаются во всех определителях фитопатогенных бактерий, чтобы дать представление об их составе. Состав этих сред несколько сложен и не всегда в лаборатории найдутся все компоненты для их приготовления. Практически при определении хорошо изученных возбудителей болезней выращивание определяемых бактерий на синтетических средах можно не производить. При определении и изучении новых видов фитопатогенных бактерий проверка их роста на трех ниженазванных синтетических средах обязательна.

Среда Кона: дистиллированной воды 1000 мл, виннокислого аммония 10 г, фосфорнокислого калия (одноосновная соль KHN_2PO_4) 5 г, сернокислого магния 5 г, фосфорнокислого кальция (трехосновная соль $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) 0,5 г.

Среда Ушинского: дистиллированной воды 1000 мл, глицерина 30—40 г, поваренной соли (химически чистой) 5—7 г, фосфорнокислого калия (двухосновная соль K_2HPO_4) 2,2—2,5 г, молочнокислого аммония 6—7 г, аспарагиновокислого натрия 3,4 г, хлористого кальция 0,1 г, сернокислого магния 0,2—0,4 г.

Среда Ферми: дистиллированной воды 1000 мл, виннокислого аммония 5 г, фосфорнокислого калия 5 г, сернокислого магния 5 г, фосфорнокислого кальция $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 0,2—0,4 г.

Реактивы для определения бактерий и их свойств

Реактив Грисса. Для определения редукции нитратов бактериями необходим реактив Грисса, который состоит из двух растворов:

а) раствор сульфаниловой кислоты: 0,5 г химически чистой сульфаниловой кислоты растворяют в 150 мл 29—30%-ной химически чистой уксусной кислоты;

б) раствор α -нафтиламина: 0,2 г α -нафтиламина нагревают в 20 мл дистиллированной воды, не доводя до кипения. После этого процеживают через хлопчатобумажный фильтр в 150 мл 29—30%-ной уксусной кислоты.

Перед самым употреблением смешивают в небольших, равных объемах оба раствора. Смесь растворов должна быть бесцветной.

Все вновь приготовленные реактивы и особенно реактив Грисса необходимо проверять. Для проверки реактива Грисса берут слабый раствор какой-нибудь соли азотистой кислоты, наливая 1—2 капли в фарфоровую чашечку, и затем приливают несколько капель реактива Грисса.

Появление ярко-розовой или красной окраски в чашечке свидетельствует о хорошем качестве реактива. Хранят растворы в склянках из темного стекла или обертывают обычные склянки черной бумагой.

Реактивы для окраски бактерий по Граму.

а) раствор генциан- или кристалл-виолета: 100 мл спирта + 5 мл глицерина + 1 г метил- или генциан-виолета, все это смешать, оставить на ночь, на следующий день профильтровать;

б) люголевский раствор: 1 г йода + 2 г йодистого калия растворить в 10 мл спирта, добавить воды до 300 мл;

в) спирт по Саватееву: 50 мл спирта + 1 мл 5%-ной йодной настойки на спирту;

г) фуксин: 1 г основного фуксина в 100 мл спирта + несколько капель глицерина оставить на ночь, на следующий день профильтровать.

Для более удобного окрашивания препаратов употребляют бумажки, окрашенные генциан-виолетом. Фильтровальную бумагу нарезают прямоугольными кусочками, несколько меньшими предметных стекол, смачивают их готовым раствором генциан-виолета и раскладывают на стекле для просушки. Высушенные генциан-виолетовые бумажки используют при окраске по Граму. Наложив сухую окрашенную бумажку на препарат, смачивают ее водой и препарат подогревают на пламени горелки так же, как и при окраске его раствором генциан-виолета. Краска, содержащаяся в бумажке, при этом растворяется и окрашивает бактерии. Препараты, окрашенные таким способом, получаются более чистыми, свободными от лишней краски. Генциан-виолет сохраняется высушенным в бумажках долгое время, не портясь и не меняя концентрации.

Краски и индикаторы

Метиленовая синь. 20 г метиленовой сини растворяют в 300 мл 96°-ного спирта. Для окраски бактерий применяются спирто-водные растворы различной крепости: на 1 мл профильтрованного насыщенного спиртового раствора краски берут от 10 до 40 мл воды.

Щелочная синь Лёффлера. К 100 мл воды прибавляют 30 мл профильтрованного насыщенного спиртового раствора метиленовой сини и 1 мл однопроцентного раствора едкого калия. Чем дольше стоит раствор, тем выше становится качество этой краски.

Фуксин. Насыщенный спиртовой раствор готовят путем растворения 30 г сухой краски в 200 мл 96°-ного спирта. Для окрашивания берут 10—20 мл профильтрованного насыщенного спиртового раствора, разбавленного 100 мл дистиллированной воды.

Фуксин по Цилю. 10 мл профильтрованного насыщенного спиртового раствора фуксина прибавляют к 100 мл 5%-ной карболовой кислоты. Эта краска употребляется для окраски спор. Для окраски бактерий ее разбавляют водой в 5—10 раз (фуксин Пфейфера).

Эритрозин. 2—3%-ный раствор эритрозина готовят в 5%-ной карболовой кислоте. Для окрашивания достаточно 5—10 минут. Необходимо следить, чтобы краска не высыхала. Окраска эритрозином после промывания водой получается особенно чистой, так как окрашиваются исключительно бактерии, а органические вещества отмываются водой. Эта краска особенно рекомендуется для бактерий, выросших на жидких питательных средах из растительных экстрактов или на синтетических средах. Если необходимо получить окраску синего или даже черного цвета, то после окраски эритрозином и промывания водой обрабатывают препарат метиленовой синью от 2 до 5 секунд и опять промывают водой. Такая окраска гораздо сильнее, чем окраска одной только метиленовой синью или одним эритрозином.

Бромкрезолпурупур — 0,1 г растворяют в 20 мл теплого 86°-ного спирта и доводят водой до 100 мл.

Бромтимолбляу — 40 мг растворяют в 100 мл 86°-ного спирта.

Малахитгрюн — 1,02 г растирают в ступке и растворяют в 100 мл 86°-ного спирта. Раствор оставляют на сутки, затем фильтруют. Хранят в склянке с притертой пробкой.

Методы выделения фитопатогенных бактерий

Подготовку лабораторной посуды и заливку питательных сред для выделения бактерий из зараженных бактериозом частей растений производят на столе, покрытом стеклом. На столе раскладывают стерильные чашки Петри, ступки, шпатели и др. МПА в склянках расплавляют на водяной бане, затем его охлаждают, доводя до температуры 46—50°, обжигают пробку и горлышко склянки, вынимают пробку и, осторожно приподняв левой рукой крышечку чашки Петри, вливают в нее из склянки питательную среду в таком количестве, чтобы дно чашки было ею покрыто. Таким же образом заполняют все чашки Петри. Выливать агар в чашки при высокой температуре не рекомендуется, чтобы избежать конденсации паров на крышках чашек.

Приготовление суспензии бактерий и техника посева

Фитопатогенные бактерии можно выделять из любой части растений, на которой имеются признаки поражения (корень, стебель, семена и т. д.), причем желательно иметь свежий материал, так как многие виды бактерий из сухого, долго пролежавшего материала выделяются с большим трудом или совсем не выделяются. Дезинфицировать свежие части растения перед взятием их для посева в большинстве случаев не рекомендуется. Это относится к листьям и стеблям травянистых растений. Только плот-

ные части растения (опухоли, одревесневшие части растения — стебли, семена, мясистые корни) можно дезинфицировать с поверхности.

Дезинфицируют материал в растворе сулемы 1 : 1000 1—3 минуты с последующим отмыванием сулемы спиртом и затем 3—4 раза стерильной водой или погружением в спирт и быстрым обжиганием в пламени горелки.

Из исследуемого образца отбирают части с наиболее характерными внешними признаками поражения, затем заранее продезинфицированным в пламени и остуженным скальпелем или ножницами вырезают из разных мест небольшие частички пораженной ткани и растирают их пестиком в стерильной ступке с небольшим количеством стерильной воды до получения однообразной массы.

После этого прокаленной над пламенем горелки платиновой петлей или пестиком переносят небольшую часть полученной эмульсии на поверхность застывшего в чашке Петри питательного агара. Затем стерильным шпателем Дрегалевского равномерно размазывают перенесенный материал по всей поверхности и этим же шпателем проводят по поверхности второй и третьей чашек. Таким путем производят разведение посевного материала на питательной среде.

Почти всегда в частях больного растения находится много посторонних бактерий. Поэтому для выделения фитопатологических бактерий, кроме посева на МПА, рекомендуют одновременно засеивать такое же, а иногда и большее количество посевного материала на среду МПА с зеленой краской малахитгрюн. Таким образом, получается два параллельных посева с одним и тем же исходным материалом. Чашку с зеленым агаром необходимо отметить, так как при развитии микроорганизмов зеленый цвет иногда исчезает.

Краска малахитгрюн обладает способностью задерживать рост спорообразующей и грамположительной микрофлоры; последнее обстоятельство необходимо учесть при выделении грамположительных фитопатогенных бактерий *Corynebacterium michiganense*, *Corynebacterium sepedonicum* и при выделении их не применять агар с малахитовой зеленью. После посева шпатель опускают в дезинфицирующую жидкость или в водяную баню и кипятят вместе со ступкой и пестиком. Чашки с посевом дном вверх ставят в термостат при температуре 28—30°. Перевертывают чашки для того, чтобы избежать конденсации паров воды в виде капель на крышке чашки.

Выделение чистых культур бактерий под микроскопом

Через несколько дней (2—4) чашки Петри, в которых сделан посев, вынимают из термостата, просматривают сначала невооруженным глазом, а затем, не открывая чашки, знакомятся с

формой колоний под лупой. После этого закрытую чашку Петри ставят дном вверх на столик микроскопа и рассматривают формы колоний при малом увеличении с укороченным объективом Za_2 или в стереоскопический бинокулярный микроскоп МБС-1.

Колонии бактерий, которые подлежат дальнейшему детальному изучению, отмечают восковым карандашом, после чего приступают к выделению культуры бактерий из одной колонии на косой агар в пробирках. В некоторых случаях вид и характер роста колоний на агаре могут быть достаточным признаком для определения болезни, например, при определении некроза цитрусовых, вызываемого *Pseudomonas citriputeale*.

На косой агар выделяют 4—6 штаммов из колонии, по цвету и характеру роста соответствующих описанию в определителях для данного возбудителя. Выделенные из одной колонии штаммы ставят в термостат при температуре 28—30°C на 2—3 дня, ежедневно просматривая рост на косом агаре. Если рост однородный и по виду сходен с предполагаемым возбудителем заболевания, то приступают к определению свойств изолированной культуры.

Определение морфологических и культуральных свойств бактерий

Современная диагностика фитопатогенных бактерий основана на определении их морфологических и культуральных, или биохимических, свойств.

К морфологическим свойствам относится строение колонии на твердых средах (МПА и МПЖ). Выросшие на плотных средах колонии, принадлежащие к различным видам, разнообразны по своему внешнему виду, окраске, внутреннему строению, окаймлению, профилю, консистенции и пр. Различны величина и форма отдельных бактериальных клеток, расположение жгутиков, если они имеются, способность образовывать споры и капсулы, подвижность бактерий и отношение к окраске по Граму. При выращивании на МПБ, кроме подвижности, определяется и скорость роста — помутнение, образование осадка и пленки, аммиака и сероводорода.

Культуральные свойства характеризуют, главным, образом, функции ферментативного аппарата. Способность разжижать желатин указывает на наличие протеолитических (разлагающих белки) ферментов. Характер разжижения при посеве уколом в пробирку — в форме воронки, чашечки и пр. также является диагностическим признаком.

Рост бактерий на молоке может вызывать свертывание молока, происходящее от кислотообразования либо от образования сычужного фермента. Рост культуры на молоке с лакмусом показывает, идет ли образование кислоты или среда становится щелочной.

Способность бактерий восстанавливать нитраты в нитриты определяется при выращивании их на МПБ с добавлением селитры.

Кроме действия бактерий на вышеперечисленные азотные вещества, определяется их действие на углеводы. Практически достаточно бывает исследовать четыре компонента — глюкозу (декстрозу), сахарозу, лактозу и глицерин.

Диастатическую активность бактерий, способность их к гидролизу крахмала определяют, выращивая их на МПА с крахмалом в чашках Петри и последующей пробой на крахмал йодом.

Определение всех вышеуказанных свойств бактерий — возбудителей болезней проводится последовательно, а результаты записываются в таблице (см. таблицу на стр. 131).

Прежде всего наблюдают и отмечают цвет и вид колоний на МПА. Затем из этих колоний выделяют несколько штаммов на косой агар. Когда изолированные бактерии хорошо вырастут, все штаммы высевает одновременно на все среды, необходимые для их определения, и делают препараты для окраски по Граму. Препараты для окраски всегда следует делать из молодых разведений. Измерения величины бактериальных клеток можно делать на препаратах, окрашенных по Граму.

Все пробирки с посевами на твердых и жидких средах для каждого штамма закрепляют резиновым обхватом и ставят в термостат при температуре 28—30°C. Туда же ставят чашки Петри с посевом на МПА с крахмалом.

В пробирки с МПЖ делают посев бактерий уколом и выращивают их при комнатной температуре.

Наблюдения за изменениями в процессе роста бактерий на средах производят систематически с первого дня после посева. В течение первых трех дней через 24 часа, 48 часов и 72 часа определяют подвижность бактерий в висячей капле, используя культуры на МПБ. Если подвижность установлена в первый же день, то последующих наблюдений не требуется. Если же бактерии при первом определении неподвижны, то следует продолжить просмотр в висячей капле, потому что у некоторых бактерий способность к движению проявляется не сразу.

Параллельно с определением подвижности надо вести наблюдения и за ростом на средах Гриса и на молоке, вначале ежедневно, затем через 2—3 дня, а далее через 5—6 дней. Изменение реакции при росте бактерий на средах с углеводами иногда происходит медленно — через 3—4 недели. На седьмой день определяют нитриты на МПБ с селитрой и ставят пробу на гидролиз крахмала.

Восстановление нитратов определяют, внося несколько капель разведки на МПБ с селитрой в фарфоровую палетку и добавляя туда реактив Гриса. Ярко-розовая окраска указывает на присутствие нитритов. Пробу на крахмал делают с раствором Люголя, употребляемым для окраски по Граму, наливая его в

Таблица
Морфологические и культуральные свойства бактерий—возбудителей болезней растений

Название бактерий	Цвет колоний	Окраска по Граму	Разжижение желатина	Результат интратов	Тирмин крахмала	Подвижность	Декст.- Лактоза		Сахароза		Глицерин	Молоко	Лактосное молоко	Аммиак	Сероводорода	Индол	Размеры (в микронах)	
							кислота	глиз	кислота	глиз	кислота	глиз	свертывание	запах			длина	ширина
<i>Stewartii</i> (<i>Bacterium</i>)	светло-желтый	—	—	—	—	—	+	—	+	—	±	—	—	—	—	—	1,0—2,0	0,5—0,7
<i>Citri</i> (<i>Xanthomonas</i>)	желтый	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	1,5—2,0	0,5—0,75
<i>Citriputeale</i> (<i>Pseudomonas</i>)	прозрачно-белый	—	+	—	±	—	+	—	+	—	±	+	+	—	—	—	2,0—4,0	0,4—1,0
<i>Savastanoi</i> (<i>Pseudomonas</i>)	белый	—	—	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	св.	св.	1,2—1,5	0,4 0,5
<i>Amylovora</i> (<i>Erwinia</i>)	белый	—	+	—	—	+	+	—	+	—	±	+	+	—	—	—	0,9—1,5	0,7—1,0
<i>Michigane</i> (<i>Corynebacterium</i>)	желтый	+	св.	+	±	—	+	—	±	св.	+	+	±	—	—	—	0,7—1,2	0,6—0,7

* Гидролиз крахмала у *Ps. savastanoi* незначительный по амилодекстрина и мальтозы, поэтому при реакции с йодом получается розовый или пурпурный цвет.

агар плиткой столько, чтобы покрыть всю поверхность его в чашке Петри. Если бактерии не образуют диастазу, то получается реакция крахмала с йодом — резкое посинение; если реакция не получается, это значит бактерии гидролизуют крахмал в сахара. Иногда крахмал гидролизуют не полностью, и при пробе с йодом образуется розовая или пурпуровая окраска, а не синяя, например, при росте *Pseudomonas savastanoi* — возбудителя туберкулеза маслины.

В большинстве случаев указанных реакций бывает достаточно для определения фитопатогенных бактерий, но иногда необходимы дополнительные реакции, например, посевы на среды Кона, Ушинского и Ферми, а также определение сероводорода, аммиака и индола.

Определение сероводорода. Для определения сероводорода засевают пробирку с МПБ, затем пропитывают насыщенным раствором уксусного свинца длинную полоску фильтровальной бумаги, зажимают ее между пробкой и краем пробирки так, чтобы конец не касался среды, и покрывают пробирку колпачком из резины или пергаментной бумагой. Присутствие сероводорода определяется почернением бумаги. Поэтому за почернением бумаги следят ежедневно, так как черная окраска может исчезнуть под влиянием окисления.

Определение аммиака. Для обнаружения аммиака, образуемого культурой бактерий, МПБ засевают исследуемым штаммом. Зажимают между пробкой и краем пробирки полоску влажной красной лакмусовой бумажки, свободно свешивающуюся в пробирку так, чтобы она не касалась среды, плотно закрывают пробирку резиновым колпачком или пергаментной бумагой. Посинение лакмусовой бумажки указывает на образование аммиака.

Определение индола (по Сальковскому). Недельную бульонную культуру бактерий нагревают с 4 мл 10%-ной серной кислоты, затем прибавляют 0,5—2 мл 0,05%-ного раствора азотистокислого натрия и продолжают нагревание. Если индол присутствует — появляется красно-фиолетовое окрашивание.

Итак, способы определения бактериальных болезней растений, описанные в разделе «Бактериологическая экспертиза», следующие:

1. По внешнему виду проявления заболевания.
2. По виду и характеру колоний при посеве исследуемого материала на МПА.
3. По реакции при искусственном заражении плодов цитрусовых.
4. Окраской бактерий в тканях растения по Граму.
5. Проведением длительного бактериологического анализа с выделением культуры бактерий — возбудителей болезни и определением морфологических и культуральных свойств этих бактерий.

Правила карантинной профилактики

1. Все работы по экспертизе и анализу импортных растительных материалов должны производиться в халатах. При выходе из помещения, где производились работы, халаты снимают. Столы, на которых проводят экспертизу и анализы, должны быть покрыты стеклом.

2. После каждой экспертизы подозрительных на заболевание, а также явно зараженных образцов стол, на котором проводилась работа, и все предметы, бывшие в употреблении, обеззараживают спиртом. Остаток растительного материала и упаковки тщательно удаляют со стола и сжигают.

3. Импортную упаковку — бумагу, стружки, солому, мох и др. — обязательно заменяют отечественной. Импортную упаковку сжигают.

4. Посуду, предметные, покровные и часовые стекла, центрифужные и химические пробирки, а также фарфоровые ступки, пестики и др., употребляемые при лабораторных анализах, можно использовать только при работе с одним образцом, после чего их кипятят два часа, а затем хорошо промывают в проточной воде. Сита после каждого просеивания почвы тщательно очищают от почвы сухой марлей или мягкой тряпочкой, а затем обтирают спиртом или бензином, после чего так же, как и посуду, кипятят два часа, а затем промывают в проточной воде.

Марлю и тряпочки после обтирания сита сжигают.

5. Зараженную возбудителем рака картофеля почву после анализа рассыпают тонким слоем на железном противне, обливают керосином и сжигают.

6. Все работы по анализу почвы при помощи органических жидкостей производят в вытяжном шкафу, поскольку их пары вредны для человека. При отсутствии вытяжного шкафа работу с органическими жидкостями можно вести лишь в хорошо проветриваемом помещении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Артемьева З. С. Указания к приготовлению питательных сред. «Информационный бюллетень по вопросам карантина растений», № 5, ноябрь 1939, стр. 23.

Бургвец Г. К. Бактериальные болезни растений. Издательство АН СССР, М., 1936.

Израильский В. П., Артемьева З. С. Бактериальный рак томатов, Сельхозгиз, М., 1938.

Израильский В. П. и Яшнова Н. В. Бактериальный рак томатов и меры борьбы с ним, Издательство МСХ СССР, М., 1952.

Израильский В. П. и др. Бактериальные болезни растений, Сельхозгиз, М., 1952.

Кальметт А., Негр Л. и Бокэ А. Руководство по микробиологической и серологической технике, Государственное издательство, 1928.

Омелянский В. Л. Практическое руководство по микробиологии, Издательство АН СССР, М., 1940.

Першина З. Г. Окраска тканей растений по Граму. Справочник по вопросам карантина растений, № 1, октябрь, 1940, стр. 19—21.

Роскин Г. М. Микроскопическая техника, Государственное издательство «Советская наука», 1946.

Ячевский А. А. Бактериозы растений, Государственное издательство колхозной и совхозной литературы, 1935.

ФИТОГЕЛЬМИНТОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА

Фитогельминтологическая экспертиза растительных материалов и почвы имеет целью выявление зараженности их карантинными и другими видами паразитических нематод.

Объектами фитогельминтологической экспертизы являются различные подземные и надземные части растений (в том числе семена), а также почва, находящаяся на подземных органах или в почвенных пробах.

Фитогельминтологической экспертизе подлежит весь посадочный материал: окоренные растения, саженцы, рассада, клубни, луковицы, корневища, черенки черной смородины, а также семена риса и образцы почвы. Методика фитогельминтологической экспертизы зависит от исследуемого материала. Выявление зараженности нематодами растительного материала и почвы осуществляется различными методами, которые излагаются в последующих разделах.

Экспертиза семян риса на выявление рисовой нематоды — *Ditylenchus angustus* (Butler) Filipjev

Рисовая нематода находится на внутренней стороне чешуек семян риса. Предназначенный для экспертизы образец семян риса высыпает тонким слоем на стекло или белую бумагу. По правилам отбора средних проб из него выделяют навеску в 10—30 г в зависимости от количества анализируемого материала. Если в оставшейся части образца имеются шуплые и деформированные семена, то их отбирают и присоединяют к выделенной навеске. Затем отобранные семена осторожно растирают в фарфоровой ступке до отделения чешуек риса, не допуская при этом размалывания зерен, после чего производят извлечение нематод вороночным методом, описываемым в разделе «Техника фитогельминтологического лабораторного анализа» (стр. 148).

При весе навески, превышающем 15 г, ее разделяют на 2 равных части, каждую из которых анализируют отдельно. Если анализируемый образец состоит лишь из небольшого количества семян, то от него отбирают несколько семян, от которых отделяют покрывающие их чешуйки. На часовом стекле в воде эти

чешуйки расщепляют препаровальными иглами и через 20—30 минут воду просматривают под биноклем на наличие вышедших из чешуек нематод. Если нематоды будут обнаружены, то остатки чешуек осторожно удаляют, а нематод, оставшихся в воде, тонкой энтомологической иглой переносят в каплю чистой воды на предметное стекло.

Дальнейшие операции по определению нематод (анестезирование, измерение и т. п.) проводят согласно рекомендациям, приведенным в разделе «Техника фитогельминтологического лабораторного анализа».

Экспертиза растений риса на выявление рисовой нематоды — *Ditylenchus angustus* (Butler) Filipjev

Растение риса просматривают макроскопически на наличие признаков заболевания. При сильном заражении на листьях

и листовых влагалищах появляются коричневые полосы, стебли у верхних междоузлий бывают искривлены и тонки (рис. 1—1). Метелки иногда не выходят из влагалища листа, а если и выходят, то не развивают зерен (рис. 1—2, 3). Нематоды скопляются в пазухах листьев. Для определения наличия нематод на растениях риса от растений, входящих в образец, отделяют особо метелки, листья и стебли. Отделенные однородные части растений расщепляют вдоль препаровальными иглами. Выделение нематод производят вороночным методом. Кроме семян и растений риса, на наличие рисовой нематоды проверяют рисовую шелуху и солому, присылаемые как упаковочный материал. Выделение нематод из них проводят тоже вороночным методом.



Рис. 1. Внешние признаки повреждения риса рисовой нематодой *Ditylenchus angustus* (Butler) По Butler, 1913:

- 1—метелка с оборванным листовым влагалищем;
- 2—пустые колоски, торчащие из листового влагалища;
- 3—метелка, не вышедшая из влагалища.

Описание рисовой нематоды *Ditylenchus angustus* (Butler) Filipjev

Самка имеет длину тела 700—1230 μ при ширине 15—22 μ , длина пищевода 140 μ , хвост (часть тела, расположенная за

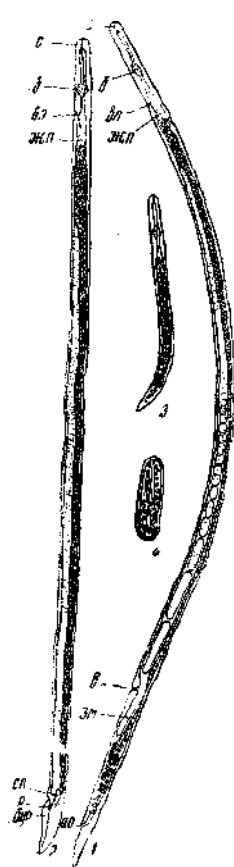


Рис. 2. Рисовая нематода *Ditylenchus angustus* (Butler). По Butler, 1913: 1—самка; 2—самец; 3—личинка; 4—яйцо со сформированной личинкой внутри; с—стилет, б—бульбус, вл—выделительная пора, жл—железы пищевода, бур—бурса, сп—спикула, р—рулек, в—вульва, зм—задняя матка, ао—анальное отверстие.

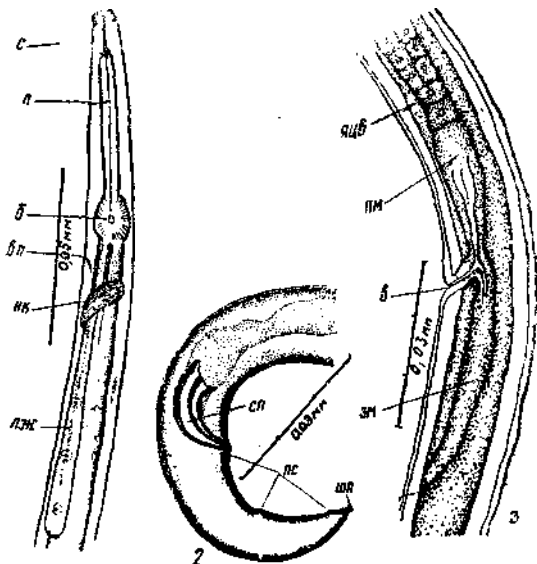


Рис. 3. Рисовый афеленх—*Aphelenchoides oryzae* Yokoo (ориг.): 1—головной конец тела; 2—задний конец тела самца; 3—область вульвы; с—стилет, п—пищевод, б—бульбус, вл—выделительная пора, жк—первое кольцо, жлж—железы пищевода, в—вульва, зм—задняя матка, лм—передняя матка, пс—половые сосочки, сп—спикулы, яцв—яйцевод, шп—шипик на заднем конце тела.

анальным отверстием) от 45 до 52 μ . Альфа 47—58, бета 7—8 и гамма 17—20*. Вульва расположена на расстоянии, составляющем 75—80% длины тела от его переднего конца.

Самец имеет длину тела 600—1100 μ при ширине 14—19 μ ; альфа 36—47, бета 6—7, гамма 18—23. Длина хвоста 34—48 μ . Самцы снабжены парными спикулами длиной в 20 μ , рульком и бурсой, которая сзади суживается и немного не достигает конца хвоста (рис. 2—2).

* Альфа, бета и гамма означают отношение длины тела соответственно к ширине тела, длине пищевода и длине хвоста.

В семенах риса, кроме рисовой нематоды *Ditylenchus angustus* (Butler) Filipjev, может встречаться рисовый афеленх *Aphelenchoides oryzae* Yokoo (рис. 3). Отличить эти два вида можно только под микроскопом. Длина тела самки рисового афеленха 540—720 м при ширине 14—18 м. Голова резко отграничена от тела. Пищевод с типичным афеленхоидным бульбусом. У самцов рулек и бурса отсутствуют. Спиккулы длиной в 19 м, имеют серповидную форму. Задний конец тела нематоды состоит из четырех шиповидных придатков, которые можно рассмотреть только под большим увеличением микроскопа или с иммерсионной системой.

Экспертиза зерновых культур на выявление пшеничной нематоды — *Anguina tritici* (Steinbuch) Filipjev

Пшеничная нематода, хотя и не включена в число карантинных объектов, но является вредоносной и ее наличие следует выяснить при экспертизе семян пшеницы, ячменя, ржи и полбы.

Предназначенный для экспертизы образец семян высыпают на стекло и просматривают под лупой все семена на выявление галл пшеничной нематоды.

Галлы пшеничной нематоды легко отличить по форме и величине. Они короче пшеничного зерна, имеют на одном конце заостренные отростки (рис. 4). Цвет галла коричневый или почти черный. В отличие от мешочков пыльной головки, легко раздавливаемых между пальцами, галлы пшеничной нематоды тверды.

Для определения пшеничной нематоды галл нужно разрезать пополам в капле воды, из него выйдет белая мучнистая масса, состоящая из множества личинок нематоды, которые хорошо видны под микроскопом. Личинки через несколько часов начинают активно передвигаться.



Рис. 4. Зерно пшеницы и галлы пшеничной нематоды *Anguina tritici* (Steinbuch) orig.:

1—здоровое зерно пшеницы; 2—галл пшеничной нематоды; 3—разрез галла пшеничной нематоды (видны вышедшие личинки).

Экспертиза рассады земляники на выявление земляничной нематоды — *Aphelenchoides fragariae* (Ritzema-Bos) Christie

Анализу на выявление земляничной нематоды подвергают только надземные части земляники, в которых локализуется нематода. Надземные части земляники просматривают макроскопически на наличие внешних признаков заболевания, кото-

рые при сильном заражении проявляются в карликовости растений, кустистости, утолщении и укороченности стебля и цветоноса, деформации цветков, черешков и пластинок листьев (рис. 5).



Рис. 5. Куст земляники, сильно пораженный земляничной нематодой *Aphelenchoides fragariae* (Ritzema-Bos)

От образца отбирают различные части растений (предпочтительно подозрительные на заболевание), расщепляют их вдоль препаровальными иглами и извлекают нематод вороночным методом. Части растений с явно выраженными признаками заболевания можно расщепить препаровальными иглами в воде в чашке Петри или часовом стекле и через 20—30 минут осадок, в котором могут находиться нематоды, вышедшие из расщепленных частей растений, просмотреть под биноклем. Если будут замечены нематоды, их переносят на предметное стекло в каплю воды для определения под микроскопом.

Описание земляничной нематоды — Aphelenchoides fragariae (Ritzema-Bos) Christie

Длина тела самки достигает 570—920 μ при ширине 12—15 μ . Альфа 44—60, бета 11—15, гамма 15—20. Вульва удалена от переднего конца тела на расстояние, равное 70% его длины. Гонада одна. Поствульварный мешок матки длинный.

Длина тела самца 590—850 μ при ширине 12—15 μ . Альфа 45—57, бета 11—12, гамма 18—19. Гонада одна. Длина спикулы

с дорзальной стороны 21—23, с вентральной стороны — 10 μ . Хвост оканчивается шипиком (рис. 6).

Следует иметь в виду, что на землянике, кроме земляничной нематоды *Arhelenchoides fragariae* (R.-B.), встречаются и другие паразитические нематоды, в частности стеблевая нематода

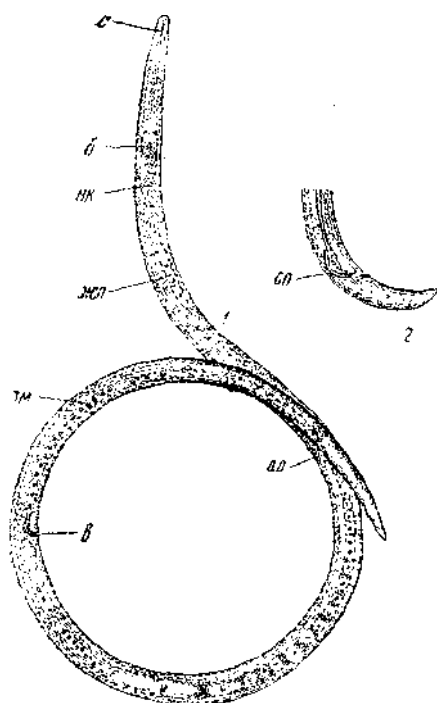


Рис. 6. Земляничная нематода *Arhelenchoides fragariae* (Ritzema-Bos) По Allen, 1952:

1—самка; 2—хвостовой конец тела самки; с—стилет; б—бульбус, нк—нервное кольцо; жп—железы пищевода, сп—спикулы, в—вульва, зм—задняя матка, ао—анальное отверстие.

Ditylenchus fragariae Kirjanova, вызывающая утолщение стебля и черешков, гофрировку листьев и т. п. (рис. 7), поэтому определение земляничной нематоды должно производиться обязательно под микроскопом. Стеблевая нематода земляники отличается от земляничной нематоды длиной тела, строением пищевода, кроме того, самцы снабжены парными спикулами, рулем и бурсой (рис. 8).



Рис. 7. Куст земляники, сильно пораженный стеблевой нематодой земляники *Ditylenchus fragariae* Kirjanova.

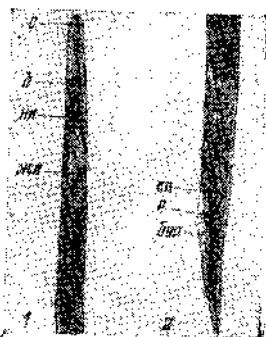


Рис. 8. Стеблевая нематода земляники *Ditylenchus fragariae* Kirjanova (Ориг. микрофотогр.):

1—головной конец тела; 2—задний конец тела сам. а: с—стилет, б—бульбус, нк—нервное кольцо, жп—железы пищевода, бур—бурса, сп—спикула, р—руль.

Экспертиза черенков черной смородины на выявление смородиновой нематоды — *Aphelenchoides ribes* (Taylor) Goodey

Черенки черной смородины макроскопически просматривают на наличие признаков заболевания: усохшие или мокнувшие почки и метельчатые кустистые побеги (рис. 9). Для анализа от-

бирают подозрительные почки растений. Эти почки расщепляют препаровальными иглами в часовом стекле в воде, которую через 30 минут просматривают на наличие нематод под бинокуляром. При достаточном количестве материала выделение нематод производят вороночным методом. Выделенных нематод переносят в каплю воды, находящуюся на предметном стекле, покрывают покровным стеклом и определяют под микроскопом.



Рис. 9. Ветви черной смородины, пораженные смородиновой нематодой *Aphelenchoides ribes* (Taylor). По Taylor, 1917.



Рис. 10. Смородиновая нематода *Aphelenchoides ribes* (По Goodey, 1928):

1—головный конец тела; 2—задний конец тела самки: с—стилет, л—пищевод, б—бульбус, п—выделительная поря, жп—нервное кольцо, жп—железы пищевода, сп—спикулы, пс—половые сосочки.

*Краткое описание смородиновой нематоды *Aphelenchoides ribes* (Taylor) Goodey*

Длина тела самки достигает 900—1120 μ при ширине 19—21 μ . Альфа 47—53, бета 13—14, гамма 18. Вульва удалена от переднего конца тела на расстояние, равное 66—74% его длины. Длина тела самца 800—1000 μ при ширине 19—21 μ . Альфа 47—52, бета 13, гамма 18. Спикулы с дорзальной стороны длиной 22, с вентральной стороны 10 μ (рис. 10).

Экспертиза клубней, луковиц, корнеплодов и других подземных частей растений на картофельную нематоду —
Heterodera rostochiensis Woll.

Картофельная нематода встречается на клубнях картофеля, на которых она паразитирует (рис. 11), и в почве, приставшей к ним, а также к луковицам, корням и прочим подземным частям других растений. В соответствии с этим клубни картофеля подвергают непосредственному исследованию на картофельную нематоду, а в остальных материалах на картофельную нематоду исследуют лишь приставшую к ним почву.

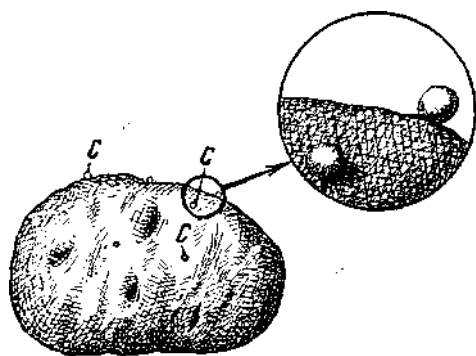


Рис. 11. Клубень картофеля, пораженный картофельной нематодой—*Heterodera rostochiensis* Woll. (ориг.).
На поверхности клубня видны самки картофельной нематоды (с).

Для выявления цист картофельной нематоды на клубнях картофеля их поверхность внимательно просматривают под лупой. Все обнаруженные в результате просмотра образования, похожие по внешнему виду на цисты картофельной нематоды, снимают препаровальной иглой, смоченной в воде, и переносят в каплю воды на предметное стекло, покрывают покровным стеклом и проверяют под бинокулярным микроскопом.

Для проверки на зараженность картофельной нематодой почвы, приставшей к клубням картофеля и другим подземным частям растений, составляющим один образец, эта почва смывается с них водой. После того как образец будет весь обмыт, смыв небольшими порциями переносят, перемешивая, в чашку Петри и в ней с помощью лупы просматривают на наличие цист.

Обнаруженные цисты или похожие на них частицы извлекают глазной пипеткой и помещают на предметное стекло для определения под бинокулярным микроскопом. В случае малого количества почвы в образце для исследования используют осадок центрифугата, полученного при фитопатологической экспертизе, которая обычно выполняется перед фитогельминтологической.

Если материал обмывать нельзя, то почву с него стряхивают или осторожно соскабливают на стекло или на белую бумагу и проверяют на наличие цист картофельной нематоды. При большом количестве почвы из нее выделяют для анализа навеску весом до 100 граммов. Анализ почвы проводят одним из методов, описываемых ниже в разделе «Анализ почвы на зараженность картофельной нематодой *Heterodera rostochiensis* Woll.»

Описание картофельной нематоды
Heterodera rostochiensis Woll.

Самка шарообразна с вытянутым головным концом («шейкой»), посредством которой она прикрепляется к корешку или клубню картофеля (рис. 12). Длина нематоды до 1 мм. Цвет

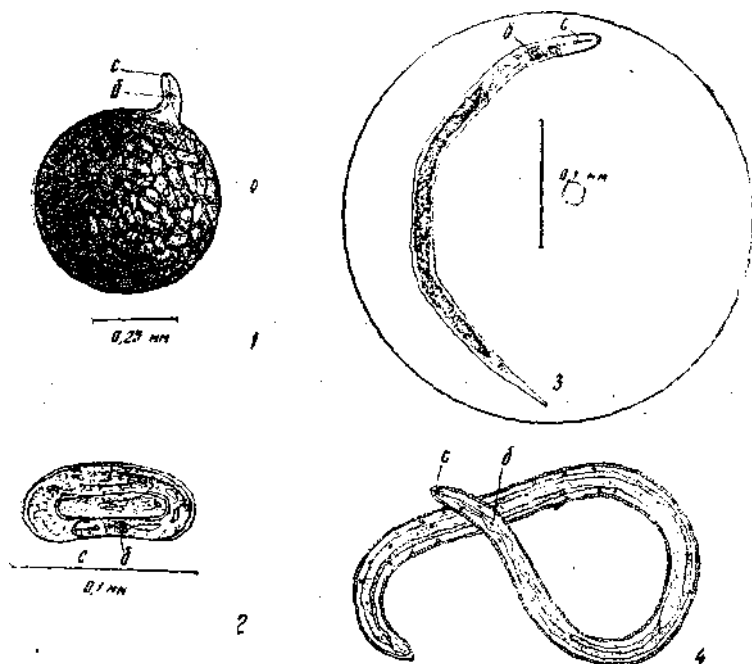


Рис. 12. Картофельная нематода *Heterodera rostochiensis* Woll:
1-самка; 2-яйцо со сформировавшейся личинкой; 3-личинка (микрофотогр.); 4-самец.
По О'Блен—Prentice, 1930: а-стилет, б-бульбус, я-яйцо.

сперва белый, а к осени, когда самка превращается в цисту, наполненную яйцами, постепенно переходит в бурый. Самец червеобразен, длина его тела около 1 мм.

Кроме картофельной нематоды, в почве могут быть другие цистообразные нематоды из рода *Heterodera*, например, свекловичная нематода (рис. 13), которых нужно также определять и учитывать при экспертизе.

Все подземные части растений: клубни, луковицы, корни и т. п., имеющиеся в образце, подвергаются также тщательному макроскопическому просмотру на наличие признаков заболеваний, вызываемых нематодами, не относящимися к карантинным объектам.

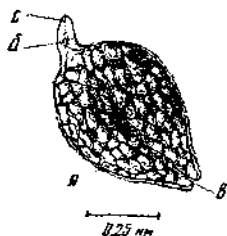


Рис. 13. Самка свекловичной нематоды *Heterodera schachtii* Schmidt, (ориг.);
а-стилет; б-бульбус, в-вульва, г-яйцо.

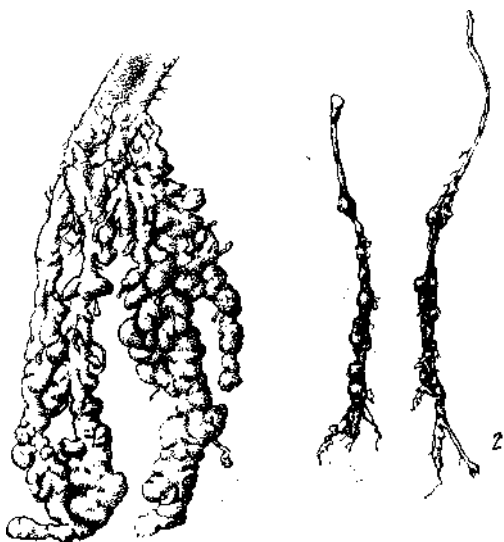
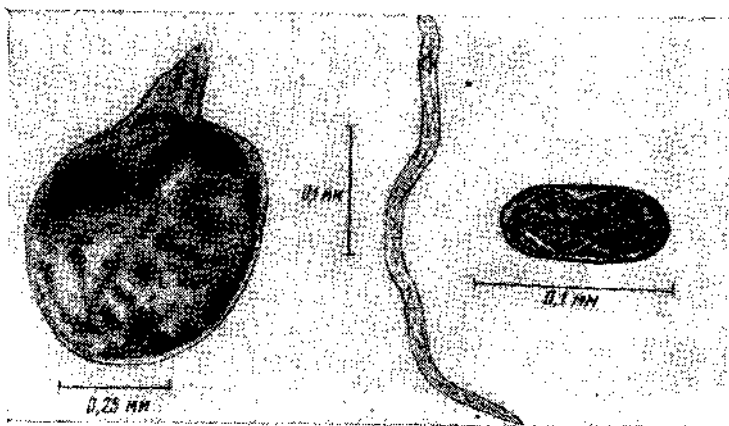


Рис. 14. Корни огурца (1) и корни инжира (2), пораженные галловой нематодой *Meloidogyne marioni* (Cornu).



1

2

3

Рис. 15. Галловая нематода *Meloidogyne marioni* (Cornu):
1-самка; 2-личинка; 3-яйцо со сформированной личинкой внутри (микрофотогр).

Корни растений исследуют на наличие галл галловой нематоды. Галлы, имея от нескольких миллиметров до нескольких сантиметров в диаметре, хорошо видны простым глазом (рис. 14). При обнаружении галлов галловой нематоды на корнях растений последние разламывают и расщепляют пинцетом, препаровальными иглами в чашке Петри или на часовом стекле в небольшом количестве воды. Часть галлов удаляют со стекла, а воду просматривают на наличие нематод под биноклем. Удобно расщепление галла проводить под биноклем, так как тогда можно увидеть выпадение из ткани корня самок бутылкообразной и пружевидной формы, личинок и яйцевых мешков (рис. 15). Не следует галлы галловой нематоды путать с клубеньками бобовых.

Для выявления галловой нематоды на клубнях картофеля (рис. 16) клубни с внешними признаками заболевания разрезают на две части (рис. 17). В зараженном клубне самки нахо-



Рис. 16. Клубень картофеля, пораженный галловой нематодой *Meloidogyne marioni* (Cornu. Ориг.



Рис. 17. Разрез клубня картофеля, зараженного галловой нематодой: черные точки — сакигалловой нематоды (ориг.).



Рис. 18. Разрез клубня картофеля, пораженного стеблевой нематодой картофеля *Ditylenchus destructor* Thorne (Ориг.).

дятся в поверхностном слое толщиной в 0,5 см. С зараженных участков делают соскоб и просматривают под биноклем на наличие самок галловой нематоды. Для установления стеблевой нематоды картофеля на ранней стадии ее развития с клубней картофеля (преимущественно в области пуповины) осторожно снимают тонкий слой кожицы. При наличии стеблевой нематоды в мякоти клубня видны белые пятна величиной с булавочную головку — места скопления нематод. При более поздней стадии развития заболевания на клубнях картофеля из-под целой кожицы просвечивают слабые, едва заметные свинцово-серые пятна. По мере увеличения повреждения клубня кожица над пятнами разрывается, образуя трещины со светло-коричневой тканью. Если разрезать такой клубень пополам, то с поверхности клубня видна серовато-коричневая масса больной ткани,

которая распространяется по поверхности клубня, не углубляясь внутрь (рис. 18). Скопление паразитических нематод происходит там, где здоровая часть клубня граничит с пораженной. Для анализа берут соскоб со здоровой части клубня, прилегающей к больной, и помещают в каплю воды на предметное или часовое стекло. Выделение нематод можно проводить и вороночным методом, для чего также берут кусочки клубня картофеля на границе с больной тканью. Для определения выделенных нематод переносят на предметное стекло и просматривают под микроскопом.

Луковицы с внешними признаками заболевания разрезают вдоль и исследуют микроскопически больную ткань для установления наличия стеблевой и других паразитических нематод. Выделение нематод производят или вороночным методом, или путем расщепления больной ткани в небольшом количестве воды. Определение нематод проводят под микроскопом.

Анализ почвы на зараженность картофельной нематодой — *Heterodera rostochiensis* Woll.

Почва в образцах импортных растительных материалов независимо от того, какими культурами они представлены, должна быть проверена на наличие цист картофельной нематоды. Анализ почвы проводится одним из следующих способов:

1) почву просушивают до воздушно-сухого состояния*, размельчают и просеивают через сито с диаметром ячеек 4,5—3 мм для удаления крупных частиц различных примесей. После этого отбирают образец почвы весом до 100 г и высыплют в литровый химический стакан или банку и заливают водой до $\frac{2}{3}$ его объема. Содержимое сосуда тщательно размешивают стеклянной палочкой с резиновым наконечником и отстаивают 20—30 минут. Подсушенные цисты в это время всплывают на поверхность воды, а почвенные частицы выпадают в осадок. Образец почвы, залитый водой, нельзя оставлять на длительное время, так как цисты, пропитавшись водой, могут снова опуститься на дно сосуда.

Верхний слой воды со всплывшими частицами, среди которых могут находиться и цисты картофельной нематоды, сливают на сито с ячейками размером не более 0,1 мм и промывают струей воды.

Промытый осадок смывают водой с сита в сосуд; из него переливают в чашку Петри и при помощи лупы просматривают на наличие цист картофельной нематоды. Кроме того, промы-

* Глинистые и иловатые почвы просушиваются медленно, при высыхании затвердевают, поэтому их нужно ежедневно перемешивать, измельчая крупные кусочки.

тый осадок с сита можно смывать не в сосуд, а на фильтр, вложенный в воронку, вставленную в стеклянную колбу, и фильтровать. Более быстрый результат получают при использовании вместо фильтра нейлоновой ткани. После фильтрования фильтр вынимают, разворачивают на стеклянной пластинке и скопившийся на нем осадок просматривают под биноклем или лупой.



Рис. 19. Оборудование для извлечения нематод из почвы: 1—сито, затянутое мельничной шелковой сеткой для задержки цист; 2 и 3—сита из металлической сетки для просеивания и промывки почвы; 4, 5 и 6—сосуды для перемешивания почвы; 7—воронка для фильтрования промытого осадка почвы и сбора цист. На переднем плане чашки Петри.

Цисты, если они имеются, располагаются в узкой полоске по окружности фильтра. Замеченные цисты извлекаются препаровальной иглой.

2) Почву, выделенную для анализа, помещают на металлическое сито с диаметром ячеек 1,5—3 мм, смоченное водой и вставленное в сито из мельничного газа с ячейками шириной 0,1 мм, и промывают под несильной струей воды при непрерывном помешивании шпателем до тех пор, пока вода, вытекающая из-под нижнего сита, не станет прозрачной. На верхнем сите остаются крупные примеси почвы, а цисты с мелкими частицами почвы оседают на сите из мельничного газа. Этот осадок сливают с сита в химический стакан, из которого все содержимое небольшими порциями при помешивании переливают в чашку Петри для просмотра. Цисты или похожие на них частицы, извлеченные из чашки Петри или с фильтра, помещают на предметное стекло в каплю воды, накрывают покровным стеклом и определяют под микроскопом или биноклем.

Для выявления жизнеспособности цист часть их помещают в каплю воды на предметное стекло, покрывают покровным

и раздавливают, легко нажимая на стекло. Яйца и личинки, выделившиеся при этом из цист, просматривают под микроскопом и устанавливают их жизнеспособность, подсчитывают особо количество жизнеспособных полных и неполных, нежизнеспособных и пустых цист. Применяемое оборудование для извлечения нематод показано на рис. 19.

Техника фитогельминтологического лабораторного анализа

Оборудование

Для проведения фитогельминтологической экспертизы необходимо иметь оптические приборы, оборудование, мелкий вспомогательный инструментарий и посуду для подготовки материала к анализу.

Оптические приборы состоят из микроскопа с окулярным и объективным микрометрами и препаратоводителем, бинокля, луп настольной, ручной и лобной. Пользование окулярным и объективным микрометрами, а также препаратоводителем описано в разделе «Фитопатологическая экспертиза». Из оборудования необходимо иметь сушильный шкаф, термостат и подставку для воронок (рис. 20).

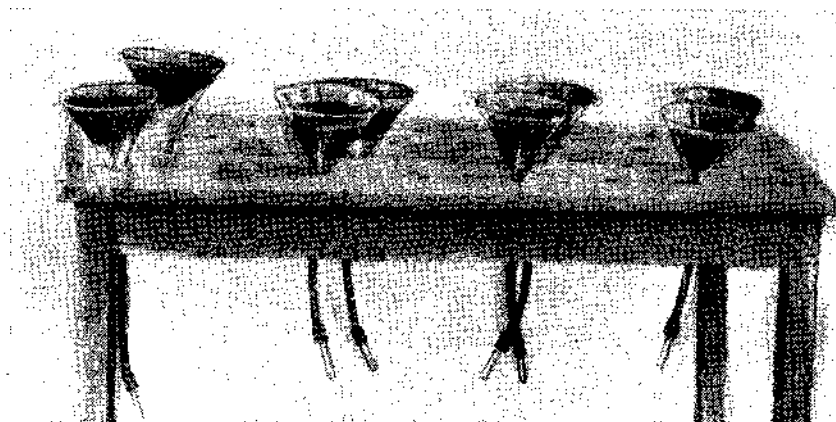


Рис. 20. Подставка для воронок.

Из мелких инструментов для фитопатологических работ необходимо иметь: скальпель, пинцет, ножницы как обычные, так и глазные, бритвы, копые, препаровальные иглы обычные и тонкие, сделанные из самых тонких энтомологических булавок, металлические сита с ячейками 1,5—2 и 3 мм, мельничное шелковое сито с ячейками 0,25 и 0,1 мм, фарфоровые ступки с пести-

ком, спиртовку, штативы для пробирок, зажим Мора, тазы, металлические сетки для воронок с ячейками 2—3 мм, шпатель и кисточки. Из лабораторной посуды необходимо иметь: энтомологические, центрифужные и химические пробирки, стеклянные или эмалированные воронки, чашки Петри, бюксы, часовые, предметные и покровные стекла и кюветы разных размеров, химические стаканы различной емкости, кристаллизаторы, мерные цилиндры, пипетки, стеклянные палочки, капельницы, эксикаторы, чашки Коха, банки для тампонов, литровые и пол-литровые банки с притертыми пробками, фарфоровые тигельки и чашки.

Подготовка лабораторной посуды и инструментов к анализу

Вся лабораторная посуда и все инструменты перед каждым очередным анализом должны быть совершенно чистыми. Для этого всю стеклянную и эмалированную посуду, резиновые трубки, пипетки, металлические сита и сетки необходимо промыть и затем прокипятить в воде в течение 10 минут, после этого сполоснуть чистой водой и просушить на воздухе или в сушильном шкафу при температуре 50°. Инструменты протирают 96°-ным спиртом или моют в горячей воде.

Правила карантинной профилактики в основном те же, что и при фитопатологической экспертизе.

Выделение нематод из растительного материала

Наилучшим методом выделения большинства нематод из растительного материала, особенно при слабом заражении, является вороночный метод (рис. 21). Для его применения достаточно иметь стеклянную или эмалированную воронку с надетой на ее конец резиновой трубкой (длиной 10—15 см), в нижний конец которой вставлена энтомологическая пробирка соответствующего диаметра для сбора выделенных нематод. Воронку с резиновой трубкой и с пробиркой устанавливают в вертикальном положении лучше всего в деревянном штативе со специально выпиленными для воронок отверстиями. В воронку вставляют сетку с диаметром ячеек 1—2 мм, лучше из тонкой металлической проволоки, чтобы задерживать мелкие части семян или растений. На сетку помещают предварительно подготовленный расщепленный анализируемый материал. После этого в воронку наливают такое количество воды, чтобы ею был покрыт весь материал, находящийся на сетке. Вода должна быть нагрета приблизительно до 30°, так как при этой температуре подвижность большинства фитонематод возрастает. Необходимо следить за тем, чтобы при наливании воды в воронку в труб-

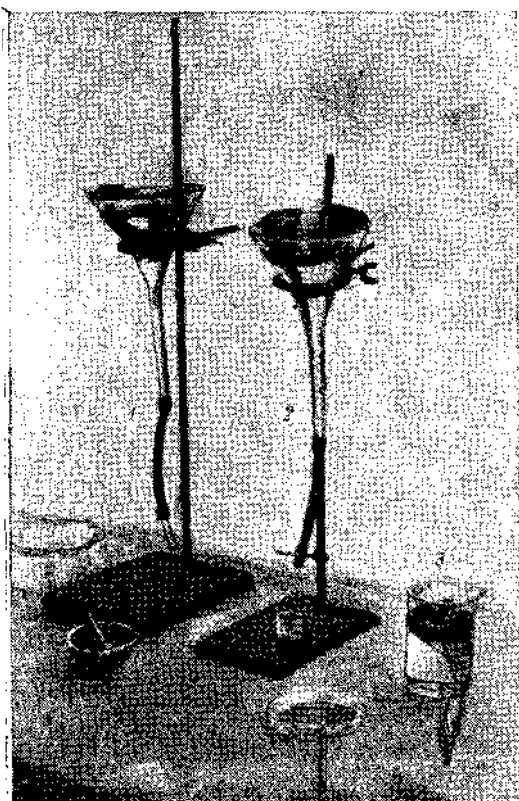


Рис. 21. Прибор для извлечения нематод из растительного материала:

1-воронка с пробиркой; 2- воронка с зажимом Мора и бюксом для слива воды с нематодами; 3-выделение нематод из растительного материала в стакане с водой; 4-ступка для отделения чешуек от зерна риса.

ке не задерживался воздух, который нужно выжать пальцами. В воронку помещают этикетку с номером экспертизы и названием материала, находящегося в ней, написанную простым карандашом. Нематоды, выходящие в воду из анализируемого материала, проваливаются в ячейки и опускаются на дно пробирки. Через 12—24 часа пробирку осторожно, чтобы не взболтать находящуюся в ней воду, вынимают из трубки. Верхний слой воды осторожно сливают, а оставшуюся часть (высотой 1,5—2 см) переносят при помощи пипетки на предметные или часовые стекла и просматривают под биноклем на присутствие нематод. Вместо пробирки на нижний конец трубки можно надеть зажим Мора, как показано на рисунке 21. При его применении

нематоды, вышедшие в воду из анализируемого материала, опускаются и скопляются внутри резиновой трубки над зажимом Мора. Через 12—24 часа зажим открывают, часть находящегося над ним слоя воды выпускают в подставленный бюкс или маленькую бактериологическую чашку и просматривают на наличие нематод под биноклем. Можно жидкость собрать в центрифужную пробирку, центрифугировать 1 минуту и затем осадок выбрать пипеткой со дна пробирки на предметное стекло для просмотра под биноклем. Вороночным методом можно исследовать живой, не фиксированный, материал, а также сухие растения, предварительно дав им как следует размокнуть.

Вороночный метод служит для выделения личинок и только тех нематод, которые способны к активному передвижению.

Кроме вороночного метода, выделение нематод из растений можно проводить в различных сосудах. Расщепленное растение (или его отдельные органы) помещают в сосуд, заливают водой и оставляют на 3—4 часа. Нематоды, выходящие из анализируемого растения, опускаются на дно сосуда. Растение или его части удаляют пинцетом, и вода после этого отстаивается в течение 30 минут. Верхний слой воды осторожно сливают, а нижний слой с осадком (высотой 1—3 см) исследуют на наличие нематод.

Если имеются ярко выраженные признаки заболевания, то нематод легко можно обнаружить в стеблях, листьях и т. п. Для этого одну из пораженных частей растения с ярко выраженными признаками заболевания расщепляют в воде в чашке Петри или часовом стекле (рис. 22).

Через 20—30 минут воду просматривают на наличие нематод. Если будут обнаружены нематоды, то их переносят на предметное стекло для определения под микроскопом.

Для этого Кириянова Е. С. рекомендует сперва приподнять извлекаемую нематоду тонкой препаровальной иглой со дна сосуда к пленке поверхностного натяжения воды, затем иглу передвинуть под тело нематоды, быстрым движением перенести ее на конце иглы в каплю воды, находящуюся на предметном стекле, и накрыть покровным стеклом.

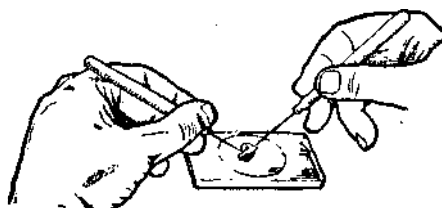


Рис. 22. Расщепление растительного материала препаровальными иглами в капле воды.

Приготовление микроскопических препаратов

Временные препараты. Нематод лучше определять в живом виде, так как у живых нематод лучше видны все детали строения. Для этого нематод переносят в каплю воды на предметное стекло, накрывают покровным. При высыхании воды ее подливают к краям покровного стекла при помощи пилетки.

Чтобы иметь возможность определять и измерять нематод, необходимо остановить их движение; для этого предметное стекло с нематодами нагревают с нижней стороны над небольшим пламенем спиртовой горелки в течение 5—6 секунд до прекращения движения нематод, но ни в коем случае не до кипения. Можно также остановить движение нематод путем прибавления

под покровное стекло капли 1%-ного раствора хлоралгидрата.

Если материал фиксированный, то нематод для определения вынимают из фиксирующей жидкости и помещают на предметное стекло в каплю воды лучше с добавкой глицерина (от 6 до 50%); сверху покрывают покровным стеклом и оставляют в этой смеси, пока нематоды не станут достаточно прозрачными (1—2 дня). После определения нематод их можно легко снять, отмыть от глицерина в воде и поместить снова в пробирку с фиксирующей жидкостью для хранения.

Постоянные препараты. Для изготовления постоянных препаратов применяют глицерин-желатин, который готовят следующим образом: 10 г желатина в измельченном виде помещают в колбу, заливают 60 куб. см воды и оставляют набухать в течение нескольких часов. Затем подогревают колбу с желатином, вливают в нее 40 куб. см глицерина и полученный состав нагревают до полного растворения желатина (не доводя до кипения), после этого смесь фильтруют через стеклянную вату в термостате и добавляют в нее 1 г карболовой кислоты.

Глицерин-желатин разливают по пробиркам или колбочкам, которые закрывают корковыми или резиновыми пробками. Глицерин-желатин при остывании превращается в студнеобразную массу.

Для изготовления постоянного микроскопического препарата нематод из фиксирующей жидкости переносят в каплю смеси из 3 частей 96%-ного спирта и 1 части глицерина, в которой и оставляют на несколько дней при температуре 20° до просветления нематод и полного испарения спирта. Из глицерина их переносят в глицерин-желатин. Для этого маленький кусочек глицерин-желатина помещают на предметное стекло и слегка подогревают до разжижения, после чего тонкой препаровальной иглой под биноклем переносят в него до 5 экземпляров нематод и накрывают покровным стеклом. После этого для равномерного распределения глицерин-желатина препарат слегка подогревают.

Когда глицерин-желатин застынет, нужно очистить края покровного стекла скальпелем от его излишков.

Для лучшей сохранности постоянных препаратов их заливают по краям покровного стекла асфальтовым лаком или канальским бальзамом. Участки препарата, в которых находятся нематоды, рекомендуется с нижней стороны предметного стекла обвести тушью. По обеим сторонам покровного стекла на предметное стекло наклеивают этикетки. Этикетки должны быть написаны тушью. На одной этикетке указывают название растения, поврежденный орган, вид, пол нематоды и количество экземпляров. Если нематоды получены из почвы, то на этикетке соответственно отмечают тип почвы, глубину взятия пробы, вид, пол нематоды и количество экземпляров. На другой этикетке

указывают номер протокола экспертизы, название страны происхождения, фамилию лица, проводившего экспертизу, и дату экспертизы.

Измерение нематод

Для определения нематод большое значение имеют размеры частей тела и соотношения между ними. Измерения производятся при помощи окулярного микрометра. Необходимо измерять: длину тела от начала головы до конца хвоста, ширину тела в области вульвы у червеобразных самок и наибольшую ширину тела у самцов и у самок родов *Heterodera* и *Meloidogyne*, длину пищевода до основания бульбуса, длину хвоста от ануса до кончика хвоста, расстояние вульвы от головного конца (оно выражается в процентах от общей длины тела). Этих данных достаточно для вычисления отношений альфа, бета и гамма, предложенных де-Маном.

$$\alpha = \frac{\text{общая длина тела}}{\text{наибольшая ширина тела}};$$
$$\beta = \frac{\text{общая длина тела}}{\text{длина пищевода}};$$
$$\gamma = \frac{\text{общая длина тела}}{\text{длина хвоста}}.$$

Кроме перечисленного, необходимо измерять длину стилета, спикул (от переднего края головки до их вершины), рулька, длину и ширину яиц, длину маточного мешка.

На основе этих данных и морфологического описания производят определение нематод.

Пересылка, фиксация и хранение гельминтологических материалов

Если собранный материал не удается определить на месте, то его нужно пересылать для определения в лабораторию по карантину сельскохозяйственных растений. Пересылать можно живой, не фиксированный, материал, завернутый в пергаментную бумагу или в гербарном виде, причем каждый образец завертывают отдельно и снабжают этикеткой.

Если материал может быстро разложиться, то его пересылают в фиксированном виде. Так же в фиксированном виде пересылают материал, подозрительный на зараженность картофельной нематодой и цистами рода *Heterodera*.

Отдельно к материалу как фиксированному, так и к живому прилагают пробирки с фиксированными нематодами, выделенными из больных органов растений. Фиксирование нематод про-

изводят и при необходимости сохранить их на длительное время для более детальных исследований.

В качестве фиксирующей жидкости может быть применен 4—5%-ный раствор формалина или 70°-ный спирт.

Следует учесть, что при действии фиксирующей жидкости червеобразные нематоды скручиваются и становятся неудобными для микроскопического исследования. Поэтому перед фиксацией их следует анестезировать. Это достигается двумя способами: или путем нагревания, или путем прибавления анестезирующего вещества.

Нагревание производится посредством погружения пробирки с нематодами в воду, подогретую до 50°, но не выше. Нематоды приходят в состояние теплового оцепенения и вытягиваются.

Другой способ состоит в прибавлении к воде с нематодами анестезирующего вещества хлоралгидрата в количестве, равном приблизительно 1%, в расчете на всю жидкость, содержащую нематод. Оцепенение и вытягивание нематод наступают примерно через полчаса или час. После этого в жидкость добавляют формалин с таким расчетом, чтобы крепость раствора получилась 4—5%.

Если нематод мало, то их можно собрать в небольшом количестве воды и залить 70°-ным спиртом, предварительно нагретым до кипения. Спирт рекомендуется для фиксации нематод с толстой труднопроницаемой кутикулой.

Хорошей фиксирующей жидкостью для нематод является смесь 70°-ного горячего спирта с 5—10%-ным глицерином, так как она одновременно и фиксирует и просветляет нематод, делая их готовыми к микроскопическому исследованию.

Если нужно сохранить отдельные органы растений с признаками заболевания, их можно тоже фиксировать в 4—5%-ном растворе формалина или 70°-ном спирте.

Следует избегать применения спирта в том случае, если в пробе имеется много зеленых растительных остатков, так как нематоды очень сильно окрашиваются хлорофиллом, который извлекается спиртом из растений.

Зафиксированный материал снабжают подробной этикеткой, которая должна быть написана на плотной бумаге простым карандашом или черной тушью и вложена внутрь каждой пробирки или банки.

В этикетке должны быть указаны номер протокола экспертизы, название растения (русское и латинское), поврежденный орган растения, количество обнаруженных экземпляров нематод, результаты предварительного определения, страна происхождения материала, фамилия лица, проводившего экспертизу, дата экспертизы. Если нематода найдена в почве, то указывают тип почвы и на какой глубине нематода обнаружена. Размер этикетки должен быть таким, чтобы лицевую сторону можно было прочесть, не вынимая этикетки из пробирки.

Пробирки с нематодами или банки с пораженными органами растений наполняют фиксирующей жидкостью так, чтобы между поверхностью жидкости и пробкой оставался небольшой слой воздуха. Пробирки и банки закрывают корковыми или резиновыми пробками и заливают парафином или воском.

Точно так же запаковывают материал и для длительного хранения. Для этой цели можно рекомендовать хранение материалов в маленьких бутылочках с резиновой или корковой пробкой.

Во избежание постоянной усушки фиксирующей жидкости и необходимости периодически ее подливать весьма целесообразно сохранять отдельные пробирки с однородным материалом в одной общей банке, в которую пробирки устанавливают вертикально, плотно друг к другу, иногда в 2 или 3 ряда (ряды перекладывают слоем ваты). Уложенный материал заливают фиксирующей жидкостью, той же, что и в пробирках. В банку вкладывают общую этикетку и герметически закупоривают.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ефременко В. П. Применение хлорпикрина при обеззараживании изолированных очагов картофельной нематоды. Госуд. издательство политической и научной литературы Литовской ССР. Вильнюс, 1957.

Указания по обследованию посевов картофеля на выявление картофельной нематоды. Издательство Советская Литва, Вильнюс, 1955.

Кирьянова Е. С. Круглые черви (нематоды) — паразиты растений. Издательство Академии наук СССР, М.-Л., 1955.

Парамонов А. А. и Брюшкова Р. И. Стеблевая нематода картофеля и меры борьбы с ней. Издательство Академии наук СССР, 1956.

Правила по карантину растительных грузов, прибывающих в СССР из иностранных государств. Главная госинспекция по карантину и защите растений. Издательство МСХ СССР, 1956.

Свешникова Н. М. Испытание сухого прогрева пшеницы в целях борьбы с пшеничной нематодой. Зерновое хозяйство № 6, 1939.

Схарбилович Т. С. Методика изучения и техника сбора материала по вредным нематодам растений. Сборник работ по нематодам с.-х. растений. Сельхозгиз, Л., 1939.

Скрябин К. И. Методы полных гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека. Издание I МГУ, 1928.

Тулаганов А. Т. Растениеядные и почвенные нематоды Узбекистана. Издательство АН УзССР, Ташкент, 1949.

Филиппев И. Н. Инструкция для собирания свободноживущих нематод. Петергофский агроном. ин-т, сер. 8, № 3, 1922.

Филиппев И. Н. Нематоды вредные и полезные в сельском хозяйстве. Госуд. издательство колхозной и совхозной литературы, М.-Л., 1934.

ЭКСПЕРТИЗА НА КАРАНТИННЫЕ СОРНЫЕ РАСТЕНИЯ

Лабораторной экспертизе на выявление семян, плодов и вегетативных органов размножения карантинных сорных растений подвергаются:

- а) все средние образцы, отобранные от партий семенного, продовольственного и фуражного зерна;
- б) все мелкие партии семян, поступающие для научно-исследовательских работ или как коллекционный материал;
- в) посадочный материал;
- г) гербарии и образцы почвы;
- д) образцы шерсти, волокна и сена.

Экспертиза семян и зерна

После энтомологической и фитопатологической экспертизы образцы семян, продовольственного и фуражного зерна и технических культур поступают на экспертизу на сорные растения. Для облегчения работы по просмотру образцов их пропускают через сита, размер которых может варьировать в зависимости от величины семян анализируемой культуры и характера засоренности. Удобнее всего образцы крупно- и среднесеменных культур пропускать через два сита, а мелкосеменных через одно.

Сита подбираются такого размера, чтобы на первом оставались в основном семена анализируемой культуры, на втором — примеси среднего размера, в том числе семена амброзии, сорных видов подсолнечника, паслена, а на площадку просеивались самые мелкие примеси, в том числе семена повилики и стрига.

Ориентировочный размер отверстий сит: для крупных семян (конские бобы и другие) $3,5 \times 15$; $1,8 \times 15$ мм, для хлебных злаков, бобовых и других семян такой же величины — $2,5 \times 15$; $1,8 \times 15$ мм; для трав типа красного клевера и других мелких семян отверстия диаметром 1,2 мм. Просевание производят вручную — продольно-возвратными движениями в течение трех минут со встряхиванием или легким постукиванием. Колебания сит должны быть около 10 см при 110—120 движениях в минуту.

После просева всего образца каждую фракцию ссыпают и просматривают отдельно. Для просмотра и выделения семян и плодов сорных растений из каждой фракции содержимое ее небольшими количествами (по 30—50 г) высыпают на настольное стекло или разборную доску. Разбирают семена шпателем и просматривают под лупой при 3—5-кратном увеличении. Более удобно пользоваться при этом наlobной лупой. Обнаруженные при анализе семена и плоды сорных растений отбирают и складывают отдельно по видам в розетки или на часовые стекла, стоящие рядом. Самую мелкую фракцию, оставшуюся на площадке, дополнительно просматривают под биноклем, особенно при экспертизе зерновых культур, поступающих из стран распространения стриг.

Все выделенные виды семян сорных растений прупируют по семействам и, пользуясь карпологической коллекцией, определителями семян, атласами и другой специальной литературой, приступают к определению. Чтобы хорошо рассмотреть тектонику поверхности семян и форму семенного рубчика, лучше всего пользоваться биноклем с окуляром 10х и объективом 4. Обычно семена карантинных сорняков легко определяются, за исключением семян повилики (*Cuscutae*), определение которых иногда представляет затруднение, а также семян злостного сорняка гумая (*Sorghum halepense* Pers.), семена которого трудно отличимы от семян культурного растения — суданской травы (*Sorghum Sudanense* Stapf.). Детальная методика определения этих видов приводится на стр. 160 и 165.

При анализе средних образцов, отобранных от партий семенного, продовольственного или фуражного зерна, после определения ботанического состава сорняков проводят количественный учет всех видов семян карантинных сорняков. Для этого все обнаруженные при анализе коробочки повилики и стриг, ягоды пасленовых, корзинки сложноцветных вскрывают и подсчитывают морфологически оформившиеся семена. Двойные семена повилики считаются за 2 отдельных семени, незрелые семена учитываются как вполне вызревшие.

Встречающиеся беловато-зеленые семена повилики, так называемые кальцинированные семена, рассыпающиеся при надавливании пинцетом в известковую пыль, не учитываются, так как зародыш у них отсутствует, следовательно, они нежизнеспособны. Однако наличие кальцинированных семян повилики, а также наличие пустых коробочек и пленок семян других карантинных сорняков отмечается в бланке карантинной экспертизы, так как это указывает на засоренность партии семян и в случае ненахождения нормальных семян сорняков для окончательного суждения о карантинном состоянии партии необходимо дополнительно отобрать и проанализировать другой средний образец.

Учет засоренности средних образцов карантинными сорняками ведется по количеству семян на 1 кг веса образца. Обнаруженные в средних образцах виды карантинных и некарантинных сорняков, а также количество первых заносится в журнал и протокол экспертизы.

При досмотре мелких посылок различных семян, идущих для селекционных или коллекционных целей в ботанические сады и в другие научно-исследовательские учреждения, производится полный отбор всех семян и плодов сорняков. Количественный учет карантинных сорняков в этих случаях не проводится и в журнале, а также в протоколе экспертизы указывается только наименование карантинных и всех других сорных растений.

Экспертиза почвы на карантинные сорняки

Любая почва содержит семена, плоды и вегетативные органы сорных растений, поэтому обязательно подвергается экспертизе на карантинные сорные растения. Выделение семян и плодов сорных растений может быть осуществлено следующими тремя методами.

Метод ручного выделения семян заключается в том, что образец почвы частями высыпает на настольное стекло и, пользуясь шпателем, пинцетом и лупой, выбирают все встречающиеся плоды и семена сорных растений. Этот метод очень прост, но он не гарантирует извлечения таких мелких семян, как семена стриг. Пользоваться этим методом удобно для анализа небольших образцов почвы, когда заведомо известно, что в них нет семян стриг и повилик.

Метод отмывки состоит в том, что образец почвы промывают на сите с размером отверстий, который обеспечил бы сохранение всех семян и плодов сорных растений. Этим методом удобно пользоваться при экспертизе больших образцов почвы, которые просмотреть ручным способом невозможно. В этом случае из общего объема почвы отбирается средний образец размером от 50 г до 0,5 кг в зависимости от объема почвы. Последний помещают в одно или несколько сит 15—20 см высоты и около 10—12 см в диаметре с размером отверстий 0,25 мм, а для стриг диаметром отверстий 0,1 мм (можно использовать шелковые сита, употребляемые для вылавливания нематод).

Сита с образцами почв помещают в таз с водой так, чтобы они погружались на $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ высоты. В таком положении сита оставляют на некоторое время, пока вся почва хорошо не размокнет. После этого, держа сито над раковиной, почву промывают легкой струей воды с осторожным помешиванием ее мягкой кисточкой до тех пор, пока из-под сита не пойдет совершенно прозрачная вода. Струя воды должна идти в сито с минимальным напором, чтобы полностью избежать разбрызгивания

и возможного выбрасывания семян из сита. Остаток на сите, состоящий из семян и органических остатков, переносят на фильтровальную бумагу и просушивают.

После просушки весь остаток просеивают через сита с отверстиями 3,5 и 0,1 мм. Затем каждую фракцию просматривают через лупу, а мелкие примеси под биноклем, все встречающиеся семена выбирают и определяют, как это было указано при анализе семян.

Этот метод не совсем удобен для промывки почв суглинистых и супесчаных, после которых на сите остается большой остаток минеральных частей, среди которых очень трудно выделить мелкие семена повилики и стрига. В этом случае лучше пользоваться так называемым физическим методом или, как его еще называют, методом насыщенных растворов.

Метод насыщенных растворов основан на разности удельного веса минеральной части почвы и органической. В среднем удельный вес минеральной части 2,4, а органической части почвы, в том числе и семян, 1,4.

Для приготовления тяжелого раствора можно использовать смесь бромформа (4 части) и серного эфира (4 части по объему). Такой раствор имеет удельный вес 1,7. Этот раствор очень удобен и точен в работе, но аналогичные результаты можно получить и более доступными и дешевыми средствами, такими, как поташ и хлористый цинк. Насыщенный раствор поташа (530 г на 1 л воды) имеет удельный вес 1,57 и хлористого цинка (700 г на 1 л воды) — 1,96. Для приготовления раствора берется подогретая вода и в ней растворяется соль до тех пор, пока на дне сосуда будет оставаться некоторое количество нерастворившейся соли. Раствору дают отстояться и проверяют его удельный вес с помощью ареометра.

Для выделения семян их помещают в тяжелый раствор, осторожно взбалтывают и помешивают стеклянной палочкой. При этом минеральные частицы оседают на дно, органическая часть и семена всплывают на поверхность или будут находиться во взвешенном состоянии.

Все семена вместе с раствором сливают на фильтр и тщательно промывают чистой водой, затем подсушивают и анализируют, как это было указано при методе промывки семян. Этот метод наиболее точен и удобен для выделения мелких семян повилики и стрига.

Семена, удельный вес которых выше указанных растворов, не могут быть выделены этим методом, например семена горчака розового с удельным весом 3,1.

Для полной гарантии выделения всех семян лучше комбинировать метод отмывки и метод тяжелых растворов. В этом случае промывку, просушивание и просеивание проводят, как это было указано при методе отмывки, а самую мелкую фракцию с сита 0,1 мм, содержащую много мелких минеральных частей,

помещают в тяжелый раствор, налитый в химический стакан объемом 0,8—1,0 л, и проводят выделение семян, как это указано было выше для почвы. Результаты экспертизы почвы заносят в протокол и журнал экспертиз с наименованием каждого вида обнаруженных семян сорных растений.

Экспертиза других подкарантинных материалов

Образцы сена, поступающие в лабораторию на экспертизу, тщательно перебираются на настольном стекле. Все встречающиеся стебли с плодами и отдельные плоды (корзинки сложноцветных, ягоды пасленовых, коробочки повилик) выбирают. Затем все крупные части удаляют, а оставшуюся на столе труху просеивают через сита и анализируют по фракциям, как это было указано для зерновых, после чего проводят определение плодов и семян.

Образцы шерсти, волокна хлопчатника и других прядильных культур анализируют таким же образом.

Посадочный материал просматривают на наличие корневищ, лукович и корней многолетних сорняков и стеблей повилик. При обнаружении вегетативных органов или стеблей с плодами сорных растений посадочный материал очищают. В случае невозможности очистки пораженные растения изымают.

В гербариях рассматривают каждый гербарный лист. Обнаруженные карантинные и другие, отсутствующие в СССР растения с плодами и семенами изымают или удаляют у них только плоды и семена, которые затем подвергают термическому обезвреживанию в термостате при температуре 100°C в течение 30—40 минут.

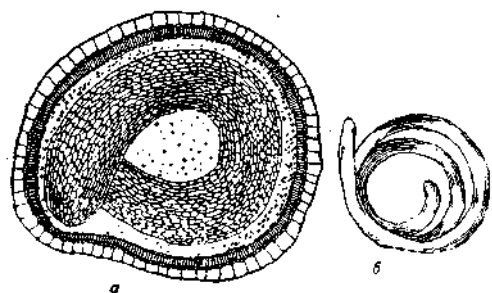
Определение различных видов повилик

Нормально сформировавшиеся зрелые семена повилик опытным глазом легко отличить от всех других семян сорных растений по внешним признакам: семена мелкие, полушаровидной или обратнойцевидной формы с ямчато-щероховатой поверхностью; в суженной части семени расположен круглый рубчик в центре с более светлым пятнышком и часто снабженный лучисто-расходящимися от центра клетками эпидермиса.

Однако в семенном материале попадают деформированные, незрелые, загрязненные семена, потерявшие вследствие тех или иных причин характерные внешние признаки и поэтому трудно поддающиеся определению.

Для определения подлинности таких семян необходимо прибегать к рассмотрению зародыша. Последний у повилик не дифференцирован на семядоли и корешок и представляет собой спирально свернутую нить (рис. 1).

Для рассмотрения зародыша семени повилик помещают в чашку Петри или пробирку и кипятят на спиртовке до набухания оболочки, после чего семена извлекают из воды, просушивают на фильтровальной бумаге и, пользуясь препаровальной иглой и ланцетом, обнажают зародыш. Если семя одно и разрушать его нельзя, то набухшее семя просматривают через лупу или бинокляр. Желтый свернутый зародыш отчетливо виден через набухшую оболочку семени.



Р. с. 1. Разрез зародыша семени повилики европейской *Cuscuta europaеа* L. (a) и зародыш семени повилики тимьяновой *Cuscuta epithymum* Murr. (б).

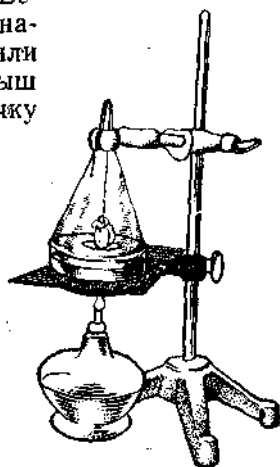


Рис. 2. Прибор для парования семян повилик.

После того, как установлена принадлежность семян к роду повилик (*Cuscutae*), приступают к более трудному определению видов повилик, пользуясь главным образом морфологическими различиями в строении семени. Если же это оказывается недостаточным, можно с помощью срезов дополнительно использовать различия в анатомическом строении семян.

Для получения срезов семян повилики можно пользоваться методикой, разработанной Ореховой Т. А., заключающейся в следующем.

Приготовление среза начинается с предварительного распаривания семян при действии водяных паров. В зависимости от возраста семян распаривание проводится от нескольких минут до нескольких часов. Семена свежесобранные почти не требуют распаривания, пролежавшие несколько дней распариваются в течение 10—15 минут, семена урожая прошлого года — 30—45 минут, двухлетние — 1—3 часа. Чем старше семена, тем больше времени требуется для их распаривания.

Распаривание можно проводить на очень упрощенном приборе (рис. 2). Он состоит из чашки Петри, поставленной на металлическую сетку и покрытой стеклянной розеткой. В чашку Петри наливается вода, а на розетку устанавливается перевернутая воронка. Внутри воронки пропущена нитка, на одном кон-

це которой подвешен марлевый мешочек с семенами, на другом конце — небольшой груз для натягивания нитки с наружной стороны. Все это укреплено на штативе.

После распаривания семена помещают сперва на 4 часа в 50°-ный спирт, а затем на 17 часов в 96°-ный спирт. После обезвоживания семена заливают парафином.

Заливать парафин можно в бумажную четырехугольную коробочку, тщательно смазанную глицерином.

Как только парафин начинает сгущаться, в него вкладывают семена и для быстрого застывания парафина коробочку опускают в холодную воду.

После полного затвердения парафина его освобождают из коробочки и приступают к изготовлению срезов. Последние делаются хорошо отточенной бритвой. Для получения прямого и очень тонкого среза бритву и место среза предварительно смазывают глицерином. Полученные срезы переносят препаровальной иглой на предметное стекло в каплю ксилола для освобождения от остатков парафина. Для расправления среза его из ксилола переносят в глицерин, а затем укрепляют на предметном стекле и накрывают покровным стеклом.

Особенно удачные срезы интересно сохранить на более продолжительное время, для этого препарат закрепляют в глицерин-желатине, рецепт приготовления которого указан в разделе «Фитопатологическая экспертиза».

Кусочек приготовленного глицерин-желатина помещают на предметное стекло и подвергают легкому нагреванию над спиртовой горелкой без доведения глицерин-желатина до кипения. После того как желатин расплавится, в него опускают срез и покрывают покровным стеклом. Для лучшего сохранения среза края покровного стекла обводят асфальтовым лаком.

Главнейшее значение для различия видов повилик по анатомическим срезам имеют: для повилики полевой (*Cuscuta campestris* Junker) соотношение высоты клеток первого и второго палисадных слоев, для повилики тонкостебельной, клеверной и европейской — различия в форме клеток эпидермиса, для повилики льняной — высота клеток эпидермиса. Ниже приводится описание плодов и семян повилик, наиболее часто встречающихся в сельскохозяйственной продукции.

Повилика полевая — *Cuscuta campestris* junker

В семенном материале встречаются коробочки и семена. Коробочка светло-коричневая приплюснуто-шаровидной формы с остатками чашечки и венчика у основания и глубокой ямкой на верхушке.

Семена желтой, желтовато-коричневой или оранжевой окраски, с наружной стороны округлые, с внутренней двугранно-выпуклые, поверхность мелкоямчатая, шероховатая, под лупой на-

поминающая мелкую наждачную бумагу. У основания семени в виде светлого пятка расположен семенной рубчик, в центре с еще более светлым рубцом (след сосудистого пучка).

В разрезе ширина второго палисадного слоя клеток в два-три раза превосходит ширину первого палисадного слоя (рис. 3—4).

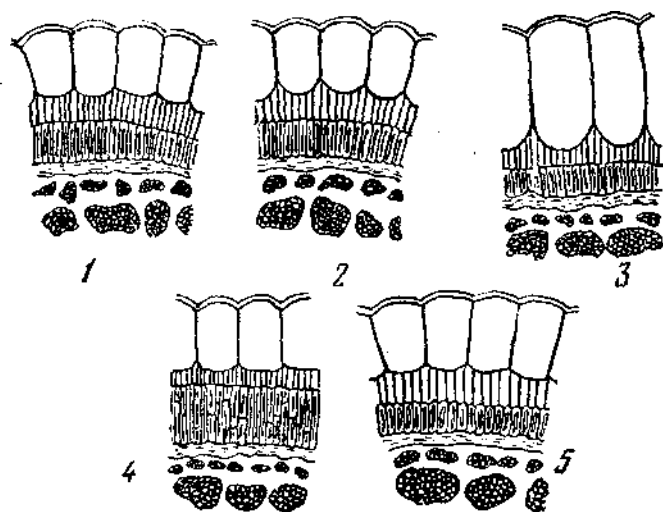


Рис. 3. Анатомические отличия семян видов повилик:
1—повилка тимьяновая *Cuscuta epithymum* Murr.; 2—повилка европейская
C. europaea L.; 3—повилка лыная *C. epilinum* Weiche; 4—повилка
полевая *C. campestris* Turckei Babinet.; 5—повилка толкостебельная
C. approximata Babinet.

Размер коробочек: 2,0—3,5 мм в диаметре; размер семян: длина 0,9—2,0, ширина 0,8—1,5, толщина 0,6—1,3 мм. Вес 1000 семян 0,87 г (рис. 4—5). Очень близки по форме и размерам семена перенной и китайской повилики (рис. 4—6, 4—7).

Повилка тимьяновая — *Cuscuta epithymum* Murr.

Семена мелкие, с наружной стороны полушаровидные, выпуклые с внутренней, в большей или меньшей степени двугранные, шероховато-ямчатые, как бы покрытые мелкой зернистой пылью. Рубчик поверхностный, округлый, окрашен светлее, чем остальная поверхность, окраска светло- и темно-серая, незрелые семена зеленовато-серые. Высота клеток эпидермиса 77—109 μ ; соотношение ширины первого и второго слоев палисадных клеток 1:1 и 1:1,5 (рис. 3—1). Размер семян: длина 0,7—1 мм, ширина 0,6—0,8 мм, толщина 0,4—0,7 мм. Вес 1000 семян 0,4 г; удельный вес 1,20—1,33 (рис. 4—1).

Семена двугранно-выпуклые, округлые, с ясным продольным брюшным ребром. Рубчик радиально-морщинистый плоский, цвет семян серый от покрывающих их частиц лёсса. Ширина вто-

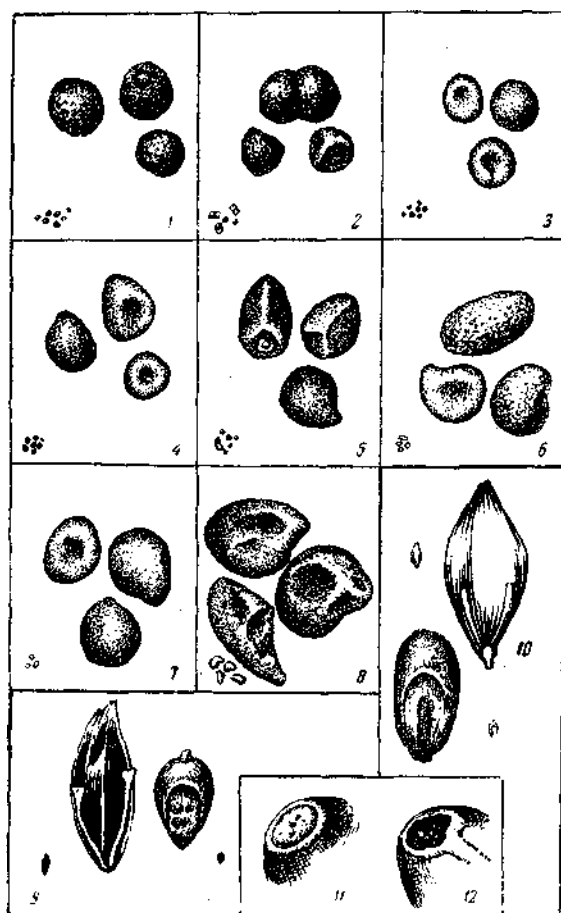


Рис. 4. Семена повилик, гумая и суданской травы: 1-повилика тимьянская—*Cuscuta epilimum* Mill.; 2-повилика льняная—*C. epilinum* Welche; 3-повилика тонкостебельная—*C. approximata* Babingt; 4-повилика европейская—*C. europaea* L.; 5-повилика плевая—*C. campestris* Juncker; 6-повилика персидская—*C. australis* R. Br.; 7-повилика китайская—*C. chinensis* Lam; 8-повилика одностолбиковая—*C. monogyna* Vahl.; 9-колосок и зерновка гумая—*Sorghum halepense* Pers.; 10-колосок и зерновка суданской травы—*Sorghum sudanense* Stapf. 11-основание семени гумая под большим увеличением; 12-основание семени суданской травы под большим увеличением.

рого палисадного слоя в 1,5 раза превосходит ширину первого слоя (рис. 3—5).

Семена мелкие, 0,8 мм в диаметре. Вес 1000 семян 0,4 г, удельный вес 1,20—1,35 (рис. 4—3).

Повилика льняная — *Cuscuta epilinum* Weiche

Семена шаровидной формы, часто сдавлены с боков и со спинки, зеленовато- или желтовато-серые, с более крупной ямчатостью, напоминающей губку. Клетки эпидермиса крупные, в 1,5—2 раза превышающие клетки эпидермиса у повилики клеверной (рис. 3—3). Часто встречаются двойные семена. Размеры семян:

	Одночных	Двойных
Длина	1,1—1,4 мм	2,0—2,2 мм
Ширина	0,9—1,1 "	0,9—1,1 "
Толщина	0,56 "	1,30 "
Вес 1000 семян	0,5—0,6 г	0,8—0,9 г
Удельный вес	1,0—1,1	1,0—1,1

Повилика европейская — *Cuscuta europaea* L.

Семена обратнояйцевидной формы, желтовато-коричневые или черные, менее шероховатые, чем у предыдущих видов, и часто блестящие от мелких чешуек. Рубчик крупный, округлый, углубленный (рис. 4—4).

Ширина второго палисадного слоя клеток почти равна или немного превосходит ширину первого палисадного слоя. Клетки эпидермиса имеют округлые нижние стенки, сильно вогнутые в первый палисадный слой (рис. 3—2). Диаметр семени 0,8—1,4 мм, вес 1000 семян — 0,45 г, удельный вес — 1,20—1,30.

Семена древесных повилик (рис. 4—8) значительно крупнее всех вышеуказанных повилик и в сельскохозяйственной продукции встречаются крайне редко.

Определение семян гумая

Как было сказано выше, семена злостного корневищного сорняка гумая трудноотличимы от семян культурного растения — суданской травы. Семена обоих видов представляют собой ложный плод — колосок, или зерновку, заключенную в колосковые кожистые и цветочные пленчатые чешуи. Наиболее характерным отличительным признаком является строение основания колоска.

У сорного растения — гумая, приспособившегося к самоосыпанию семян у основания колоска, так же как и у овсюга, имеет-

ся сочленение (рис. 4—9). У культурного вида — суданской травы, селекция которой велась на отбор неосыпающихся сортов, сочленение у основания отсутствует и отделение колосков от стержня метелки всегда связано с разрывом тканей (рис. 4—10).

При экспертизе для отличия семян гумая от семян суданской травы следует пользоваться целым рядом и других отличительных признаков, которые, изложены ниже.

Признаки	Гумай	Суданская трава
1. Цвет колосковых чешуй	Преобладают темные тона: коричнево-черный, интенсивно-фиолетовый, реже желтый и серый	Преобладают светлые тона: солоmistый, серый, желтый, реже темно-красный
2. Форма колоска	веретеновидная	овальная или веретеновидная
3. Стерженьки на брюшной стороне (внутренней колосковой чешуе)	округлые на верхушке с чашевидным углублением	плоские с неровным изломом, часто совсем отсутствуют
4. Основание колоска	округлая, ровная площадка с гладкой поверхностью. Обломок стержня колоска, как правило, отсутствует	как правило, имеется обломок стержня колоска с неправильным изломом
5. Цвет зерновки (без колосковых чешуй)	всегда темный, кирпично-красный	обычно светлых оттенков
6. Консистенция зерновки	всегда стекловидная	часто мучнистая или полустекловидная
7. Размер колосков:		
длина	2,5 — 3,5 мм	4,5 — 7,0 мм
ширина	1,7 — 2,8 "	1,8 — 2,9 "
толщина	1,0 — 2,0 "	1,2 — 2,2 "
8. Размер зерновок:		
длина	2,5 — 4,6 "	3,4 — 4,9 "
ширина	1,3 — 2,3 "	1,7 — 2,8 "
толщина	0,8 — 1,3 "	1,1 — 2,0 "

При равной длине колосков зерновки гумая всегда значительно меньше по размерам, чем зерновки суданской травы.

Иногда встречаются семена со стерженьками на брюшной стороне, очень похожими на гумай (с чашевидными углублениями на концах), но с обломком стержня у основания, характерным для суданской травы, или семена, совсем не имеющие ни стерженьков на брюшной стороне, ни обломка стержня у осно-

вания колоска. Установление идентичности таких семян представляет наибольшую трудность и определять их следует под большим увеличением, пользуясь следующими отличительными признаками, видимыми под биноклем с окуляром 10х и объективом 4 (рис. 4—11, 12):

Признаки	Гумай	Суданская трава
1. Основание семени	Округлая ровная площадка, окаймленная гладким выступающим над поверхностью валиком. Середина площадки несколько выпуклая	Поверхность основания с ясно выраженными следами излома
2. Утолщенная верхушка брюшных стержневиков	чашевидное углубление с ровными краями. В центре один или два бугорка, не превышающие краев углубления	верхушка углублена, в центре 1—2 округлые трубочки. Края углубления и трубочек с ясно выраженными следами излома (неровные, разной высоты и толщины)

Описание отдельных видов семян карантинных сорняков

Амброзия полыннолистная — *Ambrosia artemisiifolia* L.

В сельскохозяйственной продукции встречаются ложные плоды и семянки.

Ложные плоды обратнойцевидной или округлой формы, иногда немного ребристые, с боков клиновидно сжатые, с 5—10 шипиками вокруг верхней выпуклой части и одним более крупным в центре ее на верхушке (рис. 3—1а). Цвет ложных плодов варьирует от серого до черного, а иногда от светло-желтого до горохового. Иногда плоды покрыты продольными или поперечными полосами. Поверхность плода крупно-сетчатая, морщинистая.

Размеры плодов: длина 2,5—4,5 мм, ширина 1,5—2 мм, толщина 1,5—1,75 мм. Вес 1000 штук семян 1,57—3,68 г.

Семянки, освобожденная от обертки, сверху куполовидной формы, на вершине с небольшим выступом (рис. 5—1б).

Резко сужаясь к основанию, семянка на одной трети длины от основания становится трехгранной. Плодовый рубчик боковой, большой, выпуклый, беловато-желтого цвета. Поверхность семянки гладкая, блестящая от оливково-серой до коричнево-черной окраски. Размеры семянок: длина 1,5—2,5 мм, ширина 1,2—1,5, толщина 1—1,2 мм. Вес 1000 семянок 2,25—2,5 г, удельный вес 1,20—1,29.

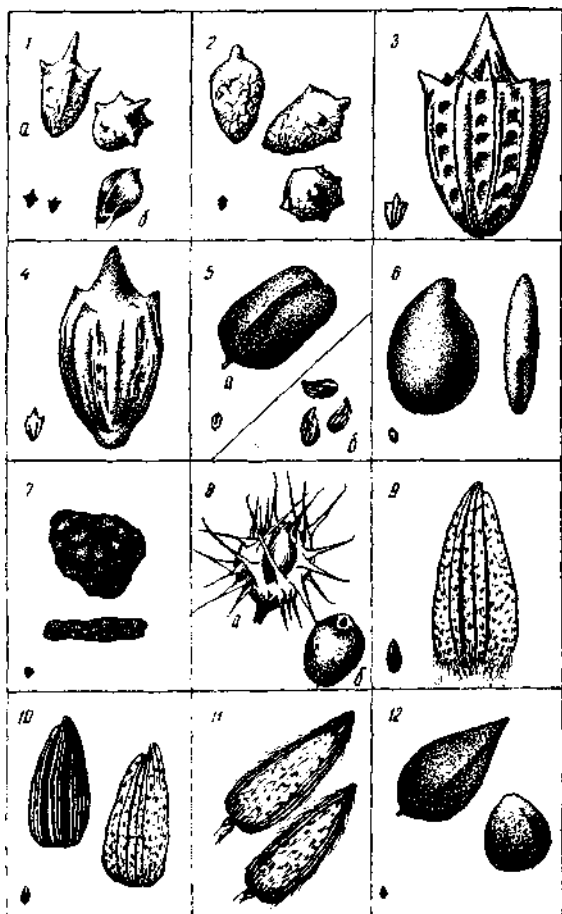


Рис. 5. Семена и плоды карантинных сорняков:
 1-амброзия полыннолистная—*Ambrosia artemisiifolia* L., (а—плоды, б—семянки); 2-амброзия многолетняя (плод) *A. Psilostachya* DC.; 3-амброзия трехраздельная (плод) *A. trifida* L.; 4-амброзия приморская (плод)—*A. maritima* L.; 5-стрига желтая—*Striga lutea* Lour. (а—коробочки, б—семена); 6—паслен каролинский—*Solanum carolinense* L.; 7—паслен клювовидный—*Solanum rostratum* DuRoi.; 8—ценхрус якорцевый—*Cenchrus tribuloides* L. (а—плод, б—зерновка); 9—подсолнечник шероховатый—*Helianthus scaberrimus* Benth.; 10—подсолнечник сорный—*H. ruderalis* Venz. (*H. annuus* L.); 11—подсолнечник жесткий—*H. rigidus* Desf.; 12—бузинник пазушный, или ива многолетняя—*Iva axillaris* Pursh.

Амброзия многолетняя — *Ambrosia psilostachya* Dc.

В сельскохозяйственной продукции встречаются и ложные плоды и семянки. Покровы ложного плода очень тонкие, легко ломаются, обнажая голую, блестящую, зеленовато-оливковую

семянку, по строению и размерам трудно отличимую от семянки амброзии полыннолистной.

Ложный плод яйцевидной формы, с тупым небольшим шипиком на вершине (рис. 5—2). Краевые шипики чуть заметны или их совсем нет. Поверхность семян сетчато-морщинистая, желтовато-серого цвета. Незрелые плоды сильно опушенные, вызревшие — редко опушенные или совсем голые. Размеры плодов: длина 3—4 мм, ширина 1,5—2,0 мм.

Амброзия трехраздельная — *Ambrosia trifida* L.

В сельскохозяйственной продукции встречаются только ложные плоды. Последние широко обратнояйцевидной формы с небольшим тупозаканчивающимся шипиком на верхушке и 4—8 шипиками по краям. От боковых шипиков вниз до основания обертки идут выпуклые ребра (рис. 5—3). Цвет ложных плодов варьирует от бледно-желтого до коричневого и бурого. Иногда плоды пятнистые с антоциановой окраской. Рубчик размещается у основания семени. Плоды значительно крупнее, чем у амброзии полыннолистной: длина 5—8 мм, ширина 2,4—6 мм, толщина 1,8—3,8 мм. Вес 1000 плодов 18 г, удельный вес 0,8—1,0.

Амброзия приморская — *Ambrosia maritima* L.

Семена яйцевидные, с двумя боковыми ребрами, со слабо-выраженными краевыми шипиками, сильно сближенными, почти сросшимися на вершине (рис. 5—4). Поверхность семян морщинистая, соломенно-желтого цвета. Семена по размерам близки к амброзии трехраздельной. Длина 0,5 мм, ширина 0,3 мм.

Стриги

В семенном материале могут встречаться коробочки и семена стриги.

Плоды и семена всех стриг очень похожи и поэтому мы ограничимся описанием наиболее распространенного вида — стриги желтой *Striga lutea* Lour.

Коробочка удлинненно-овальная, сдавленная с боков, с желобком по шву (рис. 5—5). Длина 3,2—7,6 мм, ширина 2,5—3,2 мм. Семена в очертании косо-овальные, темно-бурые с волнистой или морщинистой поверхностью. Размер семян 0,15—0,20 мм в длину. В одном грамме насчитывается 195 000 семян.

Семянка яйцевидной или клиновидной формы (рис. 5—12), от серого до почти черного цвета, без хохолка. Семена бузинника пазушного очень похожи на семена произрастающего в СССР вида бузинника дурнишниковидного (*Iva xanthifolia* Nutt), но несколько короче (2,5 мм длиной против 3 мм у второго) и шире (2 мм против 1,5) с резко выраженным в виде пятачка рубчиком.

Паслен каролинский — *Solanum carolinense* L.

Плод — ягода, круглая, гладкая, зелено-желтоватого или желто-оранжевого цвета, в диаметре от 1,25 до 2,5 см.

В одной ягоде содержится от 40 до 60 семян размером от 2 до 3 мм в поперечнике и около 0,3—0,5 мм толщиной. Семена плоские или дисковидные, в очертании округлые или неправильно угловатые (рис. 5—6), желтого или желто-коричневого цвета, блестящие, иногда потускневшие вследствие подсыхания и почернения мякоти плода, в которой образовались эти семена. Поверхность семян слабоямчатая или сетчатая, что особенно ясно видно при рассмотрении под лупой или биноклем. Семена паслена каролинского внешне очень похожи на семена физалиса, но несколько крупнее и с менее ярко выраженной ямчатостью поверхности.

Паслен клювовидный, или колючий — *Solanum rostratum* Dup.

В сельскохозяйственной продукции могут встречаться плоды и семена. Плод — одногнездная, полусухая ягода, заключенная в разросшейся сплошь покрытой крепкими соломистыми игловидными колючками чашечке. Плод яйцевидной формы, на вершине двурогий. Плоды в диаметре до 1 см. Семена округлопочковидной формы (рис. 5—7), темно-коричневой или черной окраски, с боков сплюснуты.

Поверхность семян грубаямчатая, морщинистая, рубчик в виде углубления в нижней, суженной части семени. Размер семян: длина 2,6—3,0 мм, ширина 1,75—2,0 мм, толщина 1,0—1,25 мм. Вес 1000 семян 3,0—3,6 г, удельный вес 1,20—1,25.

Ценхрус якорцевый — *Cenchrus tribuloides* L.

В шерсти и в семенном материале встречается главным образом соплодие-репяшек, представляющий собой колос со многими сидящими колосками (рис. 5—8а), но в семенах могут встречаться и отдельные зерновки ценхруса. Колосковые пленки,

грубые, соломистого цвета, к основанию расширенные, а кверху игловидно-заостренные, колючие, опушенные. Обычно в одном соплудии-репешке имеются две зерновки, заключенные в толсто-пленчатые беловато-желтоватые цветочные чешуи. Зерновки пенхруса светло-коричневая, плоская, в очертании овальная, с семенным рубчиком в виде небольшого черного пятнышка на выпуклой стороне у основания семени (рис. 5—8б). На верхнем конце семени заметен остаток пестичного столбика. Длина репешка до 1 см. Размер зерновки: длина 2,1—3,5 мм, ширина 1,8—2,3 мм, толщина 1,0—1,4 мм.

Подсолнечник сорный — *Helianthus ruderalis* Venzl. H. annuus L.

Семена всех видов сорных подсолнечников по форме очень напоминают семена культурного подсолнечника, но меньших размеров и часто с хорошо заметным опушением. Окраска семян очень варьирует и не является характерным признаком для определения.

Семянка подсолнечника сорного почти голая или чуть опушенная на вершине, овальной или клиновидной формы, слегка четырехгранная, плоская, длиной 4—6 мм, белая, серая или черно-коричневая, с более светлыми полосами или пестрая (рис. 5—10).

Хохолок из двух солоmistых чешуек, опадающий.

Подсолнечник жесткий — *Helianthus rigidus* Desf.

Семянка продолговато-яйцевидная, темно-коричневая, опушенная, особенно на резко выраженных боковых ребрах. На вершине семени имеются две широкие чешуйки с несколькими узкими, заостренными остями (рис. 5—11). Длина семянки с чешуйками 8—10 мм, без чешуек 6—7 мм, ширина у вершины до 2 мм.

Подсолнечник шероховатый — *Helianthus scaberrimus* Benth.

Семянка яйцевидная, бурого, черного или пестрого цвета, покрыта прижатыми волосками, длина семян 6—7 мм (рис. 5—9).

Оборудование

При проведении экспертизы на сорные растения необходимо следующее оборудование:

1. Доски для разбора семян или настольные стекла
2. Весы на 2 кг
3. Бинокляр или микроскоп стереоскопический МБС-1

4. Лупы ручные разных увеличений
5. Лупы надлобные
6. Шпатели металлические или пластмассовые
7. Пинцеты металлические
8. Ланцеты металлические
9. Препаровальные иглы
10. Совочки металлические
11. Щупы мешочные
12. Щупы цилиндрические
13. Щупы конусные
14. Сита зерновые (набор размером ячеек от 3 мм до 0,1 мм)
15. Сушильный шкаф электрический
16. Розетки или часовые стекла
17. Часы песочные трехминутные
18. Чашки Петри
19. Воронки разных размеров
20. Предметные и покровные стекла
21. Колбы
22. Банки с притертыми пробками
23. Мензурки разной величины
24. Цилиндры стеклянные на 0,5 л
25. Спиртовка
26. Штатив металлический
27. Сетка металлическая
28. Бритва
29. Коллекции семян сорных растений, в т. ч. карантинных
30. Гербарий растений, в т. ч. карантинных

Хранение и пересылка образцов карантинных сорняков

Все обнаруженные при экспертизе плоды, семена и гербарные образцы карантинных сорных растений сохраняются в лаборатории в течение шести месяцев, а затем используются для пополнения коллекций и гербариев. Но и в последнем случае их полностью не обезличивают, а в этикетке проставляют страну происхождения. Для коллекционных целей используются также все образцы некарантинных сорняков.

Неизвестные виды сорных растений направляются на определение в Центральную лабораторию или республиканские лаборатории по карантину сельскохозяйственных растений.

При отсылке образцов следует правильно их этикетировать. Семена и плоды каждого вида в отдельности под определенным номером помещают в пакетик. Наверху пакетика подписывают номер образца, наименование продукции, из которой выделен образец, страну происхождения, дату анализа и подпись лица,

проводившего анализ. Таковую же этикетку вкладывают внутрь пакетика, после чего его плотно заклеивают. Гербарные образцы растений также этикетируют и завертывают в бумагу, чтобы избежать возможности рассыпания семян и плодов во время пересылки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Каменский К. В. Методика исследования качества посевного материала, Сельхозгиз, М., 1935.

Котт С. А. Карантинные сорные растения и борьба с ними, Сельхозгиз, М., 1955.

Ларионов Д. К. Амброзія полинолиста і боротьба з нею, Державне видавництво сільськогосподарської літератури Української РСР, Київ, 1952.

Леньков П. В. Семена полевых сорных растений европейской части СССР, Госуд. издательство сельскохозяйственной и колхозно-кооперативной литературы, М.-Л., 1932.

Майсунян Н. А. и Атабекова А. И. Определитель семян и плодов сорных растений. Гос. издательство сельскохозяйственной и колхозно-кооперативной литературы, М.-Л., 1931.

Муравьева Е. П. Физико-механические свойства семян и плодов сорных растений, Сельхозгиз, М., 1952.

Орехова Т. А. Технический прием изготовления анатомических срезов семян. Записки по семеноведению Гл. Бот. сада, т. VI, вып. № 2, 1928.

Фирсова М. К. Методы исследования и оценка качества семян, Сельхозгиз, М., 1955.

Muenschel W. C. «Weeds», Нью-Йорк, 1955.

Материалы по методике учета сорной растительности, издание ЛОБИУАА, Л., 1937.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	3
Часть I. Энтомологическая экспертиза	
Основные принципы энтомологической экспертизы	5
Общие правила энтомологической экспертизы	7
Экспертиза семян	10
Зараженность образцов семян вредителями и типы повреждений	11
Методы экспертизы семян	16
Экспертиза посадочного и прививочного материала плодовых и ягодных культур	19
Зараженность посадочного и прививочного материала вредителями	20
Техника экспертизы посадочного и прививочного материала	25
Экспертиза клубней картофеля	27
Признаки заражения клубней картофеля вредителями	28
Методы анализа клубней картофеля	29
Экспертиза луковиц и других подземных частей растений	30
Зараженность вредителями луковиц и других подземных частей растений	30
Методы экспертизы луковиц и других подземных частей растений	31
Экспертиза плодов цитрусовых культур	33
Зараженность плодов цитрусовых вредителями и признаки заражения	34
Методика экспертизы плодов цитрусовых	36
Экспертиза свежих яблок и груш	37
Зараженность яблок и груш вредителями и методика экспертизы	38
Экспертиза сухофруктов	39
Зараженность сухофруктов вредителями	40
Методика экспертизы сухофруктов	40
Экспертиза пряностей	41
Виды вредителей, встречающиеся в пряностях	42
Методика экспертизы пряностей	43
Экспертиза бобов какао и зерен кофе	43
Виды вредителей, встречающиеся в бобах какао и зернах кофе	44
Техника энтомологического лабораторного анализа	45
Оборудование	45
Микроскопические препараты	48
Фиксация и хранение насекомых	56
Список литературы	58
Часть II. Фитопатологическая экспертиза	
Экспертиза семян	62
Анализ семян хлопчатника на выявление антракноза	63
Анализ семян кукурузы на выявление сухой гнили (диплодииза)	64
Анализ семян льна на выявление «пасмо»	67

Анализ семян пшеницы, риса и ячменя на выявление видов головни	69
Анализ семян на выявление южной склероциальной гнили	71
Экспертиза клубней, луковиц и других подземных частей растений	72
Экспертиза живых растений	73
Анализ саженцев и черенков лимона на выявление «мальсекко»	74
Анализ саженцев на выявление техасской корневой гнили	75
Анализ саженцев на выявление южной склероциальной гнили	77
Экспертиза почвы на зараженность возбудителем рака картофеля	78
Техника фитопатологического лабораторного анализа	84
Оптика	84
Аппаратура	87
Подготовка лабораторной посуды	89
Стерилизация питательных сред и посуды	91
Приготовление питательных сред для грибов	92
Выделение грибов из различного растительного материала	97
Микроскопические препараты	101
Список литературы	102

Часть III. Бактериологическая экспертиза

Экспертиза семян и растений кукурузы	104
Анализ семян кукурузы на выявление возбудителя бактериально-го увядания (вилта)	104
Анализ живых растений кукурузы на выявление возбудителя бактериального увядания	106
Экспертиза плодов и посадочного материала цитрусовых культур	107
Анализ на выявление рака цитрусовых	107
Анализ на выявление ожога цитрусовых	108
Экспертиза посадочного материала и укорененных растений маслич на выявление возбудителя туберкулеза	111
Экспертиза посадочного материала плодовых (семечковых и косточковых) на выявление ожога	113
Экспертиза плодов и растений томатов на выявление возбудителя бактериального рака	115
Техника бактериологического лабораторного анализа	118
Оборудование	118
Подготовка лабораторной посуды	120
Приготовление питательных сред для выращивания бактерий	121
Реактивы для определения бактерий и их свойств	125
Краски и индикаторы	126
Методы выделения фитопатогенных бактерий	127
Определение морфологических и культуральных свойств бактерий	129
Правила карантинной профилактики	133
Список литературы	133

Часть IV. Фитогельминтологическая экспертиза

Экспертиза семян риса на выявление рисовой нематоды	135
Экспертиза растений риса на выявление рисовой нематоды	136
Экспертиза зерновых культур на выявление пшеничной нематоды	138
Экспертиза рассады земляники на выявление земляничной нематоды	138
Экспертиза черенков черной смородины на выявление смородиновой нематоды	141
Экспертиза клубней, луковиц, корнеплодов и других подземных частей растений на картофельную нематоду	142
Анализ почвы на зараженность картофельной нематодой	146
Техника фитогельминтологического лабораторного анализа	148
Оборудование	148
Подготовка лабораторной посуды и инструментов к анализу	149
Выделение нематод из растительного материала	149
Приготовление микроскопических препаратов	151

Измерение нематод
Пересылка, фиксация и хранение гельминтологических материалов
Список литературы

Часть V. Экспертиза на карантинные сорные растения

Экспертиза семян и зерна
Экспертиза почвы на карантинные сорняки
Экспертиза других подкарантинных материалов
Определение различных видов повилик
Повилика полевая
Повилика тимьяновая
Повилика тонкостебельная
Повилика льняная
Повилика европейская
Определение семян гумая
Описание отдельных видов семян карантинных сорняков
Амброзия полыннолистная
Амброзия многолетняя
Амброзия трехраздельная
Амброзия приморская
Стриги
Бузинник пазушный, или ива многолетняя
Паслен каролинский
Паслен клювовидный, или колючий
Ценхрус якорцевый
Подсолнечник сорный
Подсолнечник жесткий
Подсолнечник шероховатый
Оборудование
Хранение и пересылка образцов карантинных сорняков
Список литературы

Редактор В. В. Блохина.

Техн. редактор И. В. Печенкин.

T-07014. Подп. к печати 24/IV 1960 г. Формат бумаги 60×92¹/₁₆. Бум. л. 55;
Печ. л. 11,0; Заказ № 4348, Тираж 7200 экз. Цена 5 руб. 30 коп.

Ивановская областная типография. г. Иваново. Типографская, 6.