

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний аграрний університет імені В.В. Докучаєва

М.О. Білик, С.В. Станкевич, І.В. Забродіна

ПАТОЛОГІЯ КОМАХ-ФІТОФАГІВ

Навчальний посібник

Харків – 2017

УДК 632.7(075.8)

ББК П468.6я7

Б 61

Рекомендовано до видання вченою радою Харківського національного аграрного університету ім. В.В. Докучаєва (протокол № 4 від 29 червня 2017 р.)

Рецензенти: **Білецький Є.М.**, доктор біол. наук, професор, академік Академії наук вищої освіти України, завідувач кафедри зоології та ентомології ім. Б.М. Литвинова ХНАУ ім. В.В. Докучаєва;
Яровий Г.І., доктор с.-г. наук, професор, завідувач кафедри плодощовочівництва ХНАУ ім. В.В. Докучаєва;
Петренко В.П., доктор с.-г. наук, професор, чл.-кор. НААН України, головний науковий співробітник лабораторії імунітету рослин до хвороб та шкідників Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва

Білик М.О.

Б61 Патологія комах-фітофагів: навч. посібник / М.О. Білик, С.В. Станкевич, І.В. Забродіна / Харк. нац. аграр. ун-т ім. В.В. Докучаєва. – Харків: ФОП Бровін О.В., 2017. – 185 с.

ISBN ????????????

Висвітлено вірусні, бактеріальні, грибні, протозойні та нематодні хвороби комах-фітофагів як один з чинників обмеження масового розмноження шкідників у природних умовах. Наведено характеристики інсектицидних препаратів на основі мікроорганізмів та біологічно активних речовин. Описано методи оцінки якості мікробіологічних інсектицидних препаратів.

Призначено для підготовки фахівців аграрних вищих навчальних закладів II–IV рівнів акредитації зі спеціальностей 202 «Захист і карантин рослин» та 201 «Агрономія». Може бути корисним фахівцям із захисту рослин, науковим співробітникам і агрономам господарств різних форм власності, слухачам закладів післядипломної освіти, викладачам, аспірантам і студентам біологічних та сільськогосподарських спеціальностей вищих навчальних закладів, а також усім тим, кого цікавить екологічно орієнтований захист рослин.

ББК П468.6я7
УДК 632.7(075.8)

© Білик С.О., Станкевич С.В.,
Забродіна І.В., 2017
© Харківський національний
аграрний університет
ім. В.В. Докучаєва, 2017
© Дизайн обкладинки
Станкевича С.В., 2017

ISBN ????????????

З М І С Т

Вступ.....	4
1. Грибні хвороби (мікози).....	5
2. Бактеріальні хвороби (бактеріози).....	16
3. Віруні хвороби (вірози).....	22
4. Протозойні хвороби (протозоозози).....	30
5. Нематодні хвороби (нематодози, гельмінтози).....	36
6. Хвороби змішаного типу.....	42
7. Облік хвороб комах-фітофагів.....	44
8. Діагностика комах-фітофагів на ураженість хворобами.....	52
8.1. Мікроскопічний аналіз.....	55
8.2. Спеціальні методи фарбування збудників хвороб комах	58
8.3. Метод наведеної люмінесценції.....	61
8.4. Мікробіологічний аналіз.....	66
8.5. Техніка виділення культур збудників хвороб комах.....	71
8.6. Техніка очищення збудників вірусних і протозойних хвороб	
комах.....	72
8.7. Випробування патогенних властивостей збудників хвороб	
комах.....	73
9. Класифікація і препаративні форми біопрепаратів.....	76
9.1. Грибні препарати.....	78
9.2. Бактеріальні препарати.....	92
9.3. Вірусні препарати.....	104
9.4. Нематодні препарати.....	112
9.5. Препарати на основі біологічно активних речовин.....	123
10. Оцінка якості мікробіологічних препаратів.....	126
Тестові завдання для перевірки знань.....	139
Термінологічний словник.....	158
Рекомендована література.....	173
Додатки.....	177

Присвячується 85-річчю факультету захисту рослин Харківського національного аграрного університету ім. В.В. Докучаєва

ВСТУП

У регуляції чисельності комах-фітофагів надзвичайно важливе значення мають їхні природні вороги, зокрема ентомопатогенні мікроорганізми, а також продукти їх життєдіяльності та біологічно активні речовини.

Відомі такі хвороби комах: грибні (мікози), вірусні (вірози), бактеріальні (бактеріози), протозойні (протозоозози), нематодні (нематодози), хвороби змішаного типу.

Ентомопатогенні мікроорганізми належать до різних груп – вірусів, бактерій, грибів, найпростіших, нематод. На їх основі створено мікробіологічні препарати, які широко застосовуються в захисті рослин і сприяють отриманню екологічно чистої продукції.

Для того, щоб ефективно застосовувати ці засоби на практиці, студенти повинні знати основи систематики, біології та екології ентомопатогенних мікроорганізмів, методики їх виявлення, технології масового розведення, застосування й зберігання, визначення якості і технічної ефективності.

У результаті вивчення цих питань студенти повинні навчитися визначати видовий склад ентомопатогенних мікроорганізмів, їхню чисельність, уміти розраховувати потребу в біопрепаратах і виготовляти робочі розчини.

Хвороби комах-фітофагів – один з чинників обмеження масового розмноження їх у природних умовах, однак вивченню хвороб до останнього часу приділялося дуже мало уваги. Тим часом дані про епізоотії шкідливих комах та інших груп шкідників рослин у природі необхідні як для складання прогнозів їхнього масового розмноження, так і для розробки мікробіологічного методу боротьби з ними. Ці дані можуть бути корисні тільки у випадку правильно поставленого діагнозу й аналізу умов, що впливають на загибель комах від захворювань.

1. ГРИБНІ ХВОРОБИ (МІКОЗИ)

Представники ентомопатогенних грибів належать до шести класів із семи. Практичне значення для біологічного захисту мають гриби з класів зигоміцетів і недосконалих грибів або дейтероміцетів. Кількість ентомопатогенних грибів становить понад 530 видів. Вони проникають у порожнину тіла шкідників через шкіряні покриви за допомогою різноманітних ферментів (хітинази) або шляхом утворення на поверхні кутикули булавоподібних потовщень (апресоріїв). Через здуття ростки міцелію проникають у порожнину тіла.

Група грибних хвороб дуже велика і визначається як кількістю видів грибів, що викликають хвороби, так і кількістю видів комах, що уражаються ними. Комахи, уражені грибами, твердіють, стають крихкими, на поверхні тіла часто утворюється наліт – міцелій і конідієносці зі спорами гриба.

Особливо раптові та спустошливі епізоотії, що призводять до масової загибелі комах, викликаються ентомофторовими грибами з класу Зигоміцетів (ентомофтороз). До них належать гриби родів *Entomophthora*, *Massospora*, *Tarichium*. Рідше трапляються мікози, що спричинюються незавершеними і сумчастими грибами.

У разі ентомофторозів хворі особини звичайно скупчуються на верхніх частинах рослин, муміфікуються й фіксуються до субстрату ризоїдами гриба.

Збудниками ентомофторозу є такі види: *Entomophthora muscae* Fres. (мухи), *E. thaxteriana* Petch. (павутинні кліщі), *E. aphidis* Hoffm. (попелиці), *E. sphaerjsperma* Fres. (ковалики, капустяний білан, молі, мухи, щитівки та ін.), *E. aulicae* Wint. (лускокрилі), *Massospora cleoni* Wize, *M. bothynoderi* Witsch. (бурякові довгоносики), *Tarichium atospermum* Petch. (попелиці), *T. gammae* Waiser (совки).

Спостерігаються такі симптоми, як концентрація комах перед загибеллю на верхніх частинах рослин, здуття і розм'якшення черевця з наступною муміфікацією, проростання конідієносців з конідіями у вигляді бархатистого нальоту в міжсегментних складках тіла. Прикріплення трупів грибними тяжами – ризоїдами через ротові органи або середньою частиною тіла.

У гемолімфі, жировому тілі і м'язах помітні клітини різноманітної форми (гіфальні тіла) великого розміру (40–100 мікрон). Міцелій у діаметрі до 11 мікрон, без перегородок. У деяких видів грибів трапляються круглі клітини з подвійними оболонками – спори чпокою.

Культивування проводиться переважно на живильних середовищах органічного складу.

Хвороби комах, збудниками яких є гриби з класу Дейтеромицетів, часто називаються мускардинозами.

Мускардинози супроводжуються рясним грибним нальотом білого, зеленого або чорного кольору. Для червоної мускардини характерна відсутність нальоту на поверхні тіла хворих і загиблих особин. Внутрішні органи трупів перетворюються в порошок цегляно-червоного кольору, що полегшує діагностику хвороби.

Відомо декілька мускардинових хвороб, що зовні розрізняються за кольором грибного нальоту на трупах комах. Ці хвороби зветься відповідно біла, зелена та рожева мускардина.

Основні види ентомопатогенних грибів із класу Дейтеромицети: *Verticillium (Cephalosporium) lecanii* Zimm. (білокрилки, попелиці, трипси, несправжні щитівки), *Paecilomyces farinosus* Brow. (клопи, рівно крилі хоботні, двокрилі, перетинчастокрилі), *Beauveria bassiana* (Bals) Vuil. (жуки, клопи, прямокрилі, метелики, кліщі), *B. tenella* Siem. (жуки, лускокрилі, перетинчастокрилі), *Metarrhizium anisopliae* Sor. (личинки жуків, гусениці АБМ та ін.), *Fusarium nivale* Les. (жовта, комоподібна, каліфорнійська та інші щитівки), *Coniothyrium piricolum* Potebnia (каліфорнійська щитівка), *Aschersonia aleurodes* Webber (білокрилки).

На м'яких тканинах уражених комах з'являються темні плями, спостерігається муміфікація тіла, проростання міцелію з конідіальним нальотом різного кольору на поверхню тіла.

Під мікроскопом у гемолімфі та жировій тканині видно членистий міцелій, від якого відокремлюються подовжено-овальні клітини, що брунькуються (гіфальні тіла). У препараті з нальоту містяться: гіфи міцелію і конідії різної форми.

Бурхливий ріст грибів у процесі культивування можливий на картопляному середовищі, пивному суслі, сусло-агарі та інших середовищах.

Мікози, які спричинюються сумчастими грибами (*Cordyceps militaris* уражує лускокрилих і двокрилих) характеризуються тим, що тіло комах перетворюється в склероції і вкривається сплетенням грибних гіф, що утворюють одиничні або групи булавоподібних плодових тіл, що сягають у діаметрі від 3–5 мм до кількох сантиметрів.

У препараті з внутрішніх тканин і з поверхні тіла комах помітно тонкий міцелій, у сумчастій стадії спостерігається утворення перитеціїв із сумкоспорами здебільшого циліндричної форми.

Гриб культивується на рисовому агарі й синтетичному середовищі з органічними сполуками.

**Основні систематичні групи грибів, що впливають на
чисельність комах-фітофагів**

Клас	Ряд	Родина	Рід і вид
1	2	3	4
Хітридіоміцети Chytridiomycetes	Хітридієві Chytridiales	Хітридієві Chytri diaceae	<i>Coelomycidium</i> <i>C. simuli</i>
		Цельмоцієві Coelomomycetaceae	<i>Ceolomyces</i> <i>C. psorophora</i>
	Баготокладієві Blastoclamdiales	Катенарієві Catenariaceae	<i>Catenaria</i> <i>C. anguillulae</i>
Ооміцети Oomycetes	Сапролешієві Saprolegymales	Saprolegyniaceae	<i>Zoophagus</i> <i>Z. insidans</i>
	Лангенідієві Langenidiales	Langenidiaceae	<i>Langenidium</i> <i>L. giganteum</i>
Зигоміцети Zygomycetes	Ентомофторові Entomophthorales	Entomophthoraceae	<i>Entomophthora</i> <i>E. grylli</i>
	Зоопагальні Zoopagales		<i>Pandora</i> <i>P. neoaphidis</i>
Трихоміцети Trichomycetes	Гарпелові Harpellales	Геністелові Genistellaceae	<i>Smittium</i> <i>S. cuisetci</i>
Аскоміцети, або сумчасті гриби Ascomycetes	Клавіцеспорові Clavicipitales	Clavicipitaceae	<i>Cordyceps</i> <i>C. militariuns</i> <i>C. ciavulata</i>
	Міриангінальні Myriangiales	Myriangiaceae	<i>Myriangium</i> <i>M. duriaei</i>

Продовження табл. 1.1

1	2	3	4
Дейтероміцети Deuteromycetes, або недосконалі гриби Fungi imperfecti	Гіфоміцетальні Hyphomycetales	Монілієві Moniliaceae	<i>Vertillium</i> <i>V. lecanii</i> <i>Aspergillus</i> <i>A. flavus</i> <i>Paecilomyces</i> <i>P. narinusus</i> <i>Beauveria</i> <i>B. bassiana</i> <i>Metarhizium</i> <i>M. anisopliae</i>
		Стильбієві Stibaceae	<i>Hymenostilbe</i> <i>H. lecaniicola</i> <i>Hirsutella</i> <i>H. thompsoni.</i>
		Туберкулярієві Tuberculariaceae	<i>Fusarium</i> <i>F. oxysporum</i> <i>Trichoderma</i> <i>T. lingorum</i>
		Хижі гіфоміцети	<i>Arthobotrys</i> <i>A. oligospora</i> <i>Dactylariopsis</i> <i>D. brochopaga</i>
		Сферопсидильні Sphaeropsidales або пикнідіальні Pycnidiales	Нектроїодієві Nectrioidaceae
Меланконіальні Melanconiaies	Меланконієві Melanconiaceae	<i>Colletotrichum</i> <i>C. lanthii</i>	

Клас зигоміцети (*Zygomycetes*). Належать гриби з добре розвиненим несептованим міцелієм. Нестатеве розмноження здійснюється нерухомими спорами без джгутиків. Статевий процес – зигогамія – полягає у злитті двох недиференційованих на гамети клітин, які морфологічно відрізняються від міцелію, на якому вони утворилися. Паразити комах належать до порядку ентомофторові (*Entomophthorales*), який містить одну родину ентомофторових грибів, серед яких майже всі паразити комах.

Родина ентомофторові – *Entomophthoraceae*. Представники родини в середині живильного субстрату утворюють слабо розгалужену грибницю – міцелій – з великою кількістю жирових крапель. У заражених комах він розпадається на окремі гіфальні тіла різної форми і розміру. Гриб росте, поки всі тканини комахи не будуть зруйновані.

Тривалість періоду від проростання конідій до загибелі комах становить від 2–3 (попелиці) до 5–8 днів (сарана). Живитель гине внаслідок порушення циркуляції гемолімфи, токсинів і ферментів, які виділяються грибом.

У хворої комахи черевце здувається, у разі розриву покривів витікає рідина з гіфальними тілами. У подальшому гіфальні тіла проростають у міцелій, який виходить на поверхню тіла загиблої комахи у вигляді бархатистого нальоту – шару спорангієносців. На останньому утворюється по одній великій конідії (спорангієспори) на кінцях різної форми.

Конідії одноклітинні, тонкостінні, з зернистою плазмою і жировими краплями. На черевному боці деякі види грибів з роду ентомофтора формують коренеподібні утворення – ризоїди, які прикріплюють загиблу комаху до субстрату. У такому стані комахи можуть зберігатися до весни. Для ентомофторових грибів особливістю є відстрілювання дозрілих конідій з великою силою на відстань, що перебільшує у багато разів їх величину.

Конідії зберігають життєздатність до 72 годин. У воді вони одразу проростають і, якщо не потрапляють на сприятливого живителя, проростають у конідії другого, третього порядку і відкидаються, що збільшує тривалість життя до зустрічі з живителем.

Ентомофторові гриби можуть також утворювати зигоспори, які проростають у результаті потрапляння на тіло живителя. За його відсутності утворюють росткові трубочки, які також відкидають конідії першого, другого та третього порядків.

Утворення спор у спокої відбувається статевим і нестатевим шляхом. Під час нестатевого – спора формується на кінці або всередині гіфального тіла. Спори, що утворилися в результаті нестатевого процесу, називаються азігоспорами.

Під час статевого процесу відбувається злиття чоловічих та жіночих гамет, виникає здуття, яке перетворюється у спору спокою – зигоспору. Вона зберігає життєздатність довго і залишається на поверхні ґрунту разом з загиблим живителем, у тріщинах кори дерев, на рослинних рештках. Навесні ці спори є джерелом інфекції для комах. До складу родини входять три роди: ентомофтора (*Entomophthora*), масоспора (*Massospora*) і тарихіум (*Tarichium*). За кількістю видів найбільший рід ентомофтора. До нього належить понад 60 видів грибів. Представники роду уражують комах, які належать до 12 рядів, кліщів, павуків, багатоніжок тощо.

Кормова спеціалізація різноманітна. *E. coronata* уражує комах (попелиці), коней, мулів і навіть людину. *E. sphaerosperma* уражує представників чотирьох рядів: декілька видів попелиць, яблуневу листоблішку, трипсів, жуків коваликів, їх личинок – дротяників, капустяного білана і капустяну міль, *E. thaxteriana* – попелиць. Представники роду масоспора більш вузькоспеціалізовані.

Ентомофтороз попелиць – *Entomoyhtora thaxteriana* Fetch. Живителі – різні види попелиць, павутинні кліщі. Міцелій добре розвинений, неклітинний, розпадається на гіфальні тіла неправильної форми і різних розмірів. Конідієносці розгалужені. Конідії шароподібні з сосочками в середньому 37×29 мкм. Зигоспори шароподібні, розміром від 25 до 30 мкм. Ризоїдів не утворює.

Облігатний паразит, зараження живителя відбувається контактно. Зрілі конідії вистрілюються на відстань у 1000 разів більшу за їх розміри.

Хворі попелиці жовтіють, покриви тіла стають блискучими. Хворі особини живляться, активно пересуваються по рослинах, крилаті – перелітають на сусідні ділянки, поширюючи інфекцію. Пізніше хворі особини стають молочно-білого кольору, у разі натискання з них витікає в'язка біла рідина. Перед загибеллю попелиці стають малорухомі. На черевному боці вирости гіф (ризоїди) проривають шкіряні покриви і прикріплюють живителя до рослини. Іноді попелиці прикріплюються до рослини хоботком, після чого комаха гине. Після загибелі у попелиці швидко буріє голова або задній кінець тіла, вони стають світло- або темно-коричневого кольору,

муміфікуються, поверхня тіла шороховата. За умов високої вологості повітря сильно збільшуються у розмірах, за низької – швидко підсихають, прилипають до листків.

Entomophthora aphidis Hoff, викликає ентомофтороз попелиць (горохової, бурякової, капустиної та ін.). Конідієносці розгалужені, гіфальні тіла складаються з довгих або коротких розгалужених гіф. Конідії одноядерні, овально-еліптичної форми, 21×11 мкм. Гриб утворює цистиди і ризоїди, які щільно прикріплюють тіло комахи до рослини. Він уражує внутрішні органи живителя.

На гороховій попелиці виділено 5 штамів, які відрізняються за формою і розміром конідій. Викликає масові спалахи ентомофторозу.

Entomophthora sphaerosperma Fresen. має широке коло живителів: яблунева листоблішка, ковалики, попелиці, капустяний білан, капустяна міль, двокриллі, щитівки тощо.

Конідієносці розгалужені, конідії одноядерні, видовжено-еліптичні з тонко гранульованою внутрішньою структурою. Розмір конідій $20 \times 5,5$ мкм. Має цистиди і численні ризоїди. Зигоспори безбарвні 20–35 мкм у діаметрі.

Може викликати епізоотії у популяціях комах.

Клас дейтероміцети, або недосконалі гриби *Deuteromycetes* або *Fungi imperfecti*.

Міцелій розгалужений, гаплоїдний, з багатоядерними клітинами, септований. Статеві стадії відсутні, розмножуються тільки нестатевим шляхом – конідіями, іноді склероціями (щільні сплетіння гіф) або стерильним міцелієм.

У цьому класі об'єднані види, які мають зв'язки з аскоміцетами і базидіоміцетами. Існують різні видозміни конідієносців: поодинокі конідієносці, у вигляді ложа, спородохіїв, коремій, пікнід. Конідії різноманітні за будовою і характером утворення – бластоспори, артроспори тощо. Клас поділяється на 4 порядки, у два з яких – гіфоміцети і сферопсидальні – входить більшість ентомопатогенних грибів.

Порядок гіфоміцети *Hyphomycetales*. Об'єднані гриби з поодинокими конідієносцями, які зібрані в коремії і спородохії, конідії формуються безпосередньо на поверхні субстрату. Порядок поділяється на чотири родини, у три з яких входять ентомопатогенні гриби – монілієві, стільбелові, туберкулярієві.

Родина монілієвих *Moniliaceae* (*Mucedinaceae*). Належить понад 200 родів і 1500 видів грибів. Ентомопатогенні види у більшості є

широкоспеціалізованими паразитами. До цієї родини належать і "хижі гриби", які використовують для живлення нематод, найпростіших тощо.

Конідії утворюються на коротких конідієносцях, які мало відрізняються від гіф вегетативного міцелію, або на диференційованих, простих або розгалужених. Конідії можуть виникати на конідієносцях зверху, з баків, на фіалідах.

Більшість ентомопатогенних грибів може рости і розвиватися на субстратах тваринного і рослинного походження.

Мускардіноз щитівок, білокрилок *Cephalosporium (Verticillium) lecani* Zimm. Основні живителі, несправжньощитівки, щитівки, білокрилки, личинки жуків-вусачів. Гриб утворює довгі гіфи 1,5–2,5 мкм шириною, які несуть конідієносці 12–24 мкм довжиною і 1,2–3,5 мкм шириною біля основи. Конідієносці зверху загострені, прості або розгалужені. Конідії зібрані у склеєні слизом шароподібні голівки, безбарвні, овальні зі закругленими кінцями, розміром 2,5–4,0 × 0,75–1,5 мкм.

Зараження відбувається через ротовий отвір. Спори проростають у шлунковому тракті, утворюють міцелій, який пронизує стінки кишки і утворює у порожнині тіла конідії, які розносяться гемолімфою по всьому тілу.

Легко культивується на різних штучних середовищах, стерильних трупах комах. У біолабораторіях виготовлюють препарат вертицилін, який застосовують проти личинок тепличної білокрилки у захищеному ґрунті.

Рожевий мускардіноз – *Paecilomyces farinosus* Dicks. розвивається на багатьох видах комах: клопах, рівнокрилих хоботних, твердокрилих.

Конідієносці короткі, виникають з повітряних гіф, септовані, гладкі. Фіаліди у мутовках – до 7 шт. в одній, шишкоподібні. Конідії широкоеліптичні або дещо веретеноподібні, гладкі 2,0–3,0 × 3,0–1,8 мкм, зібрані в короткі ланцюжки (до 90 мкм). Перед проростанням вони набувають округлої форми. На уражених комах утворюються розгалужені вирости конідієносців, що зрослися – коремії. У середині тіла комах гриб локалізується у гемолімфі.

На основі цього гриба створено біологічний препарат пеціломін, який застосовують проти яблуневої, грушевої плодожерок, що йдуть на залялькування або зимівлю.

Білий мускардиноз – *Beauveria bassiana* Bah Vuil. Розвивається в личинках та імаго багатьох лускокрилих, клопів, твердокрилих, перетинчастокрилих, прямокрилих і різних видах кліщів.

Конідієносці розташовані мутовчасто, розширені біля основи. Конідії одноклітинні, на тоненьких маленьких стеригмах, шаровидні або яйцевидні, 2–3 мкм у діаметрі.

Збудник у гемолімфі комахи утворює багаточисельні бластоспори, гіфальні тіла, які після паралічу живителя в результаті дії токсинів розростаються у міцелій. Він проникає у жирове тіло, м'язи, трахеї, кишечник, мальпігієві судини, нервові ганглії. Патологічні зміни в гемолімфі проявляються у руйнуванні гемоцитів і зміні їх кількісного співвідношення.

У природних умовах гриб спричиняє виникнення епізоотій у різних комах: кукурудзяного метелика, личинок колорадського жука, клопа черепашки, яблуневої плодожерки та інших шкідників (до 150 видів).

На основі цього гриба створено біологічний препарат – боверин, розроблено технологію його масового виробництва.

Зелений музкардиноз – *Metarrhizium anisoplia* Metsch. розвивається на личинках жуків (коваликів), хлібних жуків, звичайного бурякового довгоносика, гусеницях лускокрилих (американський білий метелик). За даними дослідників, цей гриб може уражувати понад 200 видів комах.

Конідієносці 3,0–3,5 мкм шириною, конідії утворюються на фіалідах, розташованих групами. Після відділення від фіаліди конідії стають оливково-зеленими, а з часом майже чорними. Конідії циліндричні, на вершині заокруглені, біля основи трохи звужені, 4,8–1,6 мкм. У центрі конідії знаходиться вакуоль, яка сильно переломлює світло. Гриб уражує жирове тіло і гемолімфу, виділяє токсини – деструксини. На основі цього гриба створений препарат метаризин, розроблено технологію його масового виробництва.

Хижий гриб – *Arthobotrys olisospora* Fres. Розвивається на багатьох видах нематод, які патогенні для сільськогосподарських рослин, людини, тварин. Утворює ловчі пристосування – клейкі петлі та їхні сплетіння – клейкі пастки, які складаються з великої кількості кілець масою 5–6 × 2,5–3,0 мкм, виходять із пікнід склеєною масою.

Родина нектроїодієві – *Nectrioidaceae* (*Zythinaceae*). Представники родини мають округлі, рідше конічні м'ясисті пікніди,

рідше воскоподібні або желатинисті, врослі, виступаючі над поверхнею субстрату або поверхневі, з вічками або без них, окремі, з міцелієм або строною, у більшості видів яскраво забарвлені. Конідії різноманітні, часто на простій або розгалуженій основі. Найбільшого значення в родині мають гриби роду *Aschersonia*, до якого належать понад 60 видів. У нашій державі вони були відсутні, в 1958–1964 рр. завезені *A. placenta* Berk. Et Br., *A. aleyrodis* Webb, *A. confluens* P.M., *A. flava* Fetch, Тринідаду, Китаю, В'єтнаму, Куби для захисту від цитрусової білокрилки. Нині широко застосовують проти тепличної білокрилки в захищеному ґрунті.

Більшість грибів роду є конідіальною стадією сумчастого гриба з роду гіпокрела (*Hypocrella* Sass.), який належить до родини клавіцепсових (Clavicipitaceae).

За кормовою спеціалізацією і морфологічними ознаками представники роду *Aschersonia* поділяють на два підроди: гриби, що паразитують на білокрилках і вони віднесені до підроду *Eu-Aschersonia* та види, які уражують м'яких несправжніх щитівок, – до підроду *Lepicuria*. Відповідно встановили дві групи видів роду *Hypocrella* – *Eu-Hypocrella* і *Fleischneria*. Нині гриб акліматизувався в цитрусових насадженнях Аджарії та Абхазії і стримує розвиток шкідників майже на всій території.

Строми гриба м'ясисті, напівшароподібні, яскраво забарвлені, первинна оболонка швидко перетворюється на ватоподібне одноколірне покривало. Перитеції (або камери) пливчасті, занурені у строми, дуже дрібні, прямостоячі, з широко розкритими порами у вигляді отворів. Конідієносці ниткоподібні. Конідії безбарвні, веретеноподібні, постійно відділяються, з 3–4 краплями, які створюють враження перегородок.

Міцелій гриба заповнює всю порожнину тіла комахи і муміфікує її. Потім він розростається по краях тіла, утворюючи щільну округлу пустулу. Інкубаційний період становить 6–7 днів. Личинка здувається, потім покривається білим нальотом. На 13–16-й день утворюються пустули, які за інтенсивного спороутворення набувають жовтого, потім рожевого кольору.

Гриб з успіхом застосовується нині проти тепличної білокрилки. Позитивною властивістю грибів є відсутність патогенності для енкарзії. Тому перспективне застосування гриба у випадках, коли перед випуском енкарзії необхідно знизити чисельність білокрилки (шкідника виявлено із запізненням) або у ранньовесняний період, коли

Патологія комах-фітофагів

спостерігаються помірні температури і розмноження енкарзії відстає від розмноження тепличної білокрилки.

Контрольні запитання до розділу 1

1. Гриби з яких класів викликають мікози комах?
2. Яка кількість ентомопатогенних грибів відома на сьогодні?
3. Які гриби є збудниками білого, зеленого та рожевого мускардинозів?
4. Паразитами яких комах є гриби з роду *Aschersonia*?
5. Паразитами яких комах є гриби з роду *Entomoyhtora*?

2. БАКТЕРІАЛЬНІ ХВОРОБИ (БАКТЕРІОЗИ)

В організмі комах і гризунів існує велика кількість бактерій. Стосовно своїх живителів вони можуть бути симбіонтами, коменсалами, паразитами, нешкідливими сапрофітами. Сапрофітні види шлункової флори можуть у звичайних умовах не завдавати шкоди живителю, але за несприятливих – викликати загальне захворювання – септицемію і його загибель.

У бактерій слабо виражені морфологічні ознаки, що ускладнює створення природної їх класифікації. Це зумовило розробку і застосування штучної класифікації, яка об'єднує велику кількість ознак у групи бактерій, що порівнюються. Під час визначення бактерій використовують: форму тіла, наявність або відсутність об'єднання клітин капсулою, розташування джгутиків, утворення спор, забарвлення клітин за Грамом, умови дихання, ставлення до живильних середовищ тощо.

Для ентомопатогенних бактерій Вейзером (1972) додатково запропонована класифікація за властивостями і умовами, які визначають їх патогенність. Нині виділені чотири групи ентомопатогенних бактерій:

- 1) облігатні патогени;
- 2) кристалonosні спороутворювачі;
- 3) факультативні патогени;
4. потенційні патогени.

Як відомо, у бактерій відсутні ядро, ядерна мембрана і ядерце. Тому вони віднесені до групи прокаріот – доядерних – *Procaryotae*. Часто дослідники надають прокаріотам статус самостійного царства і розподіляють на два відділи: цианобактерії (синьо-зелені водорості) і бактерії. Відділ бактерій – це неоднорідна група мікроорганізмів, яку поділяють на еубактерії (істинні бактерії), фототрофні бактерії, міксобактерії, спірохети, актиноміцети, мікоплазми і рикетсії, які відрізняються від еубактерій структурою клітини. Бактерії, які цікаві для біологічного захисту рослин, належать до еубактерій.

Еубактерії (*Eubactena*), патогенні для комах і гризунів, належать до трьох родин: псевдомонад, кишкових бактерій та спороутворювальних бактерій (табл. 2.1).

Бактеріальні хвороби викликаються як неспоривими, так і споривими бактеріями. Бактерії проникають у гемолімфу і розмножуються в порожнині тіла, а також у тканинах комах, викликаючи септицемію. Деякі патогенні бактерії розмножуються тільки

в кишечнику, викликаючи його розлад, а потім виснаження комах, що веде до загибелі. Бактерії можуть також діяти на комах токсично, у цих випадках бактерії виявляються в тілі комах у великій кількості тільки після смерті хазяїна.

Таблиця 2.1

Систематичне положення бактерій, що викликають захворювання шкідників

Відділ	Клас	Родина	Рід і вид
Gracilicutes	Scotobacteria	Spirillaceae	<i>Bdellovibrio</i>
		Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>
			<i>P. aemginosa</i>
			<i>P. fluorescens</i>
		Enterobacteriaceae	<i>P. pulidae</i>
			<i>Salmonella</i>
			<i>S. lyphimurium</i>
			<i>S. enteritidis</i>
			<i>Enterobacter</i>
			<i>E. cloasae</i>
<i>Serratia</i>			
Rickettsiaceae	<i>S. marcescens</i>		
	<i>Rickettsiella</i>		
	<i>R. melolonthae</i>		
	<i>R. grilly</i>		
	<i>R. eurygasteris</i>		
Anophotobacteria	Oxyphotobacteria	Chroococcophyceae	<i>Microcystis</i>
			<i>M. aeruginosa</i>
		Hormogoniophyceae	<i>Anabaena</i>
			<i>A. spiroides</i>
Firmicutes	Firmibacteria	Micrococcaceae	<i>Micrococcus</i>
			<i>M. oligonitrophillus</i>
			<i>Streptococcus</i>
		Streptococcaceae	<i>S. faecalis</i>
			Bacillaceae
Tallobacteria	Mycobacteriaceae	<i>B. thuringiensis</i>	
		<i>Corynebacterium</i>	
		<i>C. okanaganae</i>	
Fenericutes	Mollicutes	Actinomycetaceae	<i>Actinomyces</i>
		Mycoplasmataceae	<i>Mycoplasma</i>

Захворювання, спричинювані бактеріями, часто об'єднують спільною назвою – септицемія, або фляшерія. При цій хворобі збудник проникає в гемоціль і розмножується в гемолімфі. Зовнішніми ознаками є: припинення живлення, в'ялість і нерухомість, з анального отвору витікає темний ескудат більш або менш рідкої консистенції неприємного за паху; потемніння гемолімфи, руйнування кишечника і м'язів, зміна забарвлення зовнішніх покривів, розм'якшення тіла. Трупинабувають неприємного гнилісного запаху. Зовнішні покриви легко розриваються.

До облигатних ентомопатогенів належать спороутворювальні бактерії *Bacillus popilliae* – збудники молочної хвороби деяких лускокрилих і твердокрилих комах та збудники клостридіозів – *Clostridium brevifaciens* і *Cl. malacosoma*.

Типовим факультативним ентомопатогеном є бактерія *Bacillus cereus*, яка спричиняє бактеріоз типу септицемії, за якого бактерії активно розмножуються в гемолімфі комах і призводять до загибелі хазяїна.

Особливе значення має група кристалоутворювальних бактерій, які продукують токсини, що специфічно діють на певні групи комах. Це перш за все бактерія *Bacillus thuringiensis*. Нині відомо понад 30 варіантів або серотипів цієї бактерії. Ці бактерії широко застосовуються у біологічному захисті рослин у вигляді препаратів.

До потенційних ентомопатогенів відносять деякі спорові бактерії, які в разі проникнення в гемолімфу хазяїна спричиняють септицемію. Це види *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *B. blattae*.

Серед неспоривих бактерій факультативним патогеном комах-фітофагів є *Serratia marcescens*, яка спричиняє епізоотії у травневого хруща, личинок колорадського жука та ін. Як збудник септицемії озимої совки, шведської мухи та інших видів відома бактерія *Pseudomonas fluorescens*.

Загальні симптоми бактеріозів: розм'якшення внутрішнього вмісту тіла комах за умов збереження зовнішніх покривів. Зміна забарвлення тіла – почорніння, почервоніння. Специфічний запах – гнилісний, ароматичний чи інший.

У мазках з гемолімфи чи інших тканин видно палички зі спорами чи без спор завбільшки від 0,5 до 7,0 мікрон. Забарвлюються всіма аніліновими фарбами (фуксин, метиленова синь, генціанвіолет та ін.).

Факультативні форми ентомопатогенних бактерій ростуть на звичайних твердих і рідких живильних середовищах (м'ясо-пептонні, картопляні, дріжджові та ін.).

Бактерії, що належать до облигатних паразитів, не ростуть на

штучних живильних середовищах.

Родина псевдомонади – *Pseudomonadaceae*. Паличкоподібні, грамнегативні бактерії, що не утворюють спор, джгутики розташовані полярно. Використовують різноманітні джерела живлення, більшість розвиваються на органічних субстратах, окремі види – на мінеральних середовищах. Представники цієї родини досить поширені, утворюють флуоресцируючі пігменти синьо-зеленого, жовто-зеленого, червоного або фіолетового кольору. До цієї родини належать представники роду *Pseudomonas*, які вважаються потенційними збудниками хвороб комах.

Pseudomonas cornea Kras., паличкоподібна, $0,5-0,8 \times 1,5-2,0$ мкм, джгутики розташовані полярно, ендоспор не утворює, грамнегативна, утворює: червоний або рожевий пігмент, кристали токсину відсутні. Потенційний збудник хвороб комах. Трапляється у ґрунті, воді, рослинних рештках, аероб.

Викликає септицемію в комах, відмічається симбіоз із нематодами роду *Neoaplectana (Steinernema)*. Живитель – капустяний білан, бавовникова совка, воскова міль, таргани.

Родина кишкові бактерії – *Enterobacteriaceae*. Належать паличкоподібні, грамнегативні, факультативно анаеробні та аеробні бактерії, джгутики розташовані на всій поверхні клітини – перитрихально. Представники родини не утворюють спор, добре розвиваються на звичайних живильних середовищах

До складу родини належать 12 родів. Серед них є облігатні та факультативні патогени і сапрофіти.

Червоний бактеріоз – *Serratia marcescens* Viz. Це факультативний патоген. Бактерія іноді набуває овальної або кокоподібної форми, розміром $0,6-0,7 \times 1,5$ мкм. Джгутики розташовані перитрихально, спор не утворює, грамнегативна. Ця бактерія утворює характерний криваво-червоний пігмент (забарвлення) – продиогизин. За таку особливість вона отримала назву "паличка дивної крові". Вид не утворює кристалів ендотоксину. Уражує твердокрилих, лускокрилих, двокрилих, прямокрилих, перетинчастокрилих, кліщів тощо.

Родина бацили або паличкоподібні бактерії – *Bacteriaceae*. До неї належать паличкоподібні бактерії, грампозитивні, джгутики, які розташовані полярно або перетрихально. Клітини деяких видів нерухомі, аероби, факультативні або облігатні анаероби. Утворюють ендоспори за несприятливих умов. Спори в центрі клітин, зберігають життєздатність протягом багатьох років, стійкі до температури,

хімічних агентів, радіації. Спостерігається три типи спороутворення: бацилярний – товщина спороутворювальної клітини (спорангіума) не більше ніж у вегетативної; клостридіальний – спороутворювальна клітина має веретеноподібну форму; плектридіальний – спороутворювальна клітина набуває форму булави або барабанної палички.

Bacillus cereus Frankl. – грампозитивні палички розміром 1,0–1,2 × 3–5 мкм, часто рухомі. Спори формуються центрально або субтермально, овальні. Палички часто утворюють ланцюжки. Бактерія продукує гемолізін, В-екзотоксин, фосфоліпазу С, протеїнази і ферменти, які розчиняють бактеріальні клітини. Досить поширена в ґрунтах, продуктах і може викликати кормові отруєння. Патогенна для комах, особливо лускокрилих.

Септицемія – *Bacillus ihmingiemis* Berl. Спора розташовується субтермально, параспоральне включення В-ендотоксину, формується поруч зі спорою (полярно). Спороутворююча клітина не змінює форми і розміру. Спори іноді збираються ланцюжком, прилягаючи одна до одної боками. Параспоральні включення білкової природи різної форми: кубоїдальної, октаедральної, краплеподібної або овальної. Продукує В-ендотоксин, А-ендотоксин, В-екзотоксин, гемолізін, фосфоліпазу С і протеїнази. Не відомий як збудник кормових отруєнь. Штами об'єднуються в серотипи за антигенною будовою, по Н-антигенах. Відомо 14 серотипів та 28 варіантів бацил.

Bacillus thuringiensis Berl. Трапляється переважно в лускокрилих. Клітини паличкоподібні, прямі або злегка зігнуті, розміром 0,3–2,2 × 1,7 мкм, грампозитивні, є і грамнегативні, джгутики розташовані латерально.

Факультативний паразит. У хворих комах спостерігається пронос, виділення з ротового і анального отворів рідини бурого кольору з різким гнилоосним запахом. Сприйнятливі види: білани, молі, п'ядуни, коконопряди, листокрутки тощо. Відома значна кількість мікробіологічних препаратів, створених на основі різних варіантів і серотипів бактерій.

Бактеріоз кільчастого шовкопряда – збудник *Clostridium malacosomae* Bucher. Грампозитивні нерухомі палички з округлими кінцями, трапляються поодинокі і парами, розміром 4–7 × 1 мкм. Джгутики розташовані перетрихально. Спори овальні або сферичні, формуються в центрі клітини або ближче до її кінця. У результаті клітина буде мати форму веретена або барабанної палички.

Розмножуються у кишечнику живителя, викликаючи його параліч, не проникають у порожнину тіла. Вони дуже вірулентні. Після загибелі тіло живителя висихає і муміфікується.

Бактеріоз личинок японського жука – збудник *Bacillus popilliae* Dutke. Облігатний паразит, утворює ендотоксини. Палички розташовуються поодинокі і парами, рухомі, розміром 0,9–1,0 × 5–8 мкм. Форма спорангію (вегетативної клітини) нагадує слід від взуття. Спора широкояйцеподібна. У разі підсушування оболонки клітини не розпадаються, спора і ендотоксини залишаються в її середині. Перебіг хвороби повільний. Викликає в личинок японського жука молочну хворобу типу А. Личинки стають кволими, набувають молочно-білого кольору внаслідок просвічування скрізь покриви тіла каламутно-білої гемолімфи, яка містить багато спор, що мають товсті оболонки й переломлюють світло і через шкіряні покриви комах здаються більшими. Уражує личинок японського жука, травневого, червненого хрущів та інших пластинчастовусих. На основі *Bacillus popillidae* Dutke створений препарат "Дум" (США), який застосовують проти личинок пластинчастовусих і зокрема японського жука.

Контрольні запитання до розділу 2

1. Бактерії з яких класів викликають бактеріози комах?
2. Які Ви знаєте групи ентомопатогенних бактерій за Вейзером?
2. Які ентомопатогенні бактерії з роду *Bacillus* Вам відомі?
3. Яка бактерія є збудником бактеріозу личинок японського жука?
4. Яка бактерія є збудником бактеріозу кільчатого шовкопряда?
5. Яка бактерія викликає червоний бактеріоз?

3. ВІРУСНІ ХВОРОБИ (ВІРОЗИ)

Перші відомості про вірусні хвороби комах з'явилися в середині ХІХ ст. Лише після створення електронного мікроскопа віруси стали доступними для дослідження.

Вивчення вірусних хвороб почалося на прикладі захворювань корисних комах – тутового шовкопряда та бджіл. Нині відомо понад 800 видів вірусів, які викликають хвороби комах, із них половина викликає захворювання лускокрилих.

Розвиток електронної мікроскопії, рентгеноструктурних і фізико-хімічних методів аналізу створили можливості для вивчення структури вірусів та їх систематики. Дев'ятий Міжнародний мікробіологічний конгрес (м. Москва, 1966) створив Міжнародний комітет з таксономії вірусів й ухвалив рішення про утворення єдиної системи класифікації вірусів з біномінальною номенклатурою. Усі віруси було виділено в самостійне "царство", тип *Vira*.

За основу класифікації вірусів взяли тип нуклеїнової кислоти віріона, який є кінцевою фазою розвитку вірусу, симетрію білкової оболонки – капсида (капсид – грецьк. "капса", скринька), до якої входить нуклеїнова кислота віріона, форма морфологічних частин віріона – капсомерів тощо.

Існує два типи будови білкових оболонок вірусів: спіральний і сферичний. Перший притаманний вірусам паличкоподібної і ниткоподібної форми. Він характеризується укладенням білкових субодиниць за спіраллю багатокутників, а капсомери групуються навколо нуклеїнової кислоти у вигляді багатокутника. Залежно від усієї симетрії утворююся геграїдри, октаедри або ікосаедри, тобто 4-8-, 20-кутники.

Залежно від типу нуклеїнової кислоти віріона тип *Vira* поділяють на два підтипи (підцарства): *Deoxyvira* і *Ribovira*. Віруси, що належать до першого підтипу, мають у своєму складі діоксинуклеїнову кислоту (ДНК). Другий підтип – *Ribovira* у своєму складі містить рибонуклеїнову кислоту (РНК).

Віруси, які розмножуються у клітинах комах і мають у своєму складі ДНК, належать до родин *Baculoviridae*, *Poxviridae*, *Iridoviridae* і *Parvoviridae*, які мають РНК – до *Picomaviridae* і *Reovirida* (табл. 3.1).

Систематика ентомопатогенних вірусів

Типи	Класи	Родини	Роди
Віруси, що містять ДНК Deoxyvira	ДНК- дволанцюжкові	Baculoviridae	Baculovirus
		Poxviridae	Entomopoxvirus
		Iridoviridae	Iridovirus
Віруси, що містять РНК Ribovira	ДНК- одноланцюжкові	Papovaviridae	Chlorirido virus
		Parvoviridae	Denso virus
	РНК- дволанцюжкові	Reoviridae	Cypovirus
		РНК- одноланцюжкові	Rhabdoviridae
Picomaviridae	Leporipoxvirus		

Родина бакуловіруси (паличкоподібні вірусні – Baculoviridae). Представники цієї родини розмножуються переважно в тілі комах. Вірусні часточки (віріони), що виходять із включень, які розчинилися, мають паличкоподібну форму (грецьк "бакулум" – паличка).

Залежно від морфології включень представників цієї родини поділяють на дві підгрупи: А – збудники поліедрозів і В – гранульозів.

Підгрупа А – поліедрози. Характеризуються тим, що віріони містяться у білкових включеннях типу багатокутників (поліедрів).

Поліедри мають великі розміри (0,5–16,0 мкм), їх можна бачити під світловим мікроскопом. Типовий вид – вірус ядерного поліедрозу тутового шовкопряда — *Baculovirus bombycis*. Ця підгрупа найбільш чисельна. Нараховує понад 109 видів комах, які є живителями поліедрозів, що належать до трьох рядів і 24 родин. Переважають лускокрилі (99 видів із 19 родич), перетинчастокрилі – 7 із 4 родин і двокрилі – 3 види із двох родин. Розвиток вірусів поліедрозів відбувається в ядрах клітин гіподерми, жирового тіла, трахей, гемолімфи, у пильщиків – епітелію середньої кишки. Хворіють личинки. Зовнішні ознаки — пожовтіння або побіління покривів, одутлуватість тіла, загибель, яка супроводжується розм'якшенням тканин; хворі гусениці часто тримаються несправжніми ногами за гілки дерев і звисають з них униз головою.

Основні зміни відбуваються в ядрах клітин, що уражаються. Ще

до утворення в них поліедрів вони виглядають дуже гіпертрофованими. У деяких комах спостерігається інший тип поліедреного захворювання, у разі якого поліедри утворюються тільки в ядрах чи цитоплазмі епітеліальних клітин середньої кишки. Поліедренна хвороба характерна для личинкової стадії розвитку, але поліедри утворюються також і в лялечках, рідше в тілі дорослих комах. Вірус передається через яйце.

У разі поліедрозу загального типу спостерігається розм'якшення тіла, що настає внаслідок розпаду більшості тканин, зовнішні покриви тоншають і через розриви шкіри впливає мутна, білувата рідина. У початковій стадії хвороби комахи мають молочний відтінок, але потім темніють. У разі кишкового поліедрозу спостерігаються білі і рожеві виділення з анального отвору без інших видимих порушень. Захворювання не супроводжується запахом; він з'являється тільки через одночасний розвиток гнилісних мікроорганізмів.

У рідині, що витікає із загиблих від поліедрозу комах, чи в шматочках тканин, виявляється велика кількість багатогранних поліедрених тілець, які заломлюють світло.

Для виявлення кишкового поліедрозу необхідно промікро-скопювати відрізок кишечника.

Для розпізнавання поліедрів може бути рекомендований такий метод фарбування. На предметне скло наносять краплю досліджуваної рідини чи проводять по ньому шматочком тканини. Після висушування на повітрі препарат фіксують у суміші спирту з формаліном (90 мл 70 %-ного спирту і 10 мл нерозчиненого 40%-ного формаліну) протягом 10–20 хв. Після висушування між аркушами фільтрувального паперу на препарат наносять 1 %-ний розчин їдкового луку. Через одну хвилину розчин змивають водою і препарат фарбують 5 %-ним водним розчином еозину (три-п'ять хвилин). Поліедри набувають рівномірного рожевого забарвлення. Бактерії, спори мікроорганізмів, а також велика частина елементів тканин не фарбуються.

На штучних живильних середовищах збудники поліедрозів не культивуються.

Ядерний поліедроз непарного шовкопряда – *Baculovirus (Polyhedrovirus) reprimens* Holms. *Baculoviridae* – паличкоподібні віруси. Криптограма виду [Д/2;80/10–15:U/E:1/0], де Д – тип нуклеїнової кислоти (ДНК), у знаменнику число її ниток; молекулярна маса її понад 80 млн дальтонів, у знаменнику вміст нуклеїнової кислоти (10–15 %); U – віріон продовгуватої форми з паралельними

сторонами і Е – нуклеокапсид продовгуватий з паралельними сторонами і незаокругленими кінцями; 1 – вірус інфікує безхребетних; 0 – переносник (комахи).

Основний живитель – непарний шовкопряд, додаткові – золотогуз, вербова хвилівка. Форма віріона паличкоподібна, розмір 360–380 × 35–40 нм. СПВК неправильної форми з багаточисельними буграми.

Уражуються гусениці, частіше молодшого віку. Спостерігається пожовтіння або побіління покривів, одутловатість тіла і загибель з розм'якшенням і розтлінням тканин. З особин, що повільно пересуваються, витікає молочно-біла рідина. Хворі гусениці чіпляються несправжніми ногами за гілки дерев і звисають з них. Тривалість інкубаційного періоду 7–12 днів.

Підгрупа Б – гранульози. Віруси цієї підгрупи відрізняються від підгрупи А тим, що віріони по одному (рідше по два) розташовані в гранулі або капсулі овальної форми. Гранули за розміром значно менші за поліедри. Типовий вірус групи – гранульоз ялинкової хвоєкрутки *Baculovirus (Granulovirus) choristoneura* Clem. Нині нараховується 34 види комах живителів вірусів цієї підгрупи, які належать до восьми родин лускокрилих.

Зовнішні ознаки гранульозу комах подібні до таких у разі захворювання на ядерний поліедроз. Спостерігається загальне побіління тіла, особливо з черевного боку. Уражуються збудником ті ж тканини, що й у разі ядерного поліедрозу, але в першу чергу жирове тіло. Розвиток вірусу гранульозу починається в ядрі клітини, але після розриву мембрани ядра продовжується і в області ядра та в цитоплазмі клітини.

У препараті з порожнинної рідини і в шматочках жирової тканини виявляються дрібні гранули, які при збільшенні мікроскопа в 1000 разів здаються ледь помітними крапками, що перебувають у броунівському русі. Розпізнавання гранул полегшує застосування такого фарбування. Готують два однакових мазки на предметних стеклах – препарат-1 і препарат-2. Препарат-1 фіксують і обробляють лугом за методом, зазначеним для фарбування поліедрів, після чого фарбують протягом однієї хвилини карболовим фуксином за Цилем (1 г основного фуксину розтерти з 10 мл спирту, додати 5 г кристалічної карболової кислоти, безупинно помішуючи, додати 100 мл води). Препарат-2 фарбують відразу фуксином за Цилем. У препараті-1 за наявності гранульозу помітні добре пофарбовані дрібні гранули. У препараті-2 фарбування не

повинно бути, якщо не домішуються бактерії, часто подібні до гранул вірусу.

На штучних живильних середовищах збудники гранульозів також не культивуються.

Гранульоз яблуневої плодожерки – *Baculovirus (Granulovirus) carpocapsae* Tanada. *Baculoviridae* – паличкоподібні віруси. Криптограма виду [Д/2:80Д0–15:U/E:1/O]. Основний живитель – яблунева плодожерка, додаткові – грушева і сливова. Форма віріона паличкоподібна, розмір 313 × 51 нм. СТШК гексагональні, розмір 394 × 208 нм. Локалізується й уражує жирове тіло, гіподерму, епітелій трахей. Уражуються гусениці, особливо молодшого віку. Спостерігається пожовтіння або побіління покривів, одутлуватість тіла і загибель з розм'якшенням та розкладанням тканин. Інкубаційний період хвороби 5–12 днів.

Родина поксвіруси, або віруси віспи – *Poxviridae*. До неї належать найкрупніші з відомих видів вірусів. Для біологічного захисту рослин найбільше значення мають представники підродини *Entomopoxvirus*. Типовий – вірус віспи травневого хруща – *Entomopoxvirus melolontha*. Криптограма виду характеризує незначні відомості про віріони: [Д/0:Х/Х:Х/0:*1/0], де Х – характеризує складні обриси віріона і нуклеокапсиду; * - відсутність відомостей за вказаною ознакою.

Віспа травневого хруща – *Entomopoxvirus melolontha* Weiser. Поксвіруси – *Poxviridae*. Основний живитель – травневий хрущ, додаткові – невідомі. Віріони мають форму бруска розміром 250–420 нм, форма СПВК овальна – овоїди або сфероїди, до 12 мкм, кожний має кілька десятків віріонів. Збудник уражує клітини жирового тіла, м'язи поєднувальної тканини і гемоцити оболонки гонад імаго. Інфіковані клітини зберігають нормальні ядра, але краплини жиру в цитоплазмі порушуються і замінюються кристалами спочатку ромбоподібної, а потім овальної або шароподібної форма.

Унаслідок накопичення включень у гемолімфі личинки стають молочно-білими і гинуть через 16–72 доби після інфікування. Тривалість інкубаційного періоду 2–5 днів. Заражує личинок третього віку. У Франції проведено дослідження щодо штучного розселення хворих личинок травневого жука в здорові популяції шкідника. Через чотири роки було виявлено 15–18 % уражених личинок.

Родина райдужні віруси – *Iridoviridae*. Таку назву набула за райдужне світіння – від жовтого і блакитного до темно-фіолетового. Зумовлене воно дифракцією світла, яка стала результатом правильного

упакування віріонів. Ентомопатогенні віруси належать до роду *Iridovirus*. Типовий вид – райдужний вірус шкідливої або болотної довгоніжки – *Iridovirus tipula*. Живителі райдужних вірусів уражують 28 видів комах, зокрема 11 – лускокрилих, 14 – двокрилих і 3 види з ряду твердокрилих.

Представники родини розмножуються в цитоплазмі, де утворюють включення розміром від 1 до 15 мкм і обумовлюють райдужне світіння уражених тканин. Збудник знаходиться в різних тканинах комах, але частіше хвороба розповсюджується з клітин жирового тіла.

Райдужний вірус шкідливої (болотної) довгоніжки – *Iridovirus tipula* Хероx. Інфікує личинок через їжу. Основний живитель – болотна довгоніжка, уражує також личинок комарів. Криптограма вірусу: [Д/2:126/15:S/S:1/0], де S – сферична форма віріона і капсида. Віріони ікосаедричної форми, діаметром 20–120 нм і мають 1300–1500 капсомерів. Діагностичні ознаки хвороби – райдужне світіння комахи від блакитного до темно-фіолетового кольору в гіпертрофованих частинах жирового тіла, а потім і всього тіла комахи, інкубаційний період хвороби 10–20 днів. Гибель хворої особини настає через два тижні після з'явлення ознак хвороби.

Родина парвовіруси – *Parvoviridae*. Віруси комах належать до роду *Densovirus*, а хвороба, яку вони викликають – дензонуклеоз, або хвороба щільних ядер. Дензовіруси уражують сім видів комах: 6 – з ряду лускокрилих і 1 – двокрилих. Типовий вірус дензонуклеозу вощинної молі. Криптограма вірусу [Д1/1:(4–5)/1 і 5:S/S:1/0], його віріони вміщують 35 % одностричатої ДНК і являють собою часточки діаметром 20–23 нм гексагональної форми. Капсид складається з 42 капсомерів.

Дензонуклеоз вощинної молі – *Densonucleosisvirus galleria* Mevradir. Основний живитель – вощинна міль, додатковий – сосновий шовкопряд. Віріони розміром 2–35 нм, форма СПВК гексагональна. Локалізується в тілі живителя в ядрах клітин жирового тіла, гіподерми, м'язів, гонад, нервової тканини, епітелію трахей, клітин шовковидільних залоз. У хворих комах спостерігається швидка і сильна гіпертрофія ядер в інфікованих тканинах, у яких утворюється велике щільне тіло – накопичення вірусних часточок (віріонів). Інкубаційний період становить 4–6 днів. Вірус вірулентний і специфічний. Уперше було виявлено у 1964 р. у результаті масового розведення вощинної молі. До складу родини належать декілька родів,

представники яких паразитують на тваринах і рослинах. Види, що викликають цитоплазматичний полієдроз у комах, утворюють окрему групу і поки що не мають родової назви. Дослідники вважають доцільним тимчасово використовувати якості родової назви *Insectoreovirus*.

Типовий представник цієї групи – вірус цитоплазматичного полієдрозу шовкопряда *Reovirus bombycis*. Криптограма його [R/2:£13–18/16–30:S/S:1/0] свідчить про те, що до складу віріонів вірусу входить двонитчата РНК, уміст якої становить 16–30 %, молекулярна маса 13–18 млн дальтонів (£ свідчить, що РНК представлена сумою фрагментів з наведеною молекулярною масою). Вірусні часточки (віріони) мають розмір 60–70 нм складної будови. У процесі розмноження утворюють включення у формі куба, октаедра, ікосаедра, ромбододаєдра або неправильної форми. Заражують до 70 шкідливих видів комах та кровососів.

Віруси цитоплазматичного полієдрозу розвиваються лише в клітинах епітелію середньої кишки комах і при поширенні інфекції уражують усю травну систему, їх можна виявити з клітин переднього і заднього відділу кишківника.

Цитоплазматичний полієдроз капустяної совки – *Insectoreovirus brassicae* Chstane. Додаткові живителі не відомі. Форма віріона гексаєдрична і кубічна, розміром 85–95 нм. Локалізуються вони у цитоплазмі клітин епітелію середньої кишки. Інкубаційний період хвороби 6–8 днів. Збудник викликає епізоотії у популяцій з високою загибеллю комах. Зовнішні ознаки захворювання такі: гусениці втрачають апетит, відстають у рості, голова значно більша за тіло. У результаті подальшого розвитку хвороби личинки змінюють колір на білуватий з відтінком крейди, особливо на черевному боці (проглядається велика маса полієдрів через покрив травної системи). Якщо були інфіковані личинки старшого віку, то гине значна кількість імаго. Середня маса хворих гусениць більша, ніж у здорових. Можуть бути пухлиноподібні утворення кишківника.

Родина пікорнавіруси – *Picornaviridae*. До цієї родини належить рід *Enterovirus*, представники якого викликають параліч комах. Типовим є вірус гострого паралічу медоносної бджоли – *Enterovirus apis*. Криптограма [R/1:2/25:S/S:1/1]. Вірус уміщує 25 % одностричкової РНК з молекулярною масою 2 млн дальтонів. Капсиди ікосаєдричної форми діаметром 25–40 нм, без зовнішньої білкової оболонки. Збудник розвивається у клітинах тканин, що мають екзодермальне походження.

Віруси паралічу комах вивчено недостатньо, виділено з двох видів прямокрилих.

Контрольні запитання до розділу 3

1. Віруси з яких класів викликають вірози комах?
2. Яка кількість ентомопатогенних вірусів відома на сьогодні?
2. Які Ви знаєте типи будови білкових оболонок вірусів?
3. На які підтипи поділяють тип *Vira* залежно від типу нуклеїнової кислоти?
4. На які підгрупи залежно від морфології включень ділять представників родини бакуловіруси?
5. Який вірус є збудником дензонуклеозу вощинної молі?
6. Який вірус є збудником гострого паралічу медоносної бджоли?
7. Який вірус є збудником цитоплазматичного полієдрозу шовкопряда?
8. Який вірус є збудником віспи травневого хруща?

4. ПРОТОЗОЙНІ ХВОРОБИ (ПРОТОЗООНОЗИ)

Найпростіші – *Protozoa* – одноклітинні, переважно мікроскопічні організми, розміром від 2–5 до 50–200 мкм. Тіло їх складається з протоплазми, ядра або декількох ядер, органел і кутикули. Рухаються вони за допомогою джгутиків і війок. Можуть утворювати цисти за несприятливих умов. Розмножуються поділом і статевим шляхом. Хвороби, що виникають у комах, носять хронічний характер.

Залежно від виду збудника протозоознози мають назви: мікроспоридіоз, нозематоз, пембрина.

Спільні симптоми протозоознозів – відставання в рості, виснаження, усихання тіла, темні плями на хітині. Можливе червоне чи палеве забарвлення тіла.

У стінках кишечника, у жировому тілі і в мальпігієвих судинах помітні скупчення спор збудника, що трохи нагадують конідії грибів. По довгій осі спор є темна смужка, що являє собою спіральню складену полярну нитку.

Розпізнавання ранніх стадій життєвого циклу мікроспоридій вимагає спеціальних методів дослідження.

Усього відомо понад 30 тис. одноклітинних організмів, які належать до *Protozoa*. З них пов'язано з комахами – понад 1500 видів. Для біологічного захисту мають важливе значення невелика кількість, які викликають епізоотії у шкідників, знижують їх плодючість або підсилюють чутливість комах до збудників вірусних хвороб, дії інсектицидів.

Ентомопатогенні найпростіші належать до класів споровиків (*Sporozoa*) і кнідоспоридій (*Cnidosporidia*). Менше їх трапляється серед джгутикових (*Mastigophora* або *Flagellata*) родина трипаносоми (*Trypanosomatidae*) з ряду протомонадових (*Protomonadina*); класу саркодових (*Sarcodina*) родини *Amoebidae* і *Endomoebidae* з ряду амеб (*Amoebida*) і класу гаплоспоридій (*Haplosporidia*) (табл. 4.1).

Клас споровики – Sporozoa. Розвиваються в тканинах і органах безхребетних та хребетних тварин. Мають складний цикл розвитку, який складається з послідовної зміни нестатевого розмноження шляхом множинного ділення – шизогонії; утворення статевих клітин, гамет – гаметогонії, і формування спор з декількома зародками – спорогонії. Спори стійкі до впливу несприятливих умов довкілля. Це сприяє виживанню патогена поза живителем, поширенню виду. До класу споровиків належать три ряди, до двох з них – збудники хвороб у комах. Це ряди грегарини (*Gregarinida*) і кокцидії (*Coccidia*).

Основні систематичні групи найпростіших, що паразитують на шкідниках сільськогосподарських та лісових культур

Тип	Клас	Ряд	Підряд	Рід і вид
Sarcomastigophora	Zoomastigophorea	Kinetoplastida	Tripanosomatidae	<i>Tripanosoma</i> <i>Leishmania</i>
		Hypermastigidae		<i>Leptomonas</i>
	Lobosea	Amoebida		<i>Malamoeba</i> <i>M. locustae</i> <i>Entameba</i> <i>E. blattae</i>
Apicomplexa	Sporozoea	Gregarinida	Eugregarinina	<i>Gregarina</i> <i>G. acridiorum</i> , <i>G. melolontha</i>
			Neogregarinina	<i>Mattesia</i> <i>M. povolnui</i> , <i>M. dispersa</i>
		Coccidia	Adeleina	<i>Adelina</i> <i>A. mesnli</i>
Microsporidia	Microsporidea	Nosematida		<i>Nosema</i> <i>N. pyraustae</i> , <i>N. carpocarsae</i> , <i>N. mesnili</i> , <i>N. plodiae</i>
		Glugeidae		<i>Pleistophora</i> <i>P. schubergi</i> , <i>P. neustridae</i>

Ряд гregarини – *Gregarinida*. Крупні найпростіші, декілька міліметрів у довжину, здебільшого видовженої форми. Ряд поділяється на два підряди – еугregarини (*Eugregarinida*), і схизогregarини (*Schizogregarinida* або *Neogregarinida*). У підряді еугregarин відсутній процес шизогонії. Представники підряду можуть розвиватися в

середині клітин комах тільки в молодших віках, дорослі форми існують у шлунку і менш небезпечні для живителя. Деякі еугрегарини пошкоджують епітелій кишечника, чим сприяють проникненню у порожнину тіла бактерій і викликають гибель живителя. Наприклад, *Gregarina vizri* Lira (рис. 4.1) – паразит хлібної жужелиці, *Leldyana ephestia* Dab. – паразит гусениць млинової вогнівки.



Рис. 4.1. *Gregarina* spp.

Схизогрегарини розмножуються за типом шизогонії в тканинах живителя. Ядра їх багаторазово діляться, за короткий час утворюють багато вегетативних особин, які живляться тканинами живителя. У комах схизогрегарини уражують жирове тіло. Відома – *Mattegi dispersa* Nav., яка розвивається в жировому тілі млинової вогнівки.

Ряд кокцидії – *Coccidia* (рис. 4.2). Незначна кількість їх розвивається за рахунок комах. Такими є *Adelina tribolli* Bhat, вона розвивається в жировому тілі борошністого і булавовусого малих хрущаків; *Adelina mesnili* Per. – у гусеницях млинової, амбарної вогнівок, платяної молі тощо.

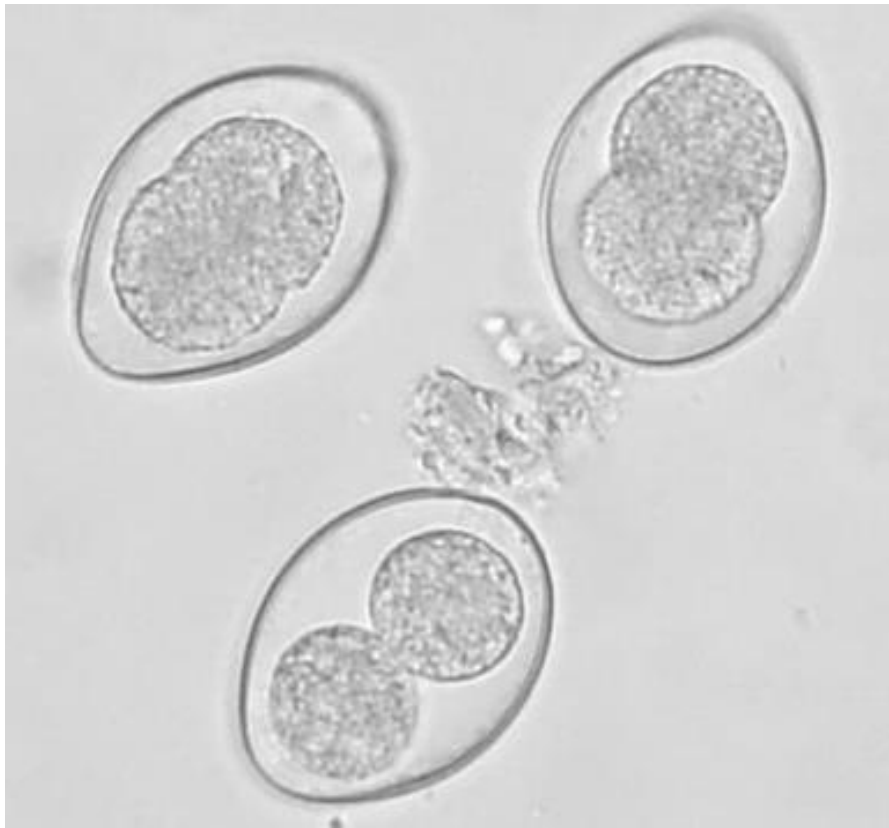


Рис. 4.2. *Coccidia* spp.

Клас кнідоспоридії – Cnidosporidia. Велика група паразитичних найпростіших. Має характерний життєвий цикл і будову спор. На початку життєвого циклу кнідоспоридії – малі амебоподібні одноклітинні організми, які паразитують у тканинах і органах тварин. У міру росту ядра багаторазово діляться і утворюють масу плазми – плазмодій. У середині плазми формуються багатоклітинні спори; у середині спори – двоядерний зародок і 1–4 стрекательні капсули із складеної у спіраль стрекательною ниткою, яка може викидатися зовні.

До класу належать три ряди, з яких найбільше значення для біологічного захисту мають мікроспоридії.

Ряд мікроспоридії – Microsporidia. Належать облігатні паразити, внутрішньоклітинні, переважно комах, а також ракоподібних та риб. Спори дуже дрібні (2–4 мкм), одна стрекательна капсула і двоядерний зародок. У середині зараженої комахи полярна нитка викидається із спори, а потім виходить зародок.

До ряду мікроспоридій належить *Nosema bombycis* Nog., що викликає нозему тутового шовкопряда; *Nosema apis* (рис. 4.3), яка є збудником нозематозу медоносної бджоли. Відомо понад 200 видів мікроспоридій, які уражують листокруток, біланів, совок. Це *Nosema carpocapsae* Pail., *Nosema brassicae* Pail., *Thelohania dispartis* Tim. тощо.

Цикл розвитку мікроспоридій складний (рис. 4.4) Спора потрапляє в тіло живителя – у кишечник через рот, у гемолімфу внаслідок поранень кутикули і трансваринально у період формування яйця. Першими двома шляхами мікроспоридії передаються спорами горизонтально в середині популяції у період розвитку одного покоління шкідника; трансварнальна передача відбувається на стадії шизогонії паразита, вертикально від покоління до покоління.

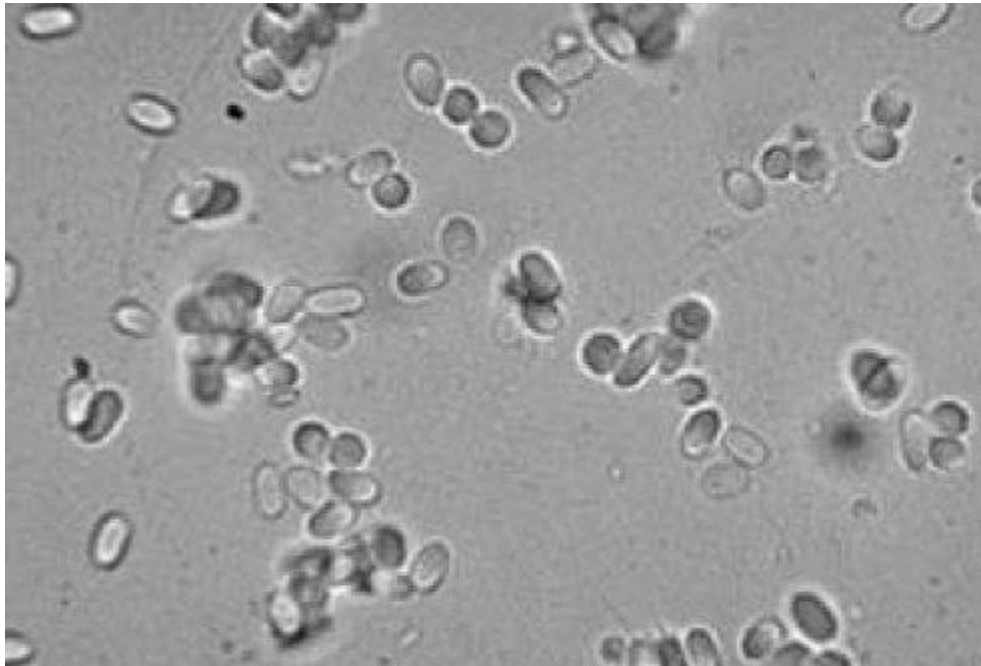


Рис. 4.3. *Nosema spp.*

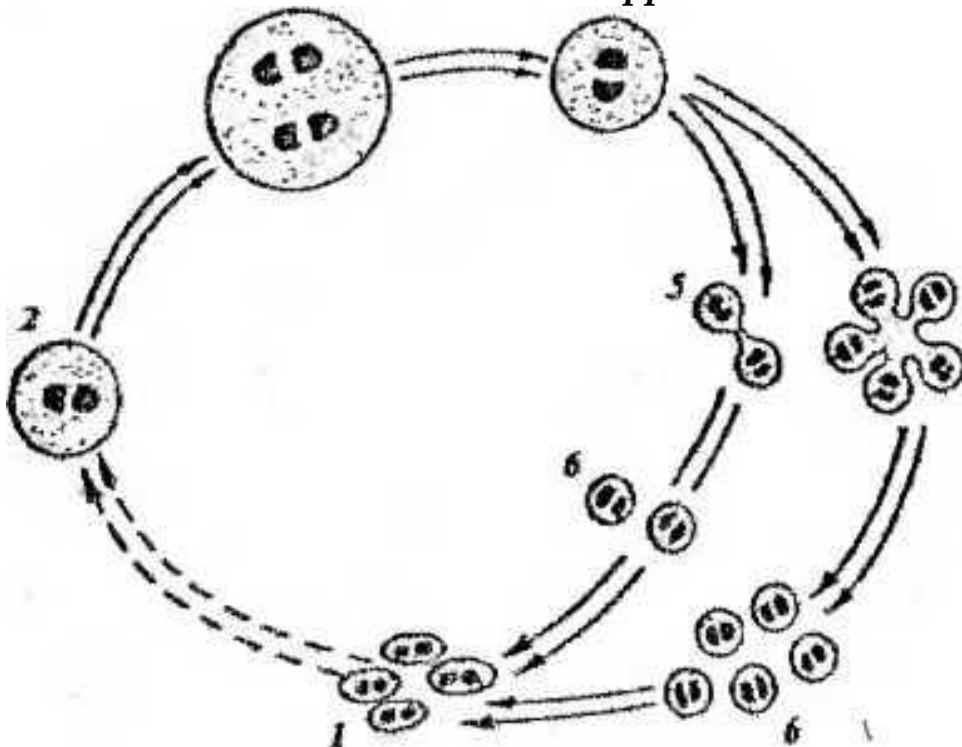


Рис. 4.4. Схема розвитку мікроспоридії роду *Nosema* (Loubes, 1979):
1 – спори; 2 – меронт; 3–5 – споронти; 6 – споробласти

У кишечнику живителя спора викидає полярну нитку, з якої виходить зародок – планонт. Він проникає в епітелій середньої кишки. У гемолімфі дрібні планонти перетворюються у шизонти, що накопичуються в цитоплазмі клітин відповідних тканин, де відбувається процес шизогонії – ділення ядра з наступним розпадом на окремі клітини – меронти. Останні знову розвиваються в яйцеподібні або стрічкоподібні шизонти, які знову поділяються на невеличкі відрізки – диплокаріонти. Вони представляють собою форми з двома близько розташованими ядрами, що потовщені. У місцях, де вони торкаються поділу ядер та поділу плазми утворюються два споронти. У результаті поділу з одного ядра утворюється від 1 до 16 споробластів залежно від роду. Так, у роду *Nosema* з одного споронта утворюється одна спора, у *Glugea* – 2, у *Gurlea* – 4, у *Thelohania* – 8, у *Plistophora* – 16 спор.

Контрольні запитання до розділу 4

1. Представники яких класів найпростіших є збудниками протозоозів комах?
2. Які назви протозоозів Ви знаєте?
3. Які найпростіші належать до класу споровиків?
4. Які найпростіші належать до класу кнідоспоридій?
5. Які найпростіші є паразитами хлібної жужелиці?
6. Які найпростіші є паразитами гусениць млинової вогнівки?
7. Які найпростіші викликають нозему тутового шовкопряда?

5. НЕМАТОДНІ ХВОРОБИ (НЕМАТОДОЗИ, ГЕЛЬМІНТОЗИ)

Клас нематоди – *Nematoda* – належить до типу круглих червів або первиннопорожнинних – *Nemalthehnintes*. Зв'язки з комахами різноманітні і ще недостатньо вивчені. У лабораторних умовах ентомопатогенні нематоди заражають більш ніж 1000 видів комах. У природних умовах коло господарів значно обмежено.

Спільні симптоми – зміна кольору і всихання тіла комах.

У зруйнованих тканинах уражених комах у великій кількості містяться личинки, дорослі нематоди і яйця подовженої форми. Нематоди звичайно рухаються.

Культивування нематод можливе на картопляному агарі, що бродить, і м'ясній кашці з додаванням антисептиків.

До видів, яких заселяють нематоди, належать личинки твердокрилих: пластинчатовусі, чорниші, короїди, вусачі, довгоносики, листоїди, зокрема, колорадський жук та ін. Із лускокрилих шкідників живителями ентомопатогенних нематод є стебловий метелик, лучний метелик, бавовникова совка, яблунова плодожерка. Із ряду прямокрилих ентомопатогенними нематодами уражуються вовчки та цвіркуни. Тому нематоди, які пов'язані з комахами, розподіляються на факультативних і облігатних паразитів.

Ентомопатогенні нематоди, що паразитують на членистоногих, належать до п'яти родин: *Steinemematidae*, *Diplogasteridae*, *Allantonematidae*, *Mermithidae* та *Steinembematidae*.

Систематичне положення ентомопатогенних нематод представлено нижче.

Тип *Nematoda* (*Nemata*)

Клас *Adenophorea*

Ряд *Mononchidae*

Родина *Plectidae*

Ряд *Stichosomida*

Родина *Mermithidae* (облігатні паразити)

Tetradonematidae (облігатні паразити)

Клас *Scementea*

Ряд *Rhabditidae*

Родина *Carabonematidae*

Cephalebidae

Chamberseillidae

- Heterhorhabditidae (облігатні паразити)
- Oxyuridae
- Panagrolaimidae
- Phabditidae
- Steinefnematidae
- Syiphonemmatidae
- Tbelastomatidae
- Ряд Spirurida (паразити тварин, переносники вірусів або проміжні господарі)
 - Родина Filariidae (облігатні паразити)
 - Onchocereidae (облігатні паразити)
 - Physalopteridae (облігатні паразити)
 - Syngamidae (облігатні паразити)
 - Spiruridae
 - Subulundae
 - Thelaziidae
- Ряд Diplogasterida (факультативні паразити)
 - Родина Diplogasteridae (факультативні паразити)
 - Cylisidrocorporidae
- Ряд Tylenchida
 - Родина Allantonematidae (облігатні паразити)
 - Aphelenchidae
 - Aphelenchoididae
 - Eataphelenchidae
 - Fergusopiidae
 - Phaenopsitylenchidae (факультативні паразита)
 - Sphaerullaridae (облігатні паразити)

Нематоди заражують усі фази комах, крім яйця. Життєвий цикл нематод складається з яйця, личинок чотирьох віків та дорослої особини.

Усі стадії, за винятком інвазійної личинки третього віку (ІІІ), знаходяться в середині паразитованої комахи. Нематоди у стадії інвазійної личинки потрапляють у тіло комах пасивно – з кормом та активно – через ротову порожнину, анус, дихальця та мембрани кутикули. Проникнувши в тіло господаря, нематоди випускають у гемолімфу комах симбіотичні бактерії, що знаходяться в їх кишківнику: рід *Xenorabdus* для роду *Steinernema* та рід *Photophabdus* для *Heterophabditus*. Бактерії швидко розмножуються в тілі господаря, а заражена комаха гине за 15–48

годин унаслідок септицимії. Нематоди живляться жировими тканинами комахи та продуктами метаболізму бактерій і згодом починають розмножуватися. Нематоди та бактерії мають мутуглістичний тип взаємовідносин. Нематоди захищають бактерії та допомагають їм вижити в навколишньому середовищі. Усередині інвазійних личинок вони транспортують бактерії до сприйнятливого господаря. Бактерії захищають нематод від розчинення під впливом механізму захисту господаря, розкладають тканини для живлення нематод.

Нематоди живляться бактеріями. Бактерії також виробляють антибіотики, що попереджають розмноженню інших мікроорганізмів у трупі комахи. За температури 18–28 °С життєвий цикл нематод триває 6–18 діб залежно від виду комах та ентомопатогенних нематод. Іноді цикл розвитку може досягати 28 днів. Комахи, які заражуються ентомопатогенними нематодами, мають специфічні для кожного виду симптоми зараження. Комахи, які загинули від нематодно-бактеріального комплексу, стають малорухомими, в'ялими та набувають специфічного забарвлення. Личинки роду *Heterorhabdus* мають червоно-коричневе забарвлення, тому що бактерії роду *Photorhabdus* продукують червоний пігмент.

Характерною ознакою зараження ентомопатогенними нематодами є те, що трупи комах мають люмінесцентне світіння у темряві. Комахи, що загинули від *Steinemetema spp.* та виділених бактерій роду *Xenorhabdus*, варіюють у забарвленні від темно-жовтого або кремового до майже чорного залежно від виду. Комахи, що загинули від *Heterhorabditis spp.*, мають червоне забарвлення.

Згодом від трупа комахи залишається лише кутикула. Якщо внаслідок зараження в комаху проникають поодинокі особини нематод, то в кінці розвитку в навколишнє середовище з трупа комах виходять десятки та сотні тисяч особин, які здатні заражувати нових комах.

Із трупа комах виходять личинки нематод третього віку (інвазійні личинки), які починають пошуки нового господаря. Нематоди на стадії інвазійної личинки можуть знаходитися в ґрунті (до 3 років) без живлення. На цій стадії вони стійкі до багатьох сучасних пестицидів.

Родина стейнерматиди – Steinerematidae. Для нематод цієї родини притаманні слабо розвинені губи і коротка ротова порожнина. Стравохід у передній частині не потовщений, за навкологлотковим нервовим кільцем поступово розширюється у слаборозвинений бульбус.

Самка має подвійний яєчник (дідельфна форма) із загнутими вершинами, які поєднуються перед статевим отвором з вульвою. Остання циліндричної форми, виходить з тіла коротким виступом. Спікули статевого, копулятивного апарату самців масивні, серповидні, рульок клиновидний і не охоплює спікули, бурсальні крила відсутні.

Відомо понад 17 видів родини, зокрема сім – на території колишнього СРСР, інші в країнах Європи, Північної Америки і Австралії. Більшість їх належить до роду *Steinernema (Neoaplectana)*. Вони порівняно великі: дорослі самки до 8 мм довжиною, самці 2,5; личинки – 0,7 мм. До цього роду належать *Neoaplectana glaseri* St., яка викликає загибель личинок японського жука та інших пластинчатовусих, гусениць стеблового метелика і бавовникової совки; *Steinernema (Neoaplectana) feltiae* Fil., яка розвивається на озимій совці і спричиняє її загибель.

Вид *Steinernema (Neoaplectana) carpocapsae* представлений трьома популяціями ("штамами"): чехословацькою, яку виділив Вейзер у 1954 р.; американською ДД-136, отриманою С. Даткі у 1955 р. Ці дві популяції виділені з яблукової плодохерки і російською – агріотес, яку виділив Г.В. Веремчук (1956) з коваликів.

Родина диплогастериди – Diploegasteridae. Короткі веретеноподібної форми нематоди. Ротова порожнина – стома – бокалоподібної форми. Стравохід перед навкологлотковим нервовим кільцем з розширенням, яке утворюється м'язами метакорпального бульбуса. Друге потовщення у задній частині стравоходу – кардинальний бульбус – не має м'язів і перетворений у залозне утворення. Яєчники самок подвійні, розташовані з обох боків від вульви. Бурсальні крила самців розвинені слабо. На них і навколо анального отвору розташовано 9–10 пар по-різному розвинених бородавок.

Більшість представників родини вільно живуть у ґрунті, воді, загниваючих частинах рослин, де живляться бактеріями та іншими мікроорганізмами. Представники роду *Pristionchus* паразитують на комах. Наприклад, *Pristionchus imiformis* Fed Ei Stan, у симбіозі з бактеріями викликає загибель колорадського жука до 85 % під час зимівлі (Польща). Але, зараження колорадського жука інвазійними

личинками нематоди у період його активності не відбувається.

Родина алантонематиди – *Allantonematidae*. Нематоди мають кільчасту кутикулу, ротові органи – гострий спис, у стравохід впадає кінець протоки слинної залози, який відкривається безпосередньо за стилетом. Гонади розвинені сильно, особливо яєчники. Загальна маса їх у 15–20 тис. разів більша інших частин тіла самки (рід *Schaerulariae*)

Стосунки представників родини різноманітні – від симбіонтів, які прикріплюються до шкіряного покриву живителя для пересування, до факультативних і облітати їх паразитів, що розвиваються в кишечнику або порожнині тіла комах. Як потенційні види для біологічного захисту рослин можуть мати деякі види з родів *Allantonema* і *Howardula*. Так, *Howardula phyllotretae* Fil. живе у порожнині тіла хрестоцвітої хвилястої блішки. Ступінь заселення в окремих випадках досягає 50 %.

Родина мермітиди – *Mermiidae*. Ниткоподібні нематоди, тіло тонке, до 10–30 мм довжиною і 0,2–0,5 мм у діаметрі. Голова округла, несе сосочкоподібні тангорецептори, хвіст конічний або тупозаокруглений. Поверхня кутикули гладка, під нею вздовж тіла проходять бокові, спинні і черевні волокна, що перехрещуються. Кишечна порожнина відсутня. Стравохід не має м'язів і являє собою сильно витягнуту в довжину кутикулярну трубку з хитинізованими стінками, розташованими навкруги рядами клітин з великими ядрами. Анальний отвір добре помітний у самців і через нього назовні висуваються спікули. Яєчники в самок довгі зі світлими верхівками. Інша їх частина темна через накопичення у майбутніх яйцях великої кількості жовтка. Кишковий канал оточений жировим тілом, яке надає нематоді білого кольору. Поживні речовини з гемолімфи живителя поступають безпосередньо через поверхню тіла, а потім через стінки стравоходу. Зимують різні фази нематод у живителі чи в ґрунті залежно від виду.

Личинка першого віку (іноді другого, якщо перша линька відбувається в яйці), яка виходить з яйця, називається інвазійною, тому що вона повинна проникнути в живителя. У деяких видів інвазійні личинки можуть жити декілька місяців, чекаючи на живителя, живлячись запасами свого тіла. У порожнину тіла комахі проникають крізь шкіряний покрив.

Тривалість розвитку личинок у тілі живителя – від місяця до року. Личинки, які закінчили розвиток, линяють і залишають живителя, пробуравлюючи отвір у стінках тіла або виходять через анальний чи ротовий отвори. Нематоди, що вийшли не живлячись, ще раз линяють

і збираються в клубки, де знаходяться одна самка і декілька самців. Дозрівання гонад у мермітид і парування триває 10–15 днів у водяних видів та 5–6 місяців і більше в наземних. Яйця самки відкладають у ґрунт або на рослини. Плодючість самок змінюється від 1 до 6 тис. яєць.

Представників вивчили недостатньо, що пояснюється тривалим циклом розвитку, важкою діагностикою, особливо у фазі личинки. Ці обставини ускладнюють штучне розмноження і вивчення кормової спеціалізації, яка в окремих видів досить широка. Наприклад, *Hexameris albicans* Seib. паразит колорадського жука, хмельового тонкопряда, непарного шовкопряда, капустяної і деяких інших видів совок; *Mermis longissima* Fedtch. паразит перелітної сарани; *Psammotermis korsakovi* Polosch. і *Psammotermis kulagini* Polosch. – паразит східного травневого жука тощо.

Контрольні запитання до розділу 6

1. Яка кількість енопатогенних нематод відома на сьогодні?
2. Представники яких рядів викликають нематодози комах?
3. Личинка якого віку є інвазійною?
4. Що є характерною ознакою зараження комахи ентомопатогенними нематодами?
5. На яких комах розвиваються нематоди з роду *Steinernema* (*Neoaplectana*)?
6. На яких комах розвиваються нематоди з родини *Allantonematidae*?

6. ХВОРОБИ ЗМІШАНОГО ТИПУ

Поряд з описаними захворюваннями, що викликаються окремими збудниками, трапляються також змішані хвороби, спричинені одночасно кількома збудниками (рис. 6.1). Значення цього типу хвороб в обмеженні масового розмноження комах має особливо велике значення.

Найчастіші прояви хвороб змішаного типу в деяких шкідливих комах наведено в табл. 6.1. Симптоми залежать від переважного збудника захворювання. Виділення в культурі проводять відповідно до збудника.

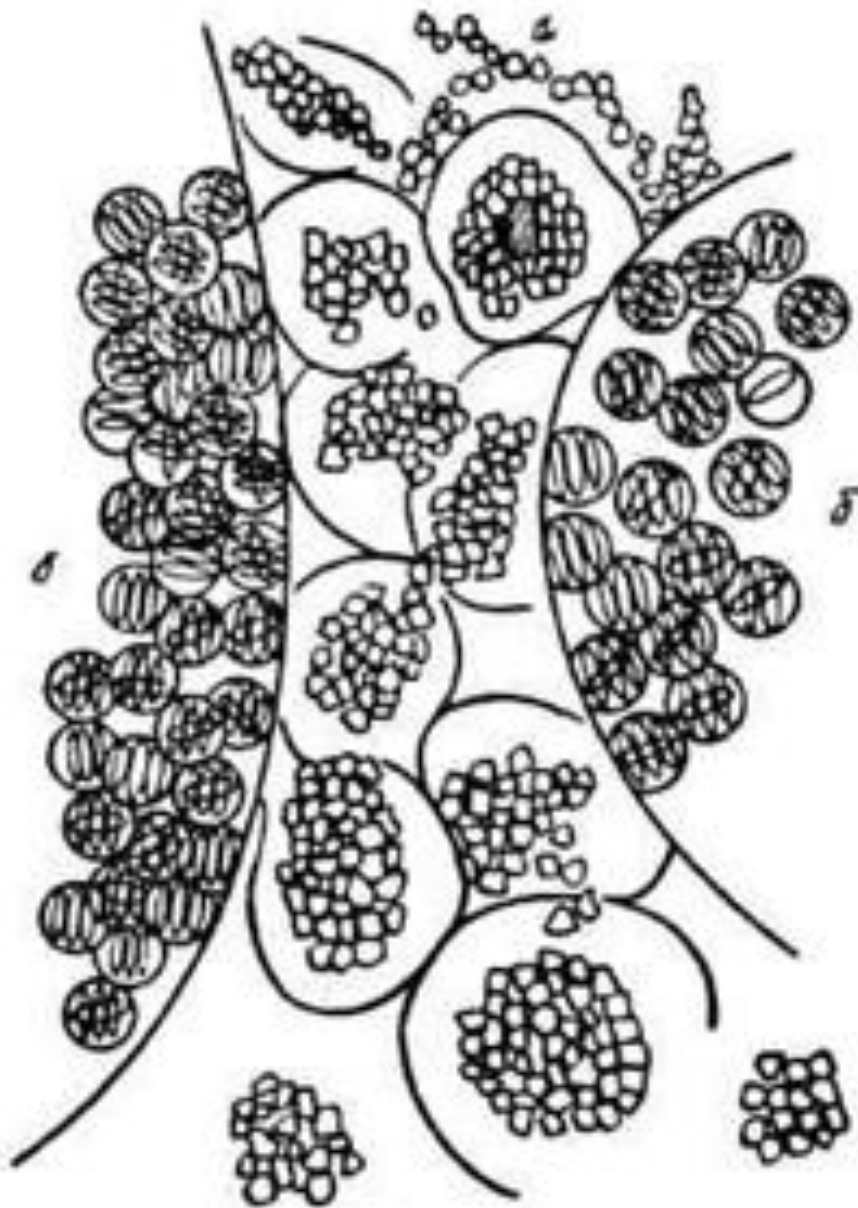


Рис. 6.1. Жирове тіло гусениці непарного шовкопряда, ураженої одночасно полієдрозом (а) і протозоозом (б)

Комахи-шкідники рослин, що уражуються хворобами змішаного типу

Назва комах	Поєднання хвороб
Совка-гамма	Ентомофтороз з поліедрозом
Білан капустяний	Ентомофтороз з мікроспоридіозом
Буряковий довгоносик	Мускардиноз різного типу
Соснова совка	Ентомофтороз із протозоонозом
Дротяники	Ентомофтороз з мускардинозом
Золотогуз	Поліедроз із протозоонозом
Непарний шовкопряд	Поліедроз з ентомофторозом
Непарний шовкопряд	Поліедроз із протозоонозом й ентомофторозом
Кільчастий шовкопряд	Поліедроз з ентомофторозом
Американський білий метелик	Гранульоз з поліедрозом

Контрольні запитання до розділу 6

1. Які хвороби комах називають хворобами змішаного типу?
2. Наведіть приклади комах та хвороб змішаного типу які у них виявляються.

7. ОБЛІК ХВОРОБ КОМАХ-ФІТОФАГІВ

Починаючи облік стану популяції шкідника, дослідник повинен ознайомитися з колом хвороб, що уражають того чи іншого шкідника. Під час спостережень у природі це допоможе зробити попередній висновок про наявність захворювань. Облік чисельності проводиться за методикою, що рекомендують для певного виду комах. Загибель комах від захворювання слід виражати у відсотках до загального числа живих і мертвих комах, знайдених у результаті обліку.

Для виявлення інфекційних захворювань під час обліку комах звертають увагу на симптоми хвороб. Характер прояву захворювань інфекційної природи може бути різним. Він визначається насамперед властивостями збудника, видовими та віковими особливостями хазяїна, його фізіологічним станом, а також супутньою мікрофлорою, якістю й кількістю корму та впливом зовнішніх умов, насамперед – температури і вологості.

У хворих особин насамперед можуть істотно змінюватися поведінкові реакції. У багатьох видів членистоногих-фітофагів в результаті інфекційних захворювань порушується характерна координація рухів, змінюються властиві їм інстинкти. Загиблі комахи іноді довго тримаються в сухому вигляді на гілках і легко можуть бути помічені в ході обстеження, однак часто хворі комахи опадають, їх змивають опади, знищують хижі комахи і гризуни. Тому під час виявлення на деревах декількох трупів комах слід звернути увагу на кору дерев, пристовбурні кола і зібрати всіх особин, що загинули від хвороб.

Зовнішній вигляд і розташування хворих комах на рослинах бувають характерними для деяких хвороб. У результаті інфекційних хвороб комахи відстають у рості, частково або цілком припиняють живлення.

Зовнішній вигляд фітофагів може істотно змінюватися. Багато збудників інфекційних хвороб розвиваються в клітинах жирового тіла. При цьому в клітинах нагромаджується маса мікроорганізмів і жирове тіло втрачає прозорість, набуваючи характерного мармурового відтінку. Як наслідок, на личинках комах з'являються різні за величиною білі плями. У гострий період перебігу захворювання плями можуть поширюватися на більшій частині тіла.

Так, наприклад, унаслідок ентомофторозу кільчастого шовкопряда загиблі комахи щільно прикріплені до гілок дерев, іноді групами, і з певним зусиллям можуть бути відділені від субстрату.

Унаслідок мускардинозу у вологих умовах муміфіковані комахи бувають укриті нальотом різного кольору: білого, димчасто-рожевого, зеленого, залежно від виду збудника.

Найпоширеніші в популяціях лускокрилих комах-фітофагів вірусні хвороби, що спричиняються бакуловірусами. Це – ядерні поліедрози й гранульози. Зовнішні ознаки хвороб багато в чому схожі незалежно від виду хазяїна. Характерні особливості властиві кишкової формі ядерного поліедрозу, за якої уражується епітелій середнього відділу кишечника личинок і розвивається діарея. Хворі й загиблі особини фіксуються до субстратів клейкими виділеннями з ротового й анального отворів.

У початковій стадії поліедрозу загального типу комахи мало відрізняються від здорових як за зовнішнім виглядом, так і за поведінкою; у міру розвитку хвороби вони стають млявими, погано живляться і мають схильність підніматися на верхівки рослин; тіло трохи розбухає і змінює колір; відтінок, якого набуває тіло хворих комах, залежить від забарвлення, що властиве комасі і має в різних видів свої особливості. У гладеньких гусениць з'являється світлий відтінок, що пізніше переходить у темно-бурий або чорний, в опушених – зміна забарвлення малопомітна. До кінця хвороби тіло гусениць розріджується і весь уміст перетворюється в мутну рідину; водночас неприємний запах, характерний для гнильного розкладу, не спостерігається. Гусениці повисають за задні ноги, і головний кінець наповняється рідиною. Зовнішні покриви легко розриваються – рідина витікає.

Ядерна поліедрія характерна для личинкових фаз комах, але поліедри утворюються також у лялечках, і тому необхідно звернути увагу на захворювання і цієї фази.

Під час оцінки ролі ентомопатогенних мікроорганізмів у регулюванні чисельності фітофагів у процесі обстеження сільськогосподарських угідь з проб комах або інших членистоногих-фітофагів відбирають особин з чітко вираженими ознаками захворювання й оцінюють ступінь зараженості в процентах до загальної їх кількості в пробі. Для дослідження беруть по кілька особин одного виду з проявом захворювання різної міри. Потім з кожної особини на предметному склі роблять мазки гемолімфи, жирового тіла і вмісту кишечника. Якщо тварини дрібні, такі як галові чи цистоутворюючі нематоди, кліщі-фітофаги, попелиці, личинки молодших віків тощо, можливі мазки з умістного тіла. Хворих комах фіксують у будь-якій фіксуючій рідині.

Біоматеріал, зібраний у польових умовах, досліджують у

лабораторії. Мікроскопія нативних і забарвлених матеріалів дає змогу виявити всі основні групи мікроорганізмів. Водночас застосовують методи звичайної люмінесцентної й електронної мікроскопії. У разі звичайної світлової мікроскопії особливості приготування нативних препаратів для ідентифікації інклюзійних вірусів залежать від типу захворювання. У разі виявлення ядерних поліедрозів, гранул і ромбічних включень ентомопоксвірусів досліджують жирове тіло, що уражується насамперед. Для цього личинку препарують і вирізають з різних ділянок тіла невеликі шматочки жирової тканини, кладуть їх у краплю гліцерину з фізіологічним розчином і накривають невеликим накривним скельцем, на нього кладуть велике накривне скло, краї якого заливають парафіном або клеєм. Приготовлений таким чином препарат можна зберігати в холодильнику кілька місяців.

У разі ядерних поліедрозів у жировому тілі виявляють методом фазового контрасту дуже гіпертрофовані клітини ядра, що містять масу овальних включень, які заломлюють світло.

У нативних препаратах жирового тіла в разі гранульозів можна виявити гіпертрофію й дезінтеграцію ядра. Окремі гранули помітні лише у фазовому контрасті або за умов максимального збільшення мікроскопа з використанням методу темного поля.

Ромбічні включення ентомопоксвірусів виявляють у цитоплазмі жирових клітин під час перегляду препаратів у фазовому контрасті. Препарати для виявлення поліедрозів перетинчастокрилих і цитоплазматичних поліедрозів лускокрилих готують із середнього відділу кишечника. Препаровану кишкову трубку розрізають уздовж по всій довжині, розправляють на предметному склі в краплі гліцерину з фізіологічним розчином і накривають накривним скельцем. Виготовлені тимчасові нативні препарати досліджують під мікроскопом. У фазовому контрасті в епітелії середньої кишки несправжніх гусениць, хворих на ядерний поліедроз, за невеликого збільшення (об'єktiv $10\times$) виявляють характерну крапчастість, зумовлену гіпертрофованими ядрами. За умов значніших збільшень (ФК об'єktiv водної іммерсії $70\times$) помітні поліедренні тільця.

Ідентифікація вірусів цитоплазматичного поліедрозу полегшується їх локалізацією в цитоплазмі циліндричних і бокалоподібних клітин епітелію середнього кишечника.

Аналізи личинок у гострій фазі захворювання дають змогу впевнено ідентифікувати бакуло- і реовіруси у зв'язку з їх тканинним тропізмом.

Під час аналізу сухого патологічного матеріалу шматочки з середньої частини трупа розтирають у невеликій кількості води і готують суспензії, які досліджують у роздавленій краплі або готують мазки для подальшого фарбування.

Найбільш трудомісткі аналізи яєць комах. Препарати для мікроскопічних досліджень готують одним із таких способів. Найпростіший – роздавлювання яєць безпосередньо на предметному склі і приготування роздавленої краплі мазків. Проте у зв'язку з тим, що вірусних включень у яйцях небагато, їх концентрують. Для цього з певної наважки яєць готують гомогенат у 10-кратному об'ємі води, фільтрують через два-три шари марлі і центрифугують до повного освітлення рідини. Осад ресуспензують і знову центрифугують. Операцію повторюють три-чотири рази. Із центрифугату готують мазки для подальшого фарбування.

Препарати, виготовлені за методом роздавленої краплі, а також незабарвлені мазки оглядають у фазовому контрасті або методом темного поля. Ефект позитивного й негативного контрасту дає однаковою мірою чіткі результати.

У темному полі ядерні і цитоплазматичні поліедри мають вигляд яскраво освітлених крапель води на незмочуваній поверхні. У препаратах, що містять значну кількість сторонніх домішок, їх виявляють за формою та інтенсивнішим заломленням світла.

Гранули в темному полі виглядають світними цятками. Гранул завбільшки $0,5 \times 1,5$ мкм навіть на забарвлених препаратах неможливо виявити під звичайним мікроскопом, а в темному полі їх добре помітно.

Вірусні включення можна сплутати з деякими продуктами клітинного і тканинного метаболізму, роблячи аналіз сухого патологічного матеріалу, а також тканинних детритів методом роздавленої краплі. У комах у фазах передлялечки і лялечки виявляють масу протеїнових тілець, які морфологічно подібні до поліедренних включень вірусного походження. Ці утворення є й у кишечнику дорослих комах. Під час аналізу такого матеріалу вдаються до спеціальних методів фарбування. У мазках можуть міститися кристали сечової кислоти і різних уратів.

Серед інших утворень, що ускладнюють діагностику вірусних хвороб комах, слід звернути увагу на ромбічні кристали меланіну, що іноді формуються у великій кількості в цитоплазмі деяких клітин.

Вірусні включення, характерні для бакуло- та поксвірусів, не фарбуються звичайними гістологічними барвниками. Для їх виявлення

практикують попередню обробку препаратів слабкими розчинами лугів. Після дії 1 %-ного луку ядерні поліедри інтенсивно сприймають багато гістологічних барвників: гематоксилін, еозин, фуксин, ген ціанвіолет, метиленову синьку тощо. На цій властивості тілець-включень ґрунтується більшість методів їх виявлення. Тому одним з найпростіших та найефективніших є метод Швецової. Висушений на повітрі препарат фіксують сумішшю спирту з формаліном (90 мл 70 %-ного спирту і 10 мл 40 %-ного формаліну) протягом 1–20 хв. Після фіксації мазок просушують фільтрувальним папером і обробляють протягом однієї хвилини 1 %-ним розчином їдкою натрію. Потім препарат фарбують 5 %-ним водним розчином еозину 3–5 хв. При цьому поліедри забарвлюються в рожевий колір, а загальне тло препарату залишається світлим.

У разі ідентифікації вірусів, що спричиняють кишкові поліедрози у трачів, ураховують деякі анатомічні особливості комах-хазяїнів. У коконованих фаз та імаго трачів у порожнині тіла можлива наявність темних щільних утворень, так званих цист, або псевдопухлин. Найчастіше такі утворення бувають у комах, що пережили вірусне захворювання, їх виявляють під час безпосереднього анатомування комах, а також за допомогою просвічування імаго, попередньо просвітлених кип'ятінням у їдкому калії. Псевдопухлини складаються з компактних мас епітеліальних тканин кишечника, що не піддавалися гістолізу. У них можна виявити бактерії та віруси.

Цитоплазматичних поліедрів забарвлюють насиченим водним розчином у метиленовій сині і за Романовським-Гімза без попередньої обробки лугами й кислотами. Мазки фіксують на полум'ї і фарбують протягом години. Властивість цитополіедрів забарвлюватися без обробки лугами й кислотами використовують для диференційної діагностики їх від ядерних поліедрів. Однак слід пам'ятати, що властивості вірусних включень з віком змінюються, а самі вони втрачають здатність забарвлюватися.

Ромбоїдальні кристали, характерні для ентомопоксвірусів, у початковий період формування, коли вони завбільшки не перевищують 0,7–1,0 мкм, забарвлюються аніліновими барвниками. Достиглі вірусні включення стають стійкими до забарвлення, а тому їх слід попередньо обробляти соляною кислотою або лугом. Процес забарвлення достиглих включень такий: препарат витримують протягом кількох секунд за 100 °С, а тоді три хвилини обробляють соляною кислотою чи лугом (1 % NaOH або 2 % HCl) і фарбують за Романовським-Гімза.

Найкращі результати під час забарвлення гранул дає метод

Швецової. При цьому фіксують мазок сумішшю спирту й формаліну протягом 10 хв. Після видалення фіксатора препарат обробляють одну хвилину 1 %-ним лугом, промивають, висушують і фарбують карболовим фуксином протягом 1 хв. Після фарбування препарат ретельно промивають. За цього способу дрібні форми бактерій забарвлюють, як і гранули. Для диференціювання вірусу паралельно забарвлюють інший препарат, але без обробки лугом. При цьому гранули не сприймають барвника і не помітні під мікроскопом.

Для встановлення тканинної і клітинної локалізації патогенів готують зрізи комах звичайними гістологічними методами.

Риккетсії погано забарвлюються аніліновими барвниками. Їх забарвлюють азурозином за Романовським-Гімза, або розчином Маккіавеллі. Практикують також метод Кастенді, за яким препарат обробляють три хвилини в 1%-ній метиловій сині, розчиненій у фосфатному буфері з рН 7,5, потім підфарбовують у 10 мл 1 %-ного сафраніну з 30 мл 0,1 %-ної оцтової кислоти.

Бацили, зокрема такий важливий патоген, як *Bacillus thuringiensis*, забарвлюються по-різному. Париспоруальні включення, або ендотоксини, легко забарвлюють за Романовським-Гімза вилюгованим фуксином та кристалвіолетом. Простий спосіб комплексного забарвлення запропонував А.Б. Гукасян. Суть його в тому, що 1,5 г анілінового барвника для шерсті (чорного, синього або зеленого) розчиняють у 50 частинах 98 %-ного етанолу, потім додають 40 частин дистильованої води і 10 частин кислоти. Барвник наносять на фіксовані високою температурою мазки, поки предметне скло ще не охолотило. Після промивання мазки дофарбовують 30 %-ним водним розчином карболового фуксину Ціля.

Параспоруальні включення *Bacillus popilliae* виявляють за допомогою забарвлення за Цілем-Нільсоном. Цей метод, а також методи забарвлення за Грамом джгутиків, бактеріальних спор, виявлення капсул і включень у мікроорганізмів викладено у спеціальних рекомендаціях.

Унаслідок бактеріозу свіжозагиблі комахи в стадії личинки можуть бути виявлені також на деревах, за які вони зачепилися задніми і середніми ногами. Але внаслідок швидкого руйнування тканин вони не втримуються на деревах і часто випадають із обліку.

Комахи, уражені бактеріозом, за зовнішнім виглядом і положенням на рослинах можуть бути помилково прийняті за комах, уражених вірусними хворобами, однак у разі зараження бактеріями клітини гіподерми залишаються більш щільними і шкірні покриви не

розриваються. Крім того, унаслідок бактеріозі відзначається гнильний запах.

Унаслідок протозоозу спостерігається відставання комах у розвитку, зменшення розмірів тіла. Загиблі комахи часто бувають зморщеними, сухими, іноді вкритими темними плямами. У разі гельмінтозу буває також усихання тіла і до кінця інвазії іноді залишаються порожні шкурки.

Під час обстеження хворих комах у природних умовах уявлення про консистенцію комах і зміни кольору гемолімфи дає розріз комах лезом безпечної бритви. Унаслідок грибних хвороб: виявляється в'язка чи тверда консистенція, іноді рожеве забарвлення внутрішніх тканин на розрізі. У разі вірусних хвороб рідина, що витікає, звичайно молочного вигляду. Унаслідок ураження кишечника можна помітити також збільшення і зміну забарвлення кишечника за рахунок гіпертрофії і скупчення поліедрів в епітелії середньої кишки.

Одним із симптомів вірусної хвороби рудого соснового пильщика є виділення з ротового і анального отворів мутної рідини, що містить поліедри.

Деякі хвороби (вірози, ентомофторози, протозоозози, а також їхні сполучення) можуть набувати характеру епізоотії і при виявленні окремих уражених особин можна прогнозувати поширення хвороби в популяції на великій площі. Особливо важливо щодо цього відзначити хвороби, що передаються наступному поколінню (вірусні і протозойні), тому що вони неминуче ведуть до летального результату.

Якщо виявлено значний відсоток загибелі комах (вище 50 %), слід провести ретельні спостереження над поширенням захворювання: воно обмежується окремими осередками чи інфекція охоплює весь регіон розмноження шкідника. Якщо під час визначення виявиться, що хвороба належить до типу епізоотичних, то слід узяти таку ділянку під спостереження і стежити за ходом розвитку хвороби.

Для того, щоб прискорити висновок про стан популяції, доцільно перенести живий матеріал до лабораторії для дослідної відгодівлі. У разі зростання загибелі можна зробити припущення про зниження чисельності шкідника у природних умовах. У цьому випадку можна чекати значного спаду розмноження, що найближчого року приведе до ліквідації спалаху.

Епізоотії можуть проходити з різною швидкістю, що залежить не тільки від природи збудника, а й від метеорологічних умов, чисельності шкідника і пов'язаного з цим стану корму. Порушення кормових умов

Патологія комах-фітофагів

сприяє швидкому перебігу хвороби. Сильне ушкодження кормових рослин особливо прискорює летальний результат.

Дуже залежні від кормового чинника також вірусні захворювання багатьох шкідників. Наприклад, епізоотії непарного шовкопряда спостерігаються після масового об'їдання дуба і переходу гусениць на інші рослини.

Таким чином, щоб зробити висновок про можливе припинення розмноження шкідника за рахунок захворювання, потрібно враховувати ці чинники, що впливають на життєздатність шкідника.

Контрольні запитання до розділу 7

1. За якими ознаками визначають хворих особин комах?
2. Якими методами обліковують мікози комах?
3. Як обліковують бактеріози комах?
4. Як проводять облік вірозів комах?
5. Якими методами обліковують протозоозни комах?

8. ДІАГНОСТИКА КОМАХ-ФІТОФАГІВ НА УРАЖЕНІСТЬ ХВОРОБАМИ

Правильна постановка діагнозу захворювань комах важлива для спеціалістів різного профілю. Особливо велике значення має правильне діагностування хвороб для прогнозу масового розмноження, тому що деякі хвороби можуть привести до повної ліквідації шкідника, а також коли передбачається використання того чи іншого збудника для мікробіологічної боротьби. Практичне значення хвороб комах – шкідників рослин різне. Одні з них суттєво впливають на долю популяції, бо передаються в наступні покоління і виявляються у потомстві, що, природно, позначається на динаміці їх чисельності. Інші – обмежуються невеликими осередковими спалахами.

Для встановлення причин загибелі комах і визначення хвороби дуже важливі спостереження можуть бути зроблені ще за життя комах безпосередньо в природі. Якщо ознаки захворювання комах відзначені в природних умовах, але немає можливості провести тривалі спостереження за ними в природній обстановці, корисно зібрати таких комах і перенести в умови лабораторії, де можна продовжити спостереження. Здебільшого умови лабораторії (підвищена температура, недостатньо повноцінний корм) провокують швидкий прояв і перебіг хвороби. Разом з тим дані, отримані під час спостереження за комахами в лабораторії, досить вірогідно відбивають дійсний стан популяції – наявність збудника і в меншому масштабі дають уявлення про те, що на більшій площі і більш розтягнуто проходить у природі.

Такі спостереження над хворими комахами дають можливість простежити за різними стадіями хвороби, зареєструвати різні ознаки захворювання. У разі хронічних форм захворювання видається можливим спостерігати перехід збудника до наступної фази розвитку комах.

Маючи справу з хворими комахами в природних умовах, слід звертати увагу на такі ознаки і симптоми захворювання: на личинковій стадії – уповільнення і припинення руху, параліч, припинення живлення, зміна кольору тіла – потемніння, утрата природного забарвлення, укорочення волосків і щетинок, виділення з кишечника і ротового отвору. Уповільнена реакція і виділення мутної рідини у відповідь на подразнення.

Характерне розташування загиблих гусениць на кормовій рослині: вони повисають, прикріплюються до субстрату ногами,

ротовими частинами, середньою частиною тіла. Якщо частина комах виживає, хвороба виявляється на більш пізній стадії розвитку. У цьому випадку слід звернути увагу на різні аномалії в розвитку: зменшення розмірів і ваги тіла, подовження чи скорочення періоду розвитку, повна зупинка в розвитку, деформація імаго, зменшення розмірів яйцекладок, загибель на стадії яйця, повна безплідність.

Над відібраними для визначення захворювання комахами проводять дослідження за такою схемою.

Зовнішній огляд комах.

Під час огляду звертають увагу: на забарвлення покривів, наявність плям грибного нальоту, цілісність шкірного покриву, витікання вмісту, муміфікацію, в'язку чи крихку консистенцію, розм'якшення тіла, гнилісний чи ароматичний запах тощо.

Підготовка матеріалу для мікроскопічного аналізу.

Для робіт, пов'язаних з визначенням захворювань комах, необхідне нескладне устаткування, опис якого наведено в кінці розділу.

Методи аналізу різні залежно від стадії розвитку досліджуваних комах і характеру їхнього ураження. Якщо є грибний наліт на поверхні тіла комах, його досліджують під мікроскопом. Для цього прожареною препарувальною голкою береться невелика частина нальоту, кладеться на предметне скло в краплю води, накривається накривним скельцем і мікроскопується.

В інших випадках необхідна поверхнева стерилізація комах, щоб уникнути потрапляння сапрофітних мікроорганізмів. Найпростішим способом поверхневої стерилізації є прогрівання комах швидким проведенням через вогонь спиртівки. Можливе також занурення цілої комах в дезинфікуючу рідину (у водний розчин сулеми 0,1 % на одну-три хвилини з наступним промиванням стерильною водою чи в розведеному до 70° етиловому спирті та ін.). Як дезинфікуючі речовини можуть бути взяті: водний розчин йоду, у який занурюють комах на 5 хв., 3 %-ний лізол, у який занурюють на 3 хв., 5 %-ний формалін – на 15 хв. Непогані результати дає також витримування комах протягом 3–10 хв. у 2 %-ному карболовому розчині з наступним зануренням на короткий час в ефір чи перекис водню. Деякі автори рекомендують використовувати для цього антибіотики. Для місцевої стерилізації великих об'єктів зручно припікати розпеченим кінцем ланцета ділянку шкіри, у яку потім вводиться голка чи пастерівська піпетка для взяття матеріалу.

Детальніший опис підготовки матеріалу наводиться за фазами розвитку комах.

Яйце. Яйця комах після поверхневої стерилізації роздавлюють, оболонку їх видаляють і вміст яйця в краплі води оглядають під мікроскопом.

Личинка. Після стерилізації покривів робиться укол і випускається крапля гемолімфи на предметне скло. Для мікроскопування, крім того, береться платиновою голкою в краплю води шматочок гіподерми, жирового тіла й окремо епітелій.

Для встановлення локалізації інфекції і патологічних змін окремих органів робиться розтин личинки під бінокулярном чи під препарувальною лупою. При цьому слід звернути увагу на колір жирового тіла і ступінь заповнення ним порожнини тіла комахи. Унаслідок деяких захворювань (протозооз, кишкова форма поліедрозу, гранульоз) іноді спостерігаються гіпертрофія епітелію середньої кишки і поява стовщень.

Якщо є плями, готується окремий препарат з покривів з помітними змінами й окремо з епітелію середньої кишки.

Лялечка. Після поверхневої стерилізації робиться поперечний розріз через лялечку між другим і третім черевними сегментами. Також мікроскопується середня кишка, мальпігієві судини і жирове тіло.

Имаго. Стерилізуються покриви, видаляються дуже хітинізовані частини тіла (крила жуків, надкрила клопів тощо). Препарат виготовляється з внутрішніх тканин черевця (гемолімфа, гіподерма, жирове тіло).

У деяких випадках протозоозів збудник може бути виявлений у вигляді спор найпростіших також і в жилках крил.

Перелік приладів та обладнання, необхідних для аналізу уражених патогенами комах: мікроскоп зі збільшенням 200, 300 і 1500[×], окуляр та об'єкт-мікрометри, бінокуляр МБС-2, препарувальна лупа 4, сушильна шафа, центрифуга на 3000 обертів/хв., автоклав, скло предметне і накривне, пастерівські піпетки, мірні піпетки, пробірки бактеріологічні, пробірки ентомологічні, скло годинникове, чашки Петрі, парафінові ванночки для розтину комах, годинник пісковий, препарувальні голки, скальпель, пінцет, ножиці, ентомологічні шпильки, спиртівка, фільтрувальний папір, імерсійна олія, бензин, шприци.

8.1. Мікроскопічний аналіз

Препарати, приготовлені зазначеним вище способом, переглядаються в умовах малого і великого збільшень мікроскопа без фарбування. Такий перегляд дає можливість установити характер захворювання і перейти до детальнішого аналізу, використовуючи спеціальні методи дослідження, куди входять способи фарбування збудників, виділення й очищення збудника чи паразита (віруси, найпростіші, нематоди), ізоляція в чисту культуру (бактерії і гриби) і визначення патогенності для комах.

У разі ураження грибами в гемолімфі, жировому тілі, м'язах виявляються різні стадії розвитку грибів. У гемолімфі і жировому тілі часто трапляються гіфові тіла, що являють собою овально-подовжені клітини, які брунькуються і гілкуються, різного розміру. Деякі грибні збудники всередині комах утворюють спочиваючі спори у вигляді чорного чи безбарвного крупинчастого вмісту. Під мікроскопом вони являють собою правильні круглі утворення з подвійною оболонкою і зернистим умістом. У разі порушення покривів вони висипаються. У щільних тканинах комах помітні сплетення міцелію різного характеру (з поперечними перегородками чи без них), залежно від виду гриба. Гриби добре помітні без фарбування. Можна бачити в міцелії поперечні перегородки, що дають змогу приблизно визначити групу грибів. Органи плодоносіння грибів утворюються на поверхні комах і їх слід розглядати в препаратах, приготовлених з поверхневого нальоту. Для кращого розпізнавання деталей і для фотографування препарати з грибами можуть бути пофарбовані однією з анілінових фарб (метиленова синь, сафранін, еозин, фуксин, нейтральрот та ін.). Для цієї мети застосовується 1 %-ний спиртово-водяний розчин. Під час слабкого нагрівання фарбування прискорюється. Препарат після видалення надлишку фарби проглядається в краплі води. Для встановлення видової належності конідій ентомофторових грибів пропонується фарбування ядер за спеціальними методиками.

Для мікроскопічного вивчення грибів використовують спеціальні пристосування: камери Ранв'є, кільця Ван Тигема та ін. За методом Н.М. Підоплічко гриби можна культивувати безпосередньо під накривним скельцем у краплі агаризованого живильного середовища.

У разі бактеріального захворювання в незабарвлених препаратах за великого збільшення виявляються бактерії різного розміру, рухливі чи нерухомі, зі спорами чи без спор. Іноді бактерії з'єднані в ланцюжки. Спори бактерій виявляються за великим переломленням

світла. З більшою впевненістю наявність бактерій можна встановити, застосовуючи фарбування. Одним з найбільш швидких методів фарбування бактерій є фарбування карболовим фуксином Циля. Під час цього способу не потрібно спеціальної фіксації. Фарбування карболовим фуксином дає можливість розрізняти кристалоподібні білкові включення, утворені деякими ентомопатогенними споровими бактеріями. Крім цього методу фарбування, можуть бути використані спиртововодні розчини (2,5 %) звичайних бактеріологічних фарб (метиленова синь, генціан-віолет, метил-віолет та ін.), а також фарбування за Грамом. Водночас потрібна попередня фіксація препаратів. Для цього мазок з гемолімфи чи інших тканин комахи (він не повинен бути дуже густим) висушують і фіксують швидким трикратним проведенням через полум'я спиртівки. Мазки можна фіксувати сумішшю спирту з ефіром у співвідношенні 1:1. Після випаровування фіксатора наноситься фарба; препарат промивають, висушують і переглядають під імерсією.

Питання про роль бактерій у захворюванні може бути розв'язано після отримання їх у чистій культурі і наступного зараження ними здорових комах.

Розпізнавання вірусних хвороб потребує особливих методів.

Поліедроз загального типу легко встановити за наявністю в препараті з гемолімфи, гіподерми, жирової тканини й епітелію трахей білкових, заломлюючих світло тілець-поліедрів. Вони бувають у масі в препараті з цих тканин. На ранній стадії вони заповнюють ядра зазначених тканин. У тих випадках, коли є кишкова форма поліедрозу, поліедри локалізуються в ядрах клітин епітелію середньої кишки. Тому необхідно досліджувати і кишечник загиблих комах.

За великої кількості поліедрів вони безпомилково можуть бути діагностовані, але в нетипових випадках необхідно застосовувати спеціальне фарбування.

Діагностичними ознаками для розпізнавання ядерних і цитоплазматичних поліедрів може бути різне фарбування поліедрів, що утворюються в ядрі і цитоплазмі клітин. Цитоплазменні поліедри сприймають фарбування нейтральним розчином метиленової сині, у той час як поліедри ядерного походження фарбуються тільки після попередньої обробки кислотою чи лугом.

Вірусні частинки можуть бути виявлені тільки в електронному мікроскопі. Через те, що більша частина вірусних частинок міститься в інертній білковій масі поліедра, їх необхідно попередньо вивільнити.

Це досягається обробкою поліедрів слабкими лугами методом Бергольда. Послідовний процес приготування препарату для електронно-мікроскопічних спостережень полягає ось у чому. Виділені з уражених тканин комахи поліедри багаторазово промивають фізіологічним розчином з наступним центрифугуванням при 2000 обертах за хвилину. Після останнього промивання в дистильованій воді поліедри, що випали в осад, висушують у термостаті за температури 37 °С чи в ексікаторі над хлористим кальцієм. Наважку в 5 мг сухих поліедрів переносять у 1 мл буферного розчину, що являє собою суміш вуглекислого натрію з хлористим натрієм. Розчини готують різної концентрації, тому що поліедри різних комах розчиняються за різних значень рН.

Найбільш придатним способом для обробки більшості ядерних поліедрів є суміш 0,008М розчину вуглекислого натрію і 0,05М хлористого натрію. У буферному розчині поліедри витримують від однієї до двох годин і довше залежно від особливостей поліедрів. Після центрифугування при 2000 обертах за хвилину надосадову рідину (з вірусними частинками) зливають і знову центрифугують при 12000–14000 обертах за хвилину. Отриманий осад розводять бідистильованою водою і краплю суспензії наносять на предметну сіточку для розгляду в електронному мікроскопі.

Гранульоз характеризується утворенням дрібних гранул, які у звичайному мікроскопі погано помітні і видаються у вигляді коливних зерняток, що не фарбуються звичайними способами. Гранули помітні після застосування спеціального фарбування.

Для виявлення в електронному мікроскопі вірусних частинок, що містяться у гранулах, останні обробляють так само, як це зазначено для поліедрів. Як буферну суміш для розчинення гранул застосовується більш концентрований розчин, що містить 0,05 чи 0,08М вуглекислого натрію і 0,05М хлористого натрію.

Унаслідок ураження комах найпростішими з ряду мікроспоридій у мазках, приготовлених з різних тканин, можна бачити стадії паразита – від дріжджеподібних форм, названих шизонтами, до спор, що є спочиваючою стадією паразита. Збудники протозоозів різноманітні за локалізацією в тканинах і органах комахи і за формою та розмірами спор. Діагноз захворювання встановлюється за наявністю спор. Останні нагадують спори грибів. Без фарбування можна розрізнити в спорах подовжню темну смужку, що є полярною ниткою, яка, викидаючись за певних умов, прикріплює паразита до тканин

хазяїна. Наявність полярної нитки може бути встановлено спеціальними методами.

У випадках змішаних захворювань, коли є декілька збудників різної природи, найчастіше при мікроскопуванні можна знайти гриби з поліедрами, спори найпростіших з поліедрами, гранульоз і поліедроз одночасно та інші сполучення. Бактерії часто домішуються до різних збудників, не будучи основним збудником хвороби. У випадку змішаних захворювань слід виявити основних збудників і аналіз проводити відповідно до методик, зазначених для кожного окремо.

У разі ураження нематодами у водному незабарвленому препараті неозброєним оком можна розрізнити наявність дрібних трохи вигнутих рисок, що являють собою живих нематод. За малого збільшення мікроскопу помітні дорослі особини, личинки і яйця нематод. Нематоди можуть бути виявлені в окремих органах, наприклад, у мальпігієвих судинах.

Одночасно з ураженням нематодами в комах можуть бути наявними інші збудники, наприклад, різні мікроорганізми.

8.2. Спеціальні методи фарбування збудників хвороб комах

Фарбування ядер конідій ентомофторових грибів для встановлення їх видової належності.

Необхідні речовини:

- 1) залізо-аміачні галуни (2,5 %);
- 2) залізний гематоксилін за Гейденгайном (1 г гематоксиліну розчиняють у 10 мл 96%-ного етилового спирту, додають 90 мл дистильованої води і залишають дозрівати не менше чотирьох тижнів. Перед уживанням вихідний розчин фарби розводять дистильованою водою 1 : 2).

Препарат з конідіями протруюють протягом 40 хвилин у розчині залізо-аміачних галунів (1), ретельно промивають у дистильованій воді й фарбують залізним гематоксиліном протягом 40 хвилин – однієї години (2). Після фарбування препарат стає чорним і його слід диференціювати в залізо-аміачних галунах (1), контролюючи під мікроскопом фарбування. Препарат промивають у водопровідній воді протягом 30 хвилин за умови частої зміни води. Ядра конідій фарбуються в синювато-чорний колір.

Фарбування поліедрів методом Шведової.

Необхідні речовини:

- 1) 70 %-ний спирт із 10 мл формаліну (90 мл 70 %-ного спирту і

Патологія комах-фітофагів

10 мл нерозбавленого 40 %-ного формаліну);

2) 1 %-ний розчин їдкого лугу (NaOH);

3) 5 %-ний водний розчин еозину.

На предметне скло наносять краплю досліджуваної рідини чи проводять по предметному склу шматочком тканини. Після висушування на повітрі препарат фіксують сумішшю спирту з формаліном (1) протягом 10–20 хв. На просушений між аркушами фільтрувального паперу препарат рясно наливають розчин лугу (2). Через одну хвилину розчин лугу змивають водою і препарат фарбують розчином еозину (3) три-п'ять хвилин. Поліедри набувають рівномірного рожевого фарбування. Бактерії, спори грибів та бактерій, а також більша частина елементів тканин не фарбуються.

Фарбування поліедрів за методом Похіла.

Необхідні речовини:

1) 1 %-ний водний розчин брильянтової чи малахітової зелені;

2) 1 %-ний розчин пікринової кислоти.

Фіксований на полум'ї спиртівки препарат фарбується 10–15 секунд брильянтовою чи малахітовою зеленню (1); після цього рясно промивається водою і додатково фарбується три-п'ять хвилин 1 %-ним розчином пікринової кислоти (2). Пікринова кислота обполіскується водою, препарат сушать і переглядають під мікроскопом з імерсією. У результаті фарбування загальне тло препарату зелене, поліедри – золотаво-жовті.

Фарбування цитоплазменних поліедрів.

Необхідні речовини: насичений водний розчин метиленової сині.

Препарат з підсушеним мазком фіксують на полум'ї пальника чи в суміші спирту з формаліном. Фарбують метиленовою синню протягом години.

Фарбування гранул вірусу гранульозу (метод Шведової).

Необхідні речовини:

1) 70 %-ний етиловий спирт із формаліном;

2) 1 %-ний розчин їдкого лугу;

3) карболовий розчин фуксину (фуксин Циля).

1 г основного фуксину розтирають у фарфоровій ступці з 10 мл спирту і до отриманої маси додають 5 г кристалічної карболової кислоти. До суміші під час розтирання поступово додається 100 мл дистильованої води. З рідини, що витікає при уколi шкірного покриву комахи, готують два мазки для порівняльного перегляду. Це необхідно для того, щоб виключити дрібні бактерії, що можуть бути прийняті за

гранули. Після висихання мазків їх фіксують розчином спирту з формаліном (1) протягом 10 хвилин. Після видалення фіксатора фільтрувальним папером один з мазків обробляють одну хвилину розчином луку (2) і промивають водою. Обидва мазки фарбують карболовим фуксином (3) протягом однієї хвилини, промивають і підсушують. У препараті, не обробленому лугом, гранули вірусу не фарбуються, а бактерії та інші мікроорганізми фарбуються. У препараті, обробленому лугом, гранули вірусу фарбуються в червоний колір.

Фарбування кристалоподібних включень спорових бактерій (метод Шведової).

Необхідні речовини: карболовий фуксин Циля.

На підсушений мазок з бактеріальної суспензії наливають карболовий фуксин і фарбують протягом 0,5–1,0 хв. Препарат промивають водою і мікроскопіюють із застосуванням імерсійної олії за умови збільшення в 1300–1500 разів.

Кристалічні включення фарбуються в червоний колір, спори бактерій не фарбуються.

Виявлення і фарбування полярної нитки спор мікроспоридій.

Необхідні речовини:

- 1) 5 %-ний розчин азотнокислого срібла (хімічно чистий);
- 2) аміак;
- 3) формалін (розведений водою 1 : 9);
- 4) насичений на холоді розчин таніну.

Для приготування розчину аміачного срібла до 5 %-ного розчину азотнокислого срібла доливається по краплі аміак (за умов безупинного збовтування) доти, доки осад, що утвориться при цьому, знову розчиниться. Потім по краплі додають 5 %-ний розчин азотнокислого срібла до появи незникаючої каламуті, готова рідина не повинна пахнути аміаком. Стаканчик для фарбування має бути добре закритий. Розчин рекомендується готувати безпосередньо перед використанням, тому що він незабаром стає непридатним.

У деяких видів мікроспоридій екструзію полярних ниток можна викликати механічним тиском, шляхом натискання на накривне скельце.

В інших випадках для екструзії полярної нитки використовуються такі речовини: оцтова, соляна, азотна і сірчана кислоти; аміачна, йодна і дистильована вода; ефір, гліцерин, перекис водню і фізіологічний розчин.

Перед використанням зазначених речовин необхідне висушування мазків гемолімфи з уражених комах протягом кількох годин при 25–

27 °С. Кращі результати дає обробка відмитих спор.

Обробка мікроспориридій зазначеними вище речовинами при 25–30 °С приводить до викидання ними ниток протягом кількох хвилин. Після висихання мазків їх фіксують у розчині формаліну протягом кількох діб. У зв'язку з дуже малим діаметром полярної нитки мікроспориридій необхідна спеціальна обробка (імпрегнація), що проводиться за методом Фонтана, видозміненому І.В. Вихровою. Мазки із спорами і полярними нитками, фіксованими у формаліні (1 : 9), швидко промивають у дистильованій воді. Скло з мазками поміщають на 15–30 хв. у насичений розчин таніну, підігрітий до 50 °С. Скло виймають, охолоджують і промивають у дистильованій воді, доки мазки стануть непрозорими. Потім мазки фарбують розчином аміачного срібла за Фонтаном протягом 15–30 хв. Для наступної фіксації мазки поміщають у формалін (1 : 9). У процесі імпрегнації частинки срібла осаджуються на полярних нитках і вони стають чітко помітними при великому збільшенні мікроскопа. При цьому полярні нитки фарбуються в майже чорний колір, а спори – в червоно-коричневий. Провівши мазки через висхідний спиртовий ряд, їх можна зафіксувати в канадський бальзам.

У разі імпрегнації мазків гемолімфи необхідно, щоб перебування мазків у розчині срібла не перевищувало трьох хвилин, тому що білки лімфи фарбуються в інтенсивно коричневий тон; тому для імпрегнації краще використовувати споровий матеріал без гемолімфи.

8.3. Метод наведеної люмінесценції

У деяких випадках для виявлення різних мікроорганізмів ефективним виявляється метод наведеної люмінесценції. Готують препарат для люмінесцентно-мікроскопічного аналізу таким чином. Мазки фіксують на полум'ї. Після цього препарат недовго обробляють ефіром для видалення жирових речовин. Обробка ефіром не позначається на результатах аналізу і дає змогу позбутися певної частини сторонніх домішок. Необхідним моментом у підготовці мазка до флуорохромування є обробка його 5 %-ним розчином карболової кислоти протягом 10 хв. Карболову кислоту, що залишилася після цього на препараті, змивають дистильованою водою, а рештки видаляють за допомогою фільтрувального паперу.

Флуорохромування здійснюють за допомогою акеридину оранжевого в концентрації 1 : 40 000 протягом 15 хв. Розчин флуорохрому готують з основного 1 %-ного розчину з розбавленням його до необхідної концентрації фосфатним буфером з рН 5. Препарат

промивають водою і після висушування оглядають у падаючому синьо-фіолетовому світлі (фільтри 2ФС-1 та 2СЗС-7) з об'єктивом масляної імерсії. При цьому вірусні включення люмінесцують жовто-зеленим (І-1), бактерії – хромово-оранжевим (0-3), а тканинні рештки – коричневим (В-7) різної інтенсивності.

Поліедри зі свіжого патологічного матеріалу можуть люмінесціювати хромово-оранжевим, оскільки інтенсивніше сприймають барвника, ніж тільця-включення, що зберігалися певний час. У такому разі слід скоротити час флуорохромування або диференціювати зафарбований препарат 2 %-ною соляною кислотою з подальшим промиванням його водою.

Метод дає можливість виявляти поліедри в разі змішаних захворювань комах під час аналізу гнилого чи сухого біоматеріалу, коли в препаратах міститься величезна кількість сапрофітних мікроорганізмів.

Флуорохромування дає змогу досить чітко диференціювати в мазках вегетативні клітини, спори й кристали ендотоксину бактерій *Bacillus thuringiensis*. Готують препарати для мікроскопії таким чином. Мазок культури на предметному склі після висушування фіксують п'ять хвилин 5 %-ною карболовою кислотою. Після промивання водою препарат флуорохромують акридином оранжевим протягом п'яти хвилин. Розчин барвника готують на фосфатному буфері з рН 5,3 в концентрації 1 : 50 000. У падаючих синьо-фіолетових променях люмінесцентного мікроскопа при цьому спостерігається яскраво-червоне світіння вегетативних бактеріальних клітин, світло-жовте – кристалів токсину і зелене – спор.

Для цілеспрямованого пошуку певних видів патогенів застосовують імунофлуоресцентну мікроскопію препаратів. Суть її полягає в появі специфічного світіння комплексу «антиген-антитіло» в променях синьо-фіолетового та ультрафіолетового світла в разі використання в комплексі антитіл з барвником, що флуоресціює. Практично під час застосування цього методу на предметне скло з мазком досліджуваного матеріалу або гістологічним зрізом наносять специфічну сироватку, мічену флуоресціюючим барвником. Якщо в препараті є мікроорганізми, специфічно споріднені з міченим антитілом, відбувається їх зв'язування. Утворена при цьому комбінація досить міцна і зберігається в процесі ретельного промивання препарату видаленням надлишку міченої сироватки.

Специфічно локалізоване світіння під люмінесцентним мікроскопом указує на наявність антигену. Якщо антиген відсутній, світіння в полі зору мікроскопа не спостерігається.

Найчастіше застосовують два методи імунофлуоресцентного забарвлення: прямий і непрямий. За прямого методу на препарат наносять флуоресціюючий кон'югат, розбавлений до необхідного титру. За непрямого методу препарат обробляють імунною нефлуоресціюючою сироваткою. Антитіла, преципітовані на антигені, виявляють, обробляючи флуоресціюючою сироваткою, імунною щодо γ -глобуліну того самого виду тварини, від якого було одержано флуоресціюючу сироватку.

Метод імунофлуоресценції високочутливий і дає змогу виявляти мінімальну кількість мікроорганізмів у досліджуваному матеріалі. Він стає незамінним у діагностиці змішаних бактеріально-вірусних захворювань комах, коли кількість включень в уражених клітинах незначна, а також для аналізу яєць, личинок початкових віків і дрібних комах.

Уперше метод застосовано в мікробіології комах для виявлення риккетсій Провачека в кишечнику воші одержаної. У подальшому за допомогою імунофлуоресценції не раз виявляли ентомопатогенних мікроорганізмів у різних комах. Застосування методу флуоресціюючих антитіл дало змогу виявити поліедренний антиген у яйцях тутового шовкопряда та визначити його локалізацію.

Для отримання якісних антитіл використовують чисті культури мікроорганізмів.

В Інституті мікробіології та епідеміології АМН колишнього СРСР було налагоджено масове виробництво міченої ізотіоціанатом флуоресцеїну сироватки віслюкової проти глобулінів кроля, що використовується для непрямого методу фарбування препаратів.

Бажаний ефект під час застосування методу флуоресціюючих антитіл отримують у разі виділення глобулінових фракцій з сироваток. Виділяють їх за допомогою висолювання насиченими розчинами хімічно чистого сірчаноокислого амонію. Процес складається з кількох етапів. Сироватку змішують з розчином сірчаноокислого амонію в різних об'ємах, додаючи його краплями і постійно змішуючи суміш. Осад, що утворився, видаляють за допомогою центрифугування або фільтрації і розчиняють у фізіологічному розчині, рівному за об'ємом з обсягом вихідної сироватки, і діалізують проти фізіологічного розчину. Для цього розчин глобулінових фракцій у целофановому пакеті, герметично перев'язаному, кладуть у посуд з фізіологічним розчином, який

заміняють кілька разів за добу. Діаліз провадять до повного видалення з розчину сірчанокислового амонію. Для контролю застосовують хімічну пробу на сульфатні аніони з використанням хлористого барію або реактиву Неслера.

Усі операції з сироваткою і глобуліновими фракціями виконують на холоді. Отримані глобулінові фракції мітять ізотіоціанатом флуоресцеїну. При цьому попередньо слід визначити вміст білка в розчині глобуліну, застосовуючи як найпростіший біуретовий метод. Залежно від біуретової реакції готують 1 %-ний розчин білка за допомогою концентрування чи розбавлення розчину, додають 10 мл 0,5М карбонатного буферу з рН 9,9 і повільно на холоді додають порошок ізотіоціанату флуоресцеїну з розрахунку 0,05 мг порошку на кожен міліграм білкового розчину. Колбу з сумішшю кладуть на магнітний змішувач і витримують протягом 10–12 годин при температурі 4 °С.

Надлишок барвника, що зв'язався з білком, видаляють за допомогою діалізу проти фізіологічного розчину протягом одного-двох днів. Отриманий кон'югат центрифугують і консервують мертиолятом у співвідношенні 1 : 10 000.

Неспецифічне світіння нерідко спотворює результати імунофлуоресцентних досліджень. Особливо часто спонтанна флуоресценція спостерігається в дослідженні фіксованих препаратів. Для уникнення неспецифічного світіння практикують обробку сироватки зневодненим порошком, приготвленим з тканин здорових хазяїнів. Для цього личинок, у яких попередньо видаляють кишечника, гомогенізують з рівним об'ємом 0,15М розчину хлористого натрію, додають чотири об'єми ацетону і збовтують, а після цього центрифугують п'ять хвилин при 2000 об/хв. Надосадову рідину відсмоктують, а осад за повторного центрифугування промивають дватри рази сольовим розчином. Після цього осад двічі промивають ацетоном і фільтрують. Фільтрувальний папір з осадом сушать протягом 10–12 год. при температурі 37 °С. Висушений порошок зберігають у холодильнику в закоркованих флаконах при температурі 4 °С.

Для адсорбції сироватки змішують 1 мл розчину флуоресціюючих антитіл з 0,1 г отриманого порошку, добре змішують протягом 3–6 хв. і центрифугують при 3000 об/хв. 30 хв.

За допомогою методу імунофлуоресценції можна досліджувати як нативний матеріал, так і фіксований. Мікробні антигени виявляють також у парафінованих зрізах. Для приготування препаратів відбирають

предметні скельця завтовшки не більше 1,2 мм, ретельно знежирюють, стежачи, щоб не було на них жодних подряпин. Накривні скельця беруть найменшого розміру (15 × 15 мм), завтовшки не більше 0,8 мм.

Досліджуваний тканинний матеріал має зберігати структуру і властивості антигенних субстанцій. Для імунофлуоресцентної мікроскопії досліджують мазки з хворих та загиблих особин, кляч-препарати і гістологічні зрізи.

Під час дослідження муміфікованих трупів готують водну суспензію і видаляють грубі рештки тканин шляхом фільтрування через кілька шарів марлі. Мазки готують з фільтрату. За мінімального вмісту антигену в матеріалі, наприклад, при біологічному аналізі яєць, мікроорганізми концентрують за допомогою центрифугування при 3000 об/хв. протягом 20–30 хв.

Забарвлюють препарати флуоресціюючою сироваткою таким чином. На препарат у вологій камері наносять сироватку в робочому розбавленні, визначеному емпірично, що звичайно становить 1 : 8, 1 : 6, і фарбують протягом 10–15 хв. при температурі 37 °С. Після цього сироватку видаляють, а препарат промивають дистильованою водою три-п'ять хвилин.

У разі непрямого фарбування досліджуваного матеріалу на препарати наносять імунну сироватку в розбавленнях 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40 тощо, залишаючи при кімнатній температурі на 15 хв. у вологій камері. Після цього препарат промивають для видалення незв'язаної імунної сироватки і підсушують на повітрі.

Суху стандартну люмінесціюючу антивидову сироватку розбавляють 0,15М розчину хлористого натрію (рН 7,2–7,4) відповідно до робочого розбавлення. Мітять антиген 25 хв., після чого мазки ретельно промивають двічі в 0,15М хлористому натрії по 10 хв., споліскують у дистильованій воді і підсушують на повітрі.

Як і за прямого методу, водночас із фарбуванням оглядають контрольні препарати, що не містять антигену. Поліедренні тільця-включення як ядерного, так і цитоплазматичного походження, риккетсії, бактерії, наявні в патологічному матеріалі, зумовлюють інтенсивну люмінесценцію по периферії.

Гранули, мічені флуоресціюючими антитілами, світяться окремими цяточками.

Наявність у досліджуваних препаратах зелено-жовтої люмінесценції свідчить про фіксацію флуоресціюючих антитіл на антигені. За результатами аналізів слід розрізняти специфічну

флуоресценцію антитіл і зеленувату первинну флуоресценцію клітин та решток тканин.

Щодо техніки електронної мікроскопії відомо багато способів. Особливо широкі можливості відкриває використання скануючого мікроскопа. Для приготування препаратів потрібні водні суспензії мікроорганізмів. Краплі суспензії відповідної концентрації розмішують на предметному столику і в умовах вологої камери витримують протягом 20–30 хв. для осадження мікроорганізмів. Потім рідину обережно відсмоктують капіляром, осад обробляють спиртами висхідної концентрації. Після абсолютного спирту матеріал недовго обробляють аміл ацетатом, зневоднюють методом критичної точки випаровування вологи у вуглекислоті під тиском. Після напилення золотом препарати готові до огляду.

Найчастіше застосовують емісійну електронну мікроскопію. Препарати готують нанесенням суспензії мікроорганізмів на колодійові та вуглецеві підстилки. Для отримання колодійових плівок краплі 1 %-ного розчину колодію в амілацетаті наносять на поверхню дистильованої води, наливої в плоскодонну посудину. Можна використати чашку Петрі або кристалізатор діаметром близько 20 см. У результаті колодій утворює на поверхні води тонку плівку. Якщо на дні посудини попередньо покласти предметні скельця з сіточками, а потім знизити рівень води, плівка опуститься на їх поверхню.

Вуглецеві плівки-підстилки отримують при випаровуванні вуглецю у вакуумі. Як субстрат використовують скло або свіжий відкол слюди. Плівка при цьому відшаровується при зануренні скла або слюди у воду. У подальшому її кладуть на електронномікроскопічні сіточки так само, як і колодієві плівки.

Гістологічні препарати для електронно-мікроскопічного вивчення фіксують 2 %-ним глутаральдегідом на какадилатному чи фосфатному буфері (рН 7,3–7,4) протягом 24 год., потім – чотириокисом осмію. При цьому використовують звичайно 2 %-ний розчин фіксатора з рН 7,5–8,0. Тривалість фіксації матеріалу – дві години. Зневоднюють тканини у спиртах з концентрацією 50, 75 і 95 %. Після цього зразки переносять у двічі замінюваний абсолютний спирт і заливають у смоли. Зрізи контрастують фосфорновольфрамисловою кислотою за Є.С. Рейнольдсом.

8.4. Мікробіологічний аналіз

Наступним етапом дослідження хворих комах є мікробіологічний аналіз, що полягає у виділенні збудника в чисту культуру.

Усі роботи, пов'язані з мікробіологічним аналізом, вимагають підготовки стерильного посуду, інструментів і живильних середовищ.

Стерилізація (зnezаражування) посуду, інструментів і живильних середовищ. Застосовуються такі способи зnezаражування: кип'ятіння, прожарювання на полум'ї, прогрівання сухим жаром, стерилізація парою при 100 °С, стерилізація парою під тиском.

Кип'ятіння є найбільш простим способом стерилізації деяких інструментів і посуду, однак слід мати на увазі, що кип'ятіння не знищує спори бактерій. Кип'ятінню підлягають інструменти і посуд, що не можуть бути простерилізовані іншим способом (пінцети, шприци, скальпелі, флакони, пробірки тощо). Кип'ятіння можна робити в металевих стерилізаторах і у звичайних каструлях. Рекомендується додавати невелику кількість двовуглекислої соди. Якщо немає автоклава і кип'ятильника, можна застосувати фракційну стерилізацію, тобто кип'ятити по 30–40 хв. три дні підряд.

Прожарювання на полум'ї. Прожарюють металеві і скляні предмети (голки, шпильки, краї пробірок та ампул, кінці піпеток тощо).

Прогрівання сухим жаром проводять у сушильних шафах при 140–160 °С протягом однієї години і більше.

Сухим жаром стерилізують бактеріологічні чашки, пробірки, банки, годинникові стекла, піпетки.

Стерилізація парою при 100 °С. Її проводять в автоклаві текучою парою. Такий спосіб стерилізації застосовують як для інструментів з будь-якого матеріалу, так і для живильних середовищ, що не витримують стерилізації за умов більш високої температури.

Найбільш надійним способом є *стерилізація парою під тиском при 120 °С протягом 30 хв.* Такий стерилізації піддають особливо забруднені матеріали, більшість живильних середовищ, а також скло, вату, гуму, халати тощо.

Приготування живильних середовищ. Залежно від даних мікроскопічного аналізу вирішується питання про доцільність засіву на живильні середовища. Середовище підбирають відповідно до природи збудника.

Для більшості таких грибів, як недосконалі, дріжджові гриби, мукові, застосовують природні субстрати, наприклад, скибочки картоплі, сусло неохмелене пивне, у рідкому вигляді і з агаром, зерно пшениці, ячменю, кукурудзи, коренеплоди тощо., а також деякі синтетичні середовища.

Для приготування сулових середовищ пивне неохмелене сушло з пивного заводу стерилізують при 110 °С 20 хв., фільтрують через марлю, розводять водою до 7° цукристості (вимірювання роблять цукрометром Баллінга), розливають у пробірки і знову стерилізують. Для одержання твердого середовища до сушла перед автоклавуванням додають 2 % агару. Гарячий агар розливають і пробірки кладуть похило для одержання косої поверхні.

Зручним і простим способом одержання чистої культури недосконалих грибів є розміщення простерилізованої зовні обпалюванням комахи в чашку Петрі з вологим стерильним піском чи фільтрувальним папером. Після появи спор на поверхні трупа може бути зроблений засів цих спор на косий агар чи скибочки картоплі.

Дуже гарним твердим живильним середовищем є картопля. Очищені бульби картоплі нарізають стовпчиками за формою пробірок, ретельно промивають для видалення зайвого крохмалю і кладуть у пробірки плоским зрізом догори. На дно пробірок поміщають ватний тампон, змочений водою.

Крім картоплі, можна використовувати моркву, турнепс, буряк цукровий та ін.

Із синтетичних середовищ для вирощування грибів може бути запропоноване середовище Чапека такого складу: цукру – 3 г; NaNO_3 – 0,2 г; KH_2PO_4 – 0,1 г; MgSO_4 – 0,05 г; KCl – 0,05 г; FeSO_4 – 0,001 г; води – 100 мл. Для твердого середовища додають 2 % агару.

Для деяких ентомофторових грибів рекомендуються такі живильні середовища: картопля скибочками, коагульований жовток курячого яйця (жовток наливають у стерильну пробірку, коагуляцію проводять у сушильній шафі при 80 °С у похилому положенні), а також синтетичне середовище Вольфа такого складу: 2 г глюкози, 3 г аспарагіну, 0,05 г сірчаноокислого магнію, 0,06 г фосфорнооднокалієвої солі, 0,24 г фосфорнодвохкалієвої солі, 100 мл двічі дистильованої води, рН середовища – 6,0.

Вирощування ентомофторових грибів, за літературними даними, є можливим також на таких білкових середовищах, як стерилізовані м'ясо, риба, молоко тощо.

Найбільш придатними живильними середовищами для вирощування ентомопатогенних бактерій є м'ясо-пептонний агар, агар з відваром картоплі, дріжджовий автолізат.

Для вирощування специфічних збудників, нездатних рости на звичайних середовищах, можуть бути рекомендовані яєчні середовища,

середовища з трупів різних комах, середовища з сироваткою чи кров'ю тварин.

М'ясо-пептонний бульйон (МПБ) і м'ясо-пептонний агар (МПА).

Мясопептонний бульйон готують так: беруть близько 500 г дрібно порубаного свіжого м'яса, обливають його в емальованій каструлі 1 л водопровідної води і залишають настоюватися на 12 год. при температурі 15 °С чи на 0,5–1,0 год. при 50 °С. Після цього настій проціджують через марлю чи полотно, віджимають м'ясо й отриману рідину нагрівають до кипіння протягом 30 хв. Білки, що осіли фільтрують через полотно, покладене на широку скляну лійку. Потім полотно віджимають і рідину фільтрують через складчастий паперовий фільтр, доводячи її обсяг до 1 л. Виходить м'ясний бульйон, до якого додають 10 г пептону, 5 г кухонної солі і нагрівають рідину до розчинення пептону. Гарячу рідину підлужують содою до посиніння вологого червоного лакмусового папірця. Після цього бульйон нагрівають 30 хв. в автоклаві і зсілі від зміни реакції білки фільтрують через паперово-складчастий фільтр. Бульйон розливають у пробірки і стерилізують.

М'ясо-пептонний агар виготовлюється шляхом додавання 2 % агару. Агар після автоклавування доводять до слаболужної реакції і, не фільтруючи, розливають по пробірках, наповнюючи частину пробірок до $\frac{1}{3}$ їхнього обсягу для одержання косого агару, а іншу частину до $\frac{2}{3}$ їхнього обсягу для розливання в чашки Петрі, і стерилізують в автоклаві 30 хв. при 120 °С.

Картопляні середовища. 500 г очищеної і дрібно нарізаної картоплі заливають 2 л води і залишають на дві години, після чого кип'ятять 30 хв. Відвар зливають, доводять до 1 л і до нього додають 10 г пептону, 5 г цукру і сліди NaCl.

Середовище підлужують содою до слаболужної реакції і стерилізують в автоклаві при 120 °С.

Для приготування картопляного агару до відвару додають 2 % сухого агару.

Сінний відвар з конюшини і люцерни. До 100 г сухої конюшини чи люцерни додають 1 л води, кип'ятять одну годину, фільтрують і додають 10 г пептону і 0,6 г NaCl. Після встановлення слаболужної реакції рідину стерилізують в автоклаві при 120 °С. Для приготування твердого середовища додають до відвару 2 % агару.

Дріжджовий автолізат. Для приготування дріжджового автолізату пресовані чи свіжі пивні дріжджі кладуть у скляний чи емальований посуд товстим шаром і ставлять у термостат при 50 °С на

0,5 доби. Отриману після автолізу густу рідину зливають за допомогою сифона, розводять у 10 разів гарячою водою і після цього кип'ятять 30 хв. з частим помішуванням. У гарячу рідину поступово доливають розчин соди (10 % Na_2CO_3) до одержання нейтральної чи слаболужної реакції. Рідину можна злити у високі посудини і поставити на 24 год. у холодне місце для відстоювання. Прозорий шар рідини є концентрованим середовищем, що може бути розведене в два чи три рази.

Гороховий гідролізат. Горохове борошно крупного помелу замочують дистильованою водою, перед замочуванням вода доводиться 1 н. розчином NaOH до рН 7,8–8,0 при 10–12 °С. На кожен літр води додають 60 г горохового борошна і 2,5 г чистої кухонної солі. Борошно, яке осіло на дно посудин, кілька разів перемішують з водою, а потім уміст залишають у повному спокої. Після 15–16 год. відстоювання сифоном обережно, щоб не захопити з дна осіле борошно, зливають відстояну рідину. Потім гороховий настій піддають гідролізу пепсином і панкреатином.

Гідроліз пепсином: злитий сифоном гороховий настій підігріти до 50 °С, до нього додати 1 н. хімічно чистої HCl (0,3–0,4 %) і 1,0–1,5 г пепсину на 1 л настою (0,1–0,15 %). Настій поміщають у термостат на 22–24 год. при 37 °С для гідролізу і перемішують не менше двох разів.

Гідроліз панкреатином: отриманий гідролізат підігріти до 50 °С, підлужити за допомогою 1 н. розчину NaOH (40–50 мл на 1 л) до рН 8,0–8,2. Після підлуження в середовище додати панкреатин у кількості 1 г на літр (0,1 %). Гідроліз панкреатином триває 3,5 год. при 50 °С. Під час обробки панкреатином уміст перемішати три-чотири рази. Після цього гідролізат перемішати, довести його рН за допомогою 1 н. розчину HCl до 5,0–5,2. Прокип'ятити 15 хв., дати відстоятися осаду, що випав, профільтрувати через ватно-марлевий фільтр, установити необхідний рН, ще раз прокип'ятити і профільтрувати, довести об'єм до вихідного рівня, розлити в робочий посуд і простерилізувати в автоклаві 30 хв. при 0,8–1,0 атм.

Середовище з трупів комах. Для приготування живильного середовища із трупів комах придатні личинки довгоносики, шкідливої черепашки, гусениці капустиного білана та інші комахи. Бульйон готують з розрахунку 100 г сухих чи 200 г свіжих трупів на 1 л води. Після кип'ятіння впродовж 30 хв. рідина фільтрується, нейтралізується до слаболужної реакції і стерилізують в автоклаві.

Яєчне середовище. Свіже яйце обмивають теплою мильною водою, обливають спиртом і обпалюють. Після цього його стерильно розкривають, відокремлюють білок, а жовток вливають у колбу з 70 мл стерильної води. Після збовтування жовткову емульсію стерильною піпеткою розносять по 1 мл у пробірки, що містять 5 мл стерильного м'ясо-пептонного бульйону чи агару.

Сироваткові і кров'яні середовища. До нейтрального м'ясопептонного бульйону чи агару додають 10 % кінської сироватки чи 5–10 % дефібринованої крові тварин.

8.5. Техніка виділення культур збудників хвороб комах

У культуру можуть бути виділені збудники тільки грибних і бактеріальних захворювань комах. Збудники вірусних хвороб і нозематозу не культивуються на штучних живильних середовищах.

Якщо виділення грибів і бактерій ведеться з середини тіла комахи, необхідно попередньо простерилізувати поверхню комахи, як це було зазначено вище. Узятий після стерилізації поверхні комах матеріал вносять у пробірку зі стерильною водою і розтирають у ній, після чого роблять засів цієї суспензії на спеціальні живильні середовища.

Під час виділення грибів може бути зроблений засів з гемолімфи піпеткою чи платиновою петлею безпосередньо на поверхню сусло-агара косоного, скибочки картоплі. Якщо в гемолімфі комах є гіфові тільця мюскардинових грибів, у місцях дотику пастерівською піпеткою до середовища виявляється ріст чистої культури збудника. Під час засіву твердого вмісту з муміфікованої комахи доцільно зробити засів суспензії з розтертими часточками тіла на живильне середовище в чашки Петрі. Для цього застосовують агаризоване чи синтетичне середовище. Вирощування культур грибів проводять у термостаті при температурі 20–27 °С. Після мікроскопічної перевірки колоній культури сіють на косий агар, чисті культури збудників випробують на комах для встановлення їхньої патогенності. Гриби зберігають у сухому прохолодному місці і пересівають двічі на рік. Для тривалого зберігання грибів рекомендується висівати їх на стерильне вологе пшоно або засипати отриману культуру стерильним піском.

Якщо немає росту грибів на середовищах (якщо гриби були виявлені в дослідженні уражених комах), можна зробити припущення про наявність облігатних грибних паразитів, які потребують особливих умов для росту.

Для виділення бактерій, так само, як і в попередньому випадку, готують водну суспензію з умісту загиблої комахи чи з шматочка розтертих тканин.

Засів роблять нанесенням краплі суспензії на поверхню агарового середовища в чашки Петрі з наступним розтиранням стерильним скляним шпателем. З ізольованих колоній роблять препарати для мікроскопічного аналізу на наявність спор і кристалічних включень. Установлюють кількісну перевагу тих чи інших форм мікробів і роблять пересівання на косий агар для одержання чистих культур. Більша частина бактерій добре росте на м'ясо-пептонному і картопляному агарі. У зв'язку з цим бажано насамперед використовувати ці середовища. Інші, наведені вище середовища, застосовують для подальшої диференціації.

Для збереження бактерій рекомендується висівати їх уколом у високий шар агару і після інкубації заливати пробку парафіном.

8.6. Техніка очищення збудників вірусних і протозойних хвороб комах

Вірусні і протозойні збудники тісно пов'язані з організмом комахи, що уражається, і не культивуються на штучних живильних середовищах та потребують особливих методів для одержання їх у достатній кількості для подальшого вивчення й випробовуванню на комах.

Для одержання чистого матеріалу важливо відокремити його від інших мікроорганізмів та елементів тканин комахи.

Щоб одержати вірус поліедрозу загального типу і гранульоз: після поверхневої стерилізації комахи роблять поздовжній розріз, видаляють кишечник зі стравоходом і головою, решту розтирають у фарфоровій ступці з фізіологічним розчином (0,85 % NaCl) і фільтрують через стерильну вату. Фізіологічний розчин додають і зливають декілька разів для того, щоб витягти максимальну кількість вірусного матеріалу з уражених комах. Зібрану суспензію центрифугують при 3000 обертах за хвилину. Осад багаторазово промивають фізіологічним розчином і центрифугують. Отриманий відносно чистий вірусний матеріал можна використовувати безпосередньо для зараження комах, але в цьому разі останнє промивання проводиться стерильною водою. Для тривалого зберігання вірусного матеріалу рекомендується перенести осад у розведений водою гліцерин (1 : 1) і зберігати при температурі 0–5 °С.

При кишковій формі поліедрозу такій обробці піддають тільки кишечник уражених комах.

Якщо немає можливості провести очищення і зберігання вірусу зазначеним способом, для зберігання вірусного матеріалу можна поміщати уражених комах у гліцерин без обробки до того часу, як вони можуть бути використані.

Спори найпростіших з уражених комах очищають від тканин хазяїна так само, як і поліедри.

Зберігати спори мікроспоридій найкраще в дистильованій воді при 0–5 °С. У цих умовах спори зберігають життєздатність більше одного року.

Для розмноження нематод з метою їхнього практичного використання рекомендується штучне зараження лабораторних комах, наприклад, гусениць бджолої вогнівки. Крім того, як живильне середовище для нематод використовують картопляне пюре, хлібні дріжджі, агар, м'ясу кашку і розмелених комах.

Нематод зберігають у трупах уражених комах при низькій температурі.

Для встановлення патогенності отриманих збудників захворювань потрібно провести випробування їх на комах.

8.7. Випробування патогенних властивостей збудників хвороб комах

Для встановлення патогенності виділених збудників захворювань комах проводять досліди зараження комах виділеними культурами патогенів.

У разі вірусних і протозойних захворювань, а також таких грибних і бактеріальних захворювань, збудники яких не виділяються в культуру, для дослідів зараження можна користуватися матеріалом, узятим безпосередньо з тіла ураженої комахи. При цьому необхідно зробити очищення матеріалу способом, зазначеним у попередньому розділі.

Під час зараження матеріалом з чистих культур грибів і бактерій враховується вік культури. Культури грибів застосовують через 7–10 днів після засіву, коли закінчується масове спороутворення. Багато спорових бактерій є вірулентними для комах не раніше п'яти-семи днів після інкубації, неспоріві – частіше виявляють активність у молодих культурах.

У разі зараження деякими грибами (зелена, червона, біла мускардина, аспергіл) можна користуватися сухими спорами з культур чи з поверхні тіла комах. В інших випадках готують суспензію в стерильній воді з культури чи з поверхні тіла комахи.

Вихідна суспензія повинна бути мутною, але в разі визначення більш точних дозувань з неї готують розведення 1/10, 1/100 тощо.

Кількість мікроорганізмів, що використовуються, підраховується в обліковій камері Горяєва. Кількісний облік бактерій можна робити також засівом у чашки Петрі з відповідним живильним середовищем визначених розведень вихідної суспензії з наступним підрахунком колоній.

Способи зараження активних стадій комах можуть бути різними: зараження корму, змазування ротових частин комахи, нанесення на поверхню тіла й ін'єкція в гемолімфу шкідника.

Зараження корму є найбільш зручним способом перевірки патогенності через можливість застосування його на різних віках у личинковій стадії, а також для дорослих комах. У цьому способі повинна бути врахована кількість зараженого корму, що з'їдається. Це легко вдається, якщо інфікований корм дають в обмеженій кількості. Зараження зеленого корму роблять зануренням його у випробувану суспензію чи його обприскуванням і обпилюванням.

Змазування ротових частин можна робити, занурюючи голову комахи в інфекційну рідину чи впускаючи краплю рідини з піпетки між щелепами; після цього комасі дають чистий корм. При цих двох способах зараження не виключається часткове потрапляння інфекції на шкірні покриви комах.

Нанесення на поверхню тіла роблять змазуванням, обприскуванням і обпилюванням комах в ізоляції від корму. Цей спосіб придатний і для зараження неактивних стадій комах (яйця, лялечки).

У разі зараження шкідників, що живуть у ґрунті, інфекцію вносять за допомогою поливу ґрунту чи змішуванням його із сухою масою інфекційного матеріалу.

Ін'єкцію застосовують до великих об'єктів. Уведення матеріалу в тіло комах можна робити голкою, пастерівською піпеткою і маленьким шприцом. У оцінці результатів ін'єкції слід мати на увазі, що багато видів малопатогенних мікробів безпосередньо введенням у гемолімфу комахи можуть призвести до швидкої загибелі її, тому в таких випадках доцільно застосовувати мінімальні дозування і користуватися ін'єкцією, тільки якщо є очищений вихідний матеріал патогена.

Заражені об'єкти поміщають в ізольовані посудини (скляні банки, ентомологічні пробірки, склянки тощо) чи пастки.

Досліди проводять в оптимальних умовах корму, температури і вологості. Одночасно повинен бути контроль у вигляді незаражених комах, що утримуються в однакових умовах з дослідними. Кожен дослід

має бути проведено не менше ніж у трьох повторностях. Спостереження ведуть регулярно упродовж певного періоду залежно від виду захворювання і завдань дослідження.

Якщо ставиться питання про придатність бактеріальної культури чи суміші бактерій для швидкого знищення комах, то тривалість досліду може бути не більше чотирьох-шести днів. Однак для більш глибокої оцінки патогенної дії бактерій бажано простежити і за наступним розвитком комах. Є дані, що вказують на значне ослаблення організму, а також на зниження плідності комах у результаті дії мікроорганізмів; усе це може мати значення в питанні оцінки культури патогена.

У разі вірусних захворювань спостереження повинні бути продовжені на наступній стадії розвитку комах, тому що захворювання може бути розтягнутим і загибель настане в наступній фазі. Після закінчення досліду визначають відсоток загибелі комах у дослідних варіантах і в контролі.

Випробування виділених мікроорганізмів, а також вірусів і найпростіших може проводитися в природі на окремих деревах чи на ізольованих гілках. В останньому випадку частину гілки обприскують приготовленою для випробувань суспензією. Комах, зібраних окремо, поміщають на оброблену суспензією частину гілки і на неї одягають марлевий рукав, який зав'язують з двох боків.

Контрольні запитання до розділу 8

1. Як проводять мікроскопічний аналіз ураженості комах хворобами?
2. Опишіть спеціальні методи фарбування збудників хвороб комах.
3. У чому полягає метод наведеної люмінесценції?
4. Як відбувається мікробіологічний аналіз ураженості комах хворобами?
5. Техніка виділення культур збудників хвороб комах?
6. Техніка очищення збудників вірусних і протозойних хвороб комах?
7. Як проводять випробування патогенних властивостей збудників хвороб комах

9. КЛАСИФІКАЦІЯ І ПРЕПАРАТИВНІ ФОРМИ БІОПРЕПАРАТІВ

На основі мікроорганізмів виготовляють біопрепарати, застосування яких має низку переваг перед хімічними засобами захисту рослин. Це зокрема: висока біологічна активність щодо сприйнятливих видів шкідників і фітопатогенів; післядія, що проявляється в загибелі шкідливих організмів у наступних фазах їх розвитку та в наступних поколіннях; вибірковість дії, безпечність для ентомофагів та комах-запилювачів; мала вірогідність виникнення стійкості до мікроорганізмів; безпечність для теплокровних тварин і людини, відсутність фітотоксичності та впливу на смакові якості продукції; короткий термін очікування, можливість застосування в різні фази вегетації рослин та відсутність загрози нагромадження токсичних речовин у навколишньому середовищі. Біологічні препарати виготовляють на основі існуючих у природі мікроорганізмів. Тому штучне внесення їх у агроecosистему супроводжується тільки збільшенням кількості патогена в середовищі, як це відбувається під час природних епізоотій фітофагів. Епізоотія серед фітофагів не спричинює безпосередньо кількісних і якісних негативних змін серед інших компонентів біоценозу. Навпаки, застосування мікробних препаратів супроводжується збільшенням об'єму біотичного середовища та стабілізацією біоценотичних зв'язків у агроценозах. У цьому є принципова екологічна відмінність мікробіологічних препаратів від хімічних. З екологічних позицій застосування мікробіопрепаратів є альтернативою хімічному методу захисту рослин.

Мікробіологічні препарати, які використовують для регулювання чисельності шкідливих організмів рослин, класифікуються залежно від природи активної основи на *грибні*, *бактеріальні*, *вірусні* і *протозойні*. За призначенням біопрепарати поділяються на *інсектицидні*, *акарицидні*, *зооцидні*, *фунгіцидні*, *бактерицидні* і *нематицидні*. Біопрепарат може також бути комплексним, якщо містить у собі як активну основу два чи більше мікроорганізмів, що належать до різних систематичних груп.

Створення препаративних форм мікроорганізмів пов'язане, насамперед, з необхідністю стабілізації вихідних властивостей інфекційних об'єктів та біологічно активних продуктів їхньої життєдіяльності і, крім того, з можливістю забезпечення оптимального контакту з шкідливим організмом, проти якого застосовується

препарат. Для цього використовують наповнювачі, консерванти, активатори, протектанти, емульгатори, змочувачі, прилипачі та піноутворювальні речовини.

Як наповнювачі використовують рідкі (вода, гліцерин, олії, вуглеводні тощо) і тверді речовини (особливі сорти глини, діатомова земля, знежирене борошно соєвих бобів, насіння бавовнику, соняшнику). Як правило, усі вони біологічно інертні.

Консервуючі речовини мають особливе значення у виготовленні вологих препаратів, де створюються умови для росту сапрофітних мікроорганізмів, що можуть знизити товарні якості препаратів і призвести до втрати їх активності. У деяких рідких формах препаратів використовують як консервант гліцерин.

Активуючі речовини можуть бути різної природи, їх уводять до складу препаратів для того, щоб ослабити шкідника і сприяти проникненню патогена до його внутрішнього середовища.

Протектанти, або захисні речовини, захищають мікроорганізми і біологічно активні компоненти, що входять до складу препаратів, від згубних дій чинників навколишнього середовища, насамперед, від ультрафіолетових променів та кисню повітря.

Емульгатори (змочувачі, прилипачі та піна) забезпечують стабільність робочих суспензій, сприяють оптимальному розподілу препарату на поверхні оброблюваного субстрату і контакту з ним протягом необхідного терміну дії.

Використання в препаратах різних добавок не повинно призводити до зниження біологічної ефективності активної основи.

Препарат має бути безпечним для навколишнього середовища, зручним у застосуванні, неагресивним до різних матеріалів, з яких складаються робочі органи апаратури і тара.

Біологічні препарати для захисту сільськогосподарських і лісових культур випускають у різних формах. Це можуть бути дисти, гранули, капсули, змочувані порошки, пасти, концентрати масляних емульсій тощо.

У формі дустів випускають усі основні форми біопрепаратів: вірусні, грибні та протозойні. Дисти – це суміш активної основи з наповнювачем і відповідними добавками у вигляді порошоків. Якість дустів значною мірою залежить від тонини помелу. Оптимальний розмір частинок – у межах 30–50 мкм. Причому, для вірусних і бактеріальних препаратів, де як активна основа використовуються вірусні включення й бактерії, розмір яких не перевищує 1–3 мкм, частки у складі дустів можуть бути й значно меншими. Грибні препарати, що містять спори

великих розмірів, наприклад, у деяких ентомофторових грибів, досягають 20–30 мкм, розмір частинок має бути значно більшим, оскільки в процесі помелу механічні пошкодження спор повинні бути мінімальними.

Гранульовані та капсульовані препарати найчастіше застосовують проти шкідників, які живуть у ґрунті, та кореневих фітопатогенів. Гранули й капсули при цьому захищають діючі компоненти препарату від шкідливої дії чинників навколишнього середовища. У гранулах активна основа розосереджена рівномірно, а в капсулах покривається захисною оболонкою. Як захисні матеріали використовують полімери. Величина гранул коливається в межах від 0,2 до 1,0 мм.

Змочувані порошки найширше застосовують у біологічному захисті рослин. До їх складу, як обов'язкові компоненти, входять змочувачі та стабілізатори, що забезпечують швидке утворення суспензії і повільне осадження твердих частинок.

Пасти або концентрати стабілізованих суспензій практикують при виробництві тих біологічних препаратів, до складу яких входять мікроорганізми. Особливе значення у виробництві паст має введення до їх складу консервантів, що запобігають розвитку побічної мікрофлори. Нерідко до складу паст для цього вводять гліцерин. Для концентратів стабілізованих суспензій характерний високий уміст активної основи – в межах 60–70 %. У формі концентратів масляних емульсій можуть бути вірусні й бактеріальні препарати. Масляні емульсії містять емульгатори і солярові дистилати нафти. Уміст активної основи в них – не менше 30 %.

Додавання до мікробіологічних препаратів піни сприяє розтіканню крапель по поверхні листків і знижує втрати активної основи. Молочний колір піни зручний для коригування її спрямування у процесі виробничих обробок насаджень. Застосування препаратів у формі піни потребує спеціального обладнання.

Поряд із загальною рецептурою більшості біопрепаратів, отримуваних на основі мікроорганізмів, кожна їх група має свої специфічні особливості, залежно від природи активної основи.

9.1. Грибні препарати

Гриби як продуценти препаратів для пригнічення чисельності шкідливих організмів відрізняються від інших патогенних мікроорганізмів шляхами проникнення в організм хазяїна, механізмами патогенної дії і спектрами активності, тобто – специфічністю. Серед них є види як вузького спектра дії, наприклад, ентомофторові гриби – патогени деяких видів шкідливих комах і кліщів, так і дуже широкого,

наприклад *Beauveria bassiana*, що може уражати понад 200 видів комах.

Гриби різняться між собою потребами в поживних речовинах і умовах для росту й розвитку. Якщо одні з них ледве вдається культивувати, то інші можна легко вирощувати на різних живильних середовищах. Усі гриби відрізняються від бактерій тим, що вони значно повільніше ростуть і розвиваються. Крім того, у міцелію грибів та їхніх спор менша життєздатність, чим визначаються і менші терміни зберігання грибних препаратів. Гриби проявляють патогенність, як правило, у стадії спор, для формування яких необхідні певні умови. Найсприятливіші умови для цього складаються за поверхневого культивування. Проте цей спосіб малопродуктивний і не дає можливості одержувати достатньої кількості препаратів в умовах традиційного мікробіологічного виробництва. Розв'язанням проблеми може стати розробка глибинного вирощування грибів. Проте, поки що ці роботи ще далекі до завершення, оскільки на патогенність грибів, так само, як й інших мікроорганізмів, вирішальною мірою впливає режим культивування, а саме склад живильних середовищ, умови аерації, які визначають, зважаючи на видові та штамові особливості мікроорганізмів.

Із грибних біопрепаратів промисловість виробляє тільки інсектицидний препарат боверин. У біолабораторіях виготовляють цілу низку грибних препаратів для захисту рослин від шкідників – боверин, метаризин, пециломін, коніотириум, ашерсонію, вертицилін, ентомофторин тощо.

Боверин виготовляють на основі ентомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* (Vah.) Vu'M., який викликає у багатьох видів комах хворобу – білу мюскардину (рис. 9.1–9.4). Культури *B. bassiana* порівняно добре зберігаються в пробірках на сусло-агарі або на пшоні в холодильнику. Для виробництва препарату запропоновано багато рецептів живильних середовищ і кілька способів культивування, що принципово об'єднуються в три: поверхневий, глибинно-поверхневий і глибинний.

Препарат боверин – це однорідний порошок від білого до кремового кольору з титром не менше 2 млрд життєздатних спор/г і вмістом вологи не більше 5 %, тониною помелу (залишок на ситі з сіткою № 025 – не більше 10 % просіяної маси), боверин – концентрат, титр 20 млрд конідій/г.

Зберігати препарат потрібно в сухому прохолодному місці в запаяних поліетиленових мішках при температурі 5 °С. За таких умов він може зберігатися до одного року. Боверин діє на комах контактно та

перорально (через ротовий отвір).

Рекомендовано до застосування:

– на картоплі, помідорі, баклажані проти колорадського жука 2–3 кг/га;

– на огірках і помідорах у закритому ґрунті проти тепличної білокрилки, тютюнового трипсу – 4–8 кг/га.

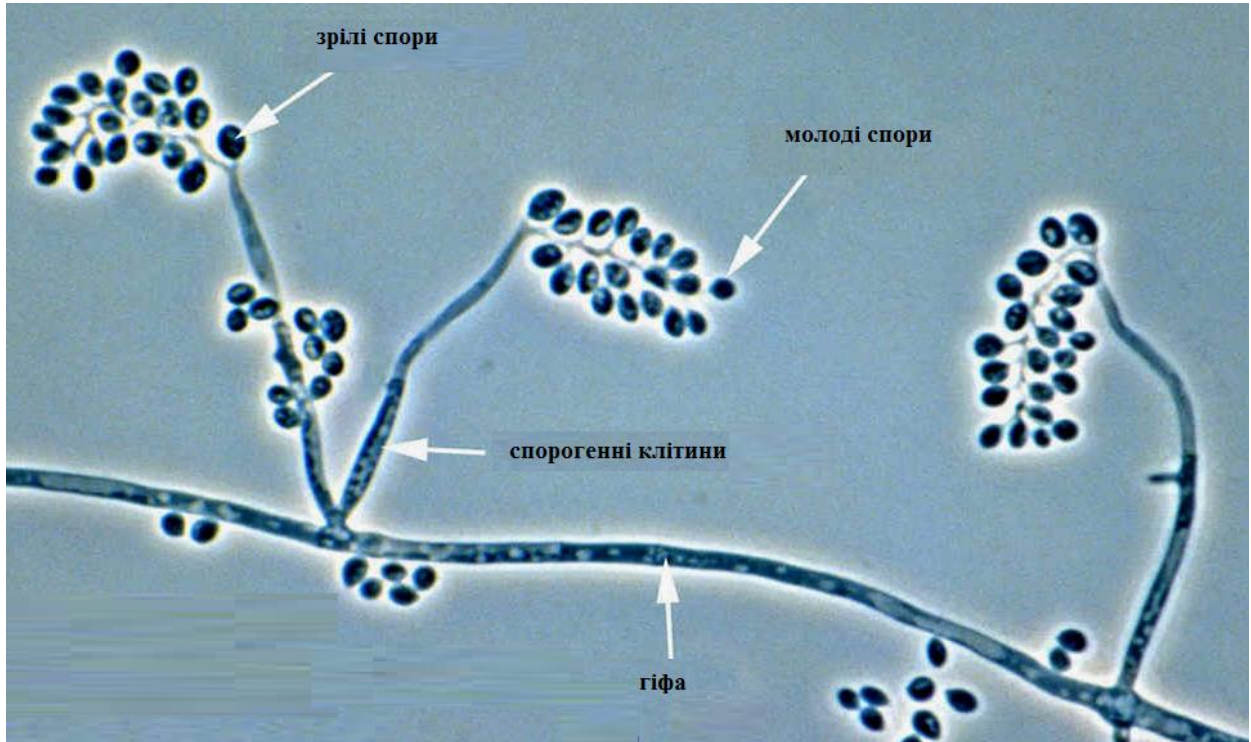


Рис. 9.1. *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill.



Рис. 9.2. Личинки пластинчатовусих уражені *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill.



А



Б



В



Г



Д



Е

Рис. 9.3. Різні види комах, уражені *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill.:
А) клоп-щитник; Б) колорадський жук; В) довгоносик;
Г) короїд; Д) муха; Е) ковалик



А



Б



В

Рис. 9.4. Різні види членистоногих, уражені *Beauveria bassiana* Bals.-Criv. Vuill.:
А) павук; Б) саранові; В) личинка ковалика (дротяник)

Мікоафідін (Ентомофторин). Грибний препарат епізоотійної дії, створений на основі гриба *Entomophthora thaxteriana* Fetch. (*Conidiobolus obscurus* (Hall & Dunn) Remaudière) (рис. 9.5–9.6). Рекомендовано проти попелиць на всіх овочевих культурах.

Мікоафідін-Т (Ентокс). Препарат, активною речовиною якого є ендотоксин того ж гриба *C. obscurus* (= *E. thaxteriana*). Високоєфективний проти баштанної попелиці на огірках (80–100 %).



Рис. 9.5. *Conidiobolus obscurus* (Hall & Dunn) Remaudière)

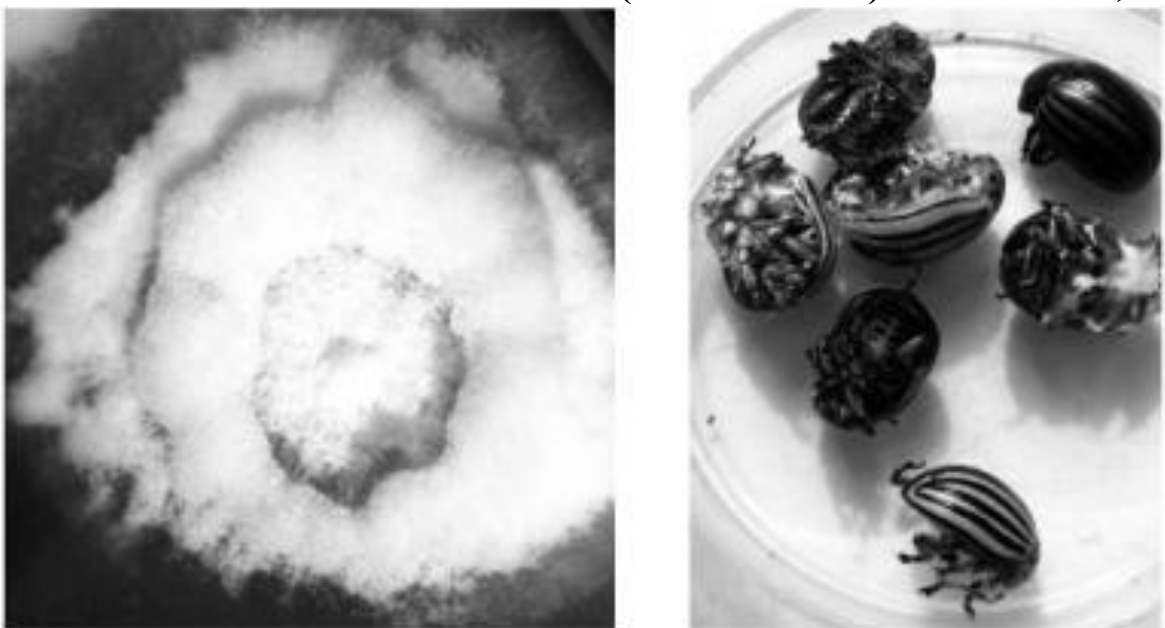


Рис. 9.6. Колорадський жук, уражений *Conidiobolus obscurus* (Hall & Dunn) Remaudière)

Піріформін. Активна основа – спори гриба *Entomophthora pyriformis* Thoiz. (рис. 9.7) На уражених комах з'являється червонувато-коричневий відтінок, вони втрачають рухливість і припиняють живитися, а через 7–10 днів від моменту ураження гинуть і муміфікуються. Застосовується в закритому ґрунті проти сисних шкідників овочевих культур у вигляді суспензії з титром 5×10^4 спор/мл.

Перелічені препарати на основі ентомофторових грибів поки що не ввійшли до «Переліку пестицидів і агрохімікатів...», хоча мають високу ефективність у боротьбі з попелицями і практично нетоксичні для хижаків і паразитів, які використовуються в теплицях.

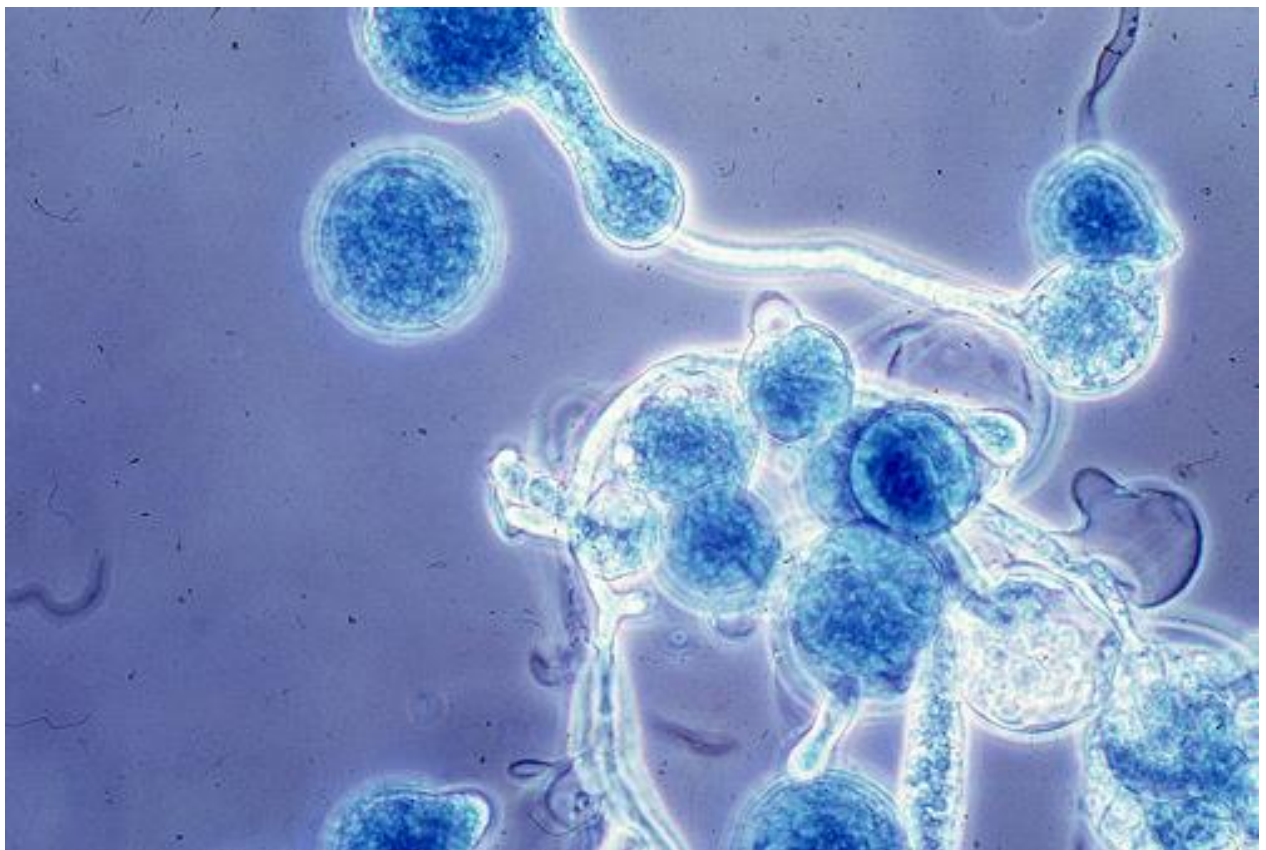


Рис. 9.7. *Entomophthora pyriformis* Thoiz.

Метаризин – мікробіологічний препарат, на основі гриба *Metarrhizium anisopliae* Sorokin. Препаративна форма – сухий порошок світло-сірого кольору з титром 6 млрд спор/г. Наповнювач – каолін. Призначений проти шкідників, які живуть у ґрунті (дротяники, несправжні дротяники та ін.), а також різних видів трипсів, зокрема західного квіткового (*Frankliniella occidentalis*) і пасльонового мінера (*Liriomyza bryoniae*). Усередині тіла комах розмноження гриба відбувається за допомогою конідій, які в діаметрі мають до 16 мкм (рис. 9.8–9.10).

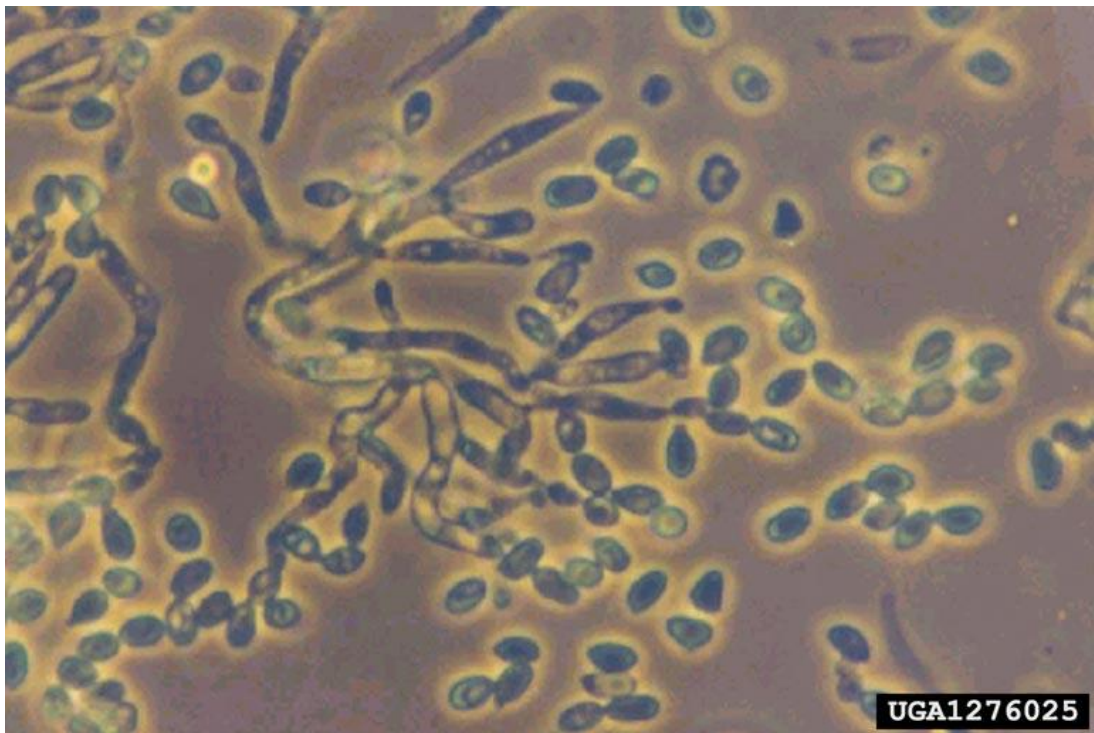


Рис. 9.8. *Metarrhizium anisopliae* Sorokin.



А



Б

Рис. 9.9. Лялечка (А) та личинка (Б) травневого хруща уражені *Metarrhizium anisopliae* Sorokin.



А

Б

Рис. 9.10. Імаго сарани (А) та личинки коваліків (Б) уражені *Metarrhizium anisopliae* Sorokin.

Вертицилін. Препарат на основі гриба *Verticillium (Cephalosporium) lecanii* (Zimm) Viegas. Перші ознаки зараження цим грибом помітні на п'яту-шосту добу. Центр личинки білокрилки стає світло-коричневим, а навколо з'являється білий обідок із міцелією гриба. На десяту добу білий міцелій гриба вкриває все тіло личинки (рис. 9.11–9.13). Гриб уражує також деякі види попелиць і трипсів. Культивують його на багатьох штучних живильних середовищах. Нині на його основі виробляється препарат **вертицилін зерновий – БЛ**, титром не менше 3 млрд конідій/г. Використовують проти личинок тепличної білокрилки на огірку в закритому ґрунті робочу суспензію гриба з титром $6-8 \times 10^7$ спор/мл.

На основі спеціальних штамів гриба *Verticillium lecanii* виготовляються препарати **мікотал** – проти оранжерейної білокрилки і **верталек** – для регулювання чисельності попелиць у теплицях.

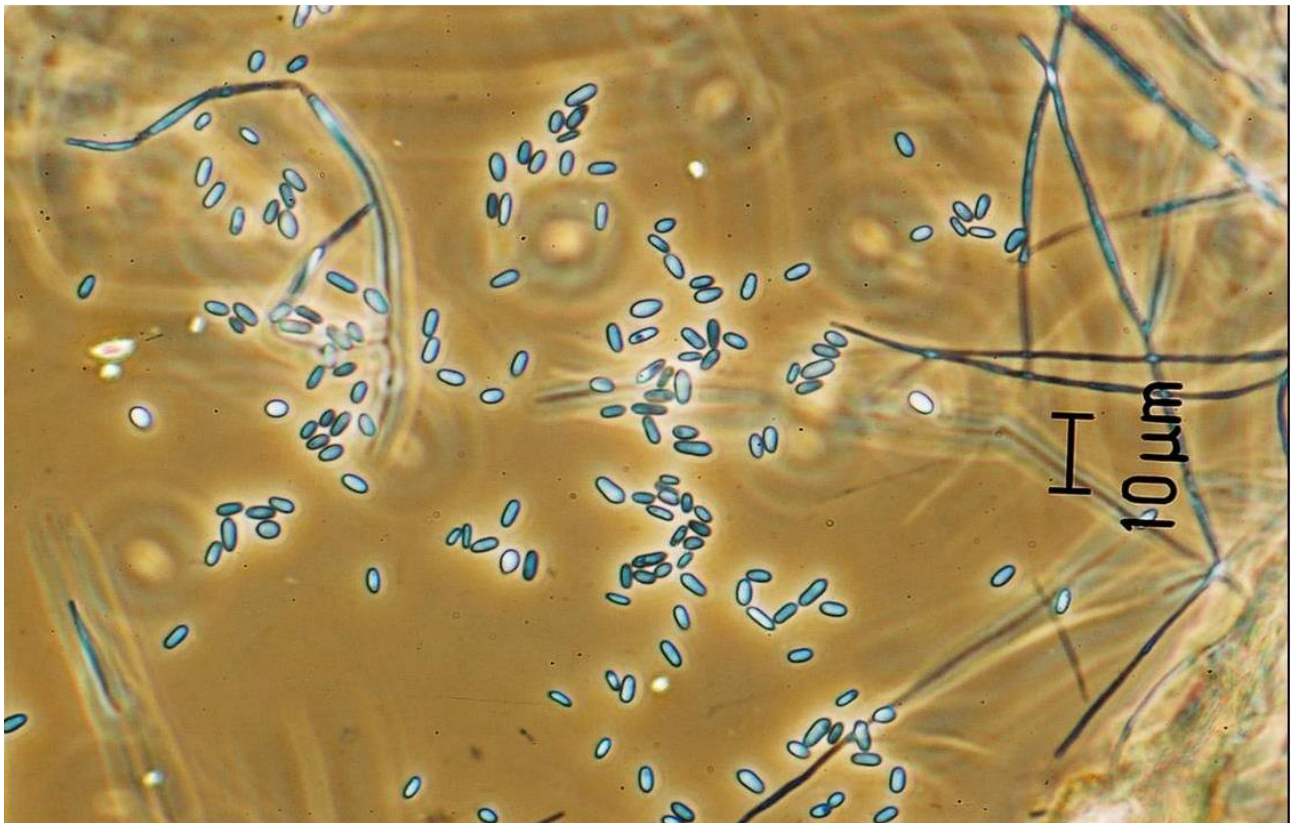


Рис. 9.11. *Verticillium (Cephalosporium) lecanii* (Zimm) Viegas



Рис. 9.12. Німфи білокрилки уражені *Verticillium (Cephalosporium) lecanii* (Zimm) Viegas



Рис. 9.13. Різні види комах уражені *Verticillium (Cephalosporium) lecanii* (Zimm) Viegas: А) личинка білокрилки; Б) клоп-щитник; В) попелиці

Коніотіріум. Препарат на основі гриба *Coniothyrium piricolum* Poteb., який уражує каліфорнійську щитівку майже в усіх фазах її розвитку, за винятком бродяжок (рис. 9.14, 9.15). Пікніди гриба утворюються по краях тіла мертвої щитівки. У краплині води пікніда лопається і з неї виходять овальні спори оливкового кольору. Гриб може викликати епізоотії.

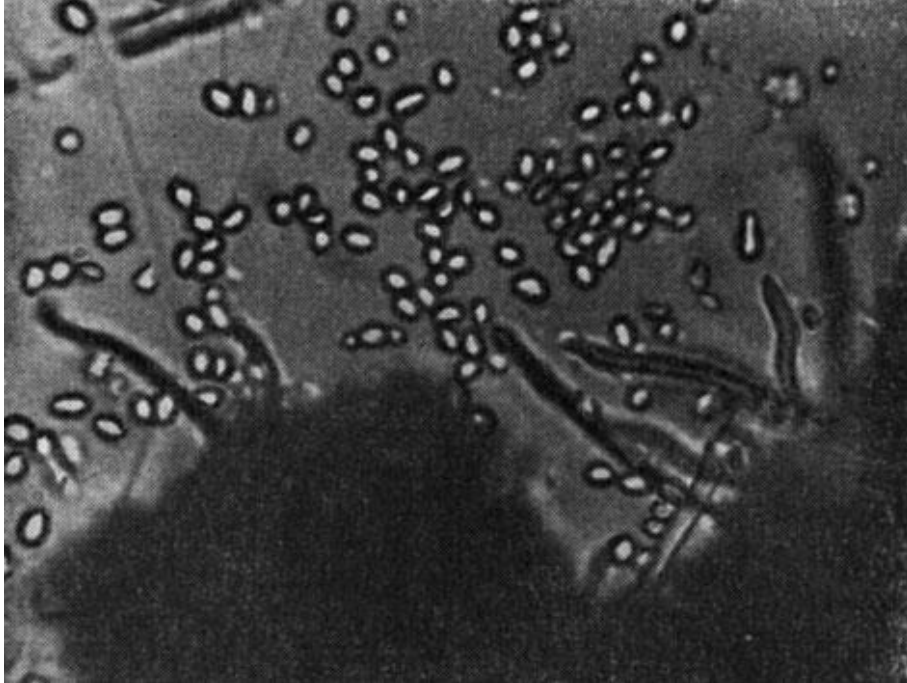
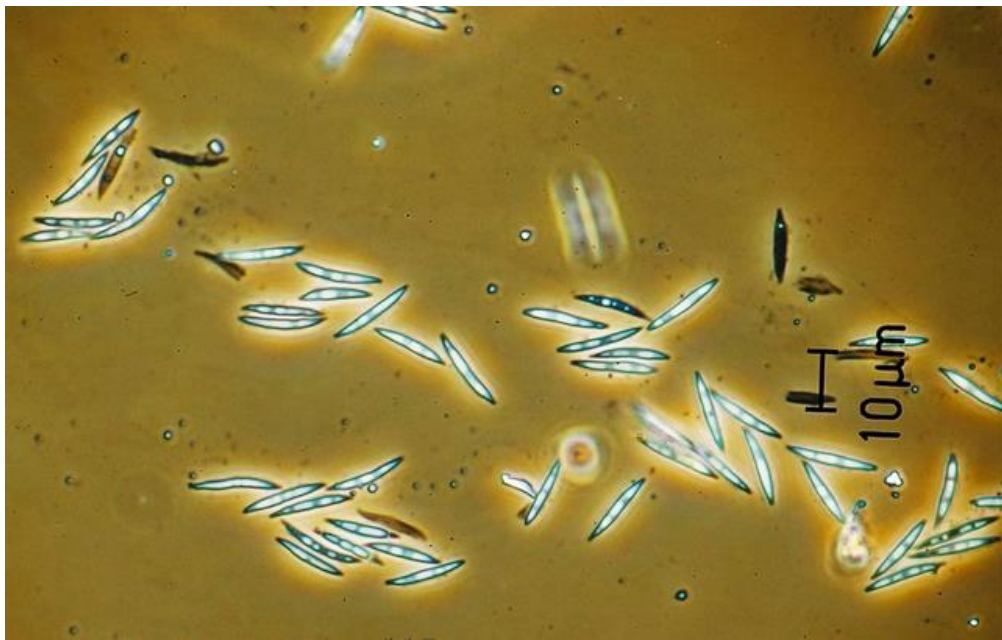


Рис. 9.14. Пікніда гриба *Coniothyrium piricolum* Poteb. із конідіями, які з неї виходять



Рис. 9.15. Щитівки уражені *Coniothyrium piricolum* Poteb
Ашерсонія. Інтродукований із тропічних лісів гриб *Aschersonia*

placenta Berk. et Br. уражує личинок білокрилок (цитрусової і тепличної) II і III віків (рис. 9.16). Гриб заповнює тіло личинок щільною масою міцелію. По периферії тіла уражених особин з'являються світло-жовті плями. Тіло набрякає і через 10 днів після зараження личинка гине. Гіфи гриба проростають назовні, утворюючи пустули, які обгортають тіло загиблої личинки. Оптимальними для розвитку ашерсонії є температура 22–25 °С та відносна вологість повітря 60–85 %. При температурі нижче 16 °С і вище 30 °С у розвитку гриба настає депресія. Ашерсонію можна вирощувати на зерні і на рідкому пивному суслі з цукристістю 8–10% за рН 5–6. Застосовують шляхом обприскування рослин спорово-міцеліальною суспензією з титром не менше 5×10^7 спор/мл.



А)



Б)

Рис. 9.16. Конідії *Aschersonia placenta* Berk. et Br. (А) та уражені грибом личинки білокрилок

9.2. Бактеріальні препарати

Бактерії, як правило, здатні рости на штучних живильних середовищах, що спрощує виробництво препаратів на їх основі. За живильними потребами різні види бактерій, що становлять інтерес для біологічного захисту рослин, істотно різняться. Серед них є форми, для яких ще не розроблено штучних живильних середовищ, у зв'язку з чим ускладнюється промислове виробництво препаратів на їх основі. До таких бактерій слід віднести збудників молочної хвороби пластинчатовусих жуків.

Препарати на основі *Bacillus thuringiensis* (рис. 9.17–9.20) та інших бактерій, що добре ростуть на штучних живильних середовищах, виготовляють у заводських умовах з використанням сучасного технологічного обладнання. Найістотніші технологічні проблеми при цьому пов'язані з отриманням біологічно активних, фагостійких і продуктивних штамів бактерій, забезпеченням їх елементами живлення, застосуванням оптимальних схем культивування й переробки сирової біомаси. З виробничими штамми мікроорганізмів ведеться постійна селекційно-генетична робота. Використовуються лише високоефективні штами проти певних груп фітофагів, що найповніше відповідають технологічним та економічним вимогам. Серед цих критеріїв – насамперед придатність до масового розмноження з потреби в елементах живлення, стабільність утворення корисних компонентів (спор, токсинів, ферментів) і стійкість щодо руйнівної дії фагів. Штами, що відповідають цим виробничим вимогам, виділяють із природних джерел (нематод, комах, гризунів), а також одержують за допомогою сучасних селекційно-генетичних методів.

У біологічному захисті рослин використовується низка інсектицидно-бактеріальних препаратів.

Нині промисловим шляхом випускають інсектицидні бактеріальні препарати практично лише на основі різних варіантів *Bacillus thuringiensis*. У різних країнах налічують десятки таких препаратів, що умовно поділяються на три групи.

До першої групи належать біопрепарати типу лепідоциду, що містять як активну основу спори бактерії і кристали ендотоксину. З вітчизняних препаратів, крім лепідоциду, сюди входять ентобактерин, БП, інсектин, гомелін. За кордоном відомі дипел, турицид, біотро-ВТВ (США), спореїн, бактоспеїн (Франція), батурин (Чехія), бактукал (Сербія), диспарин (Болгарія) та ін.

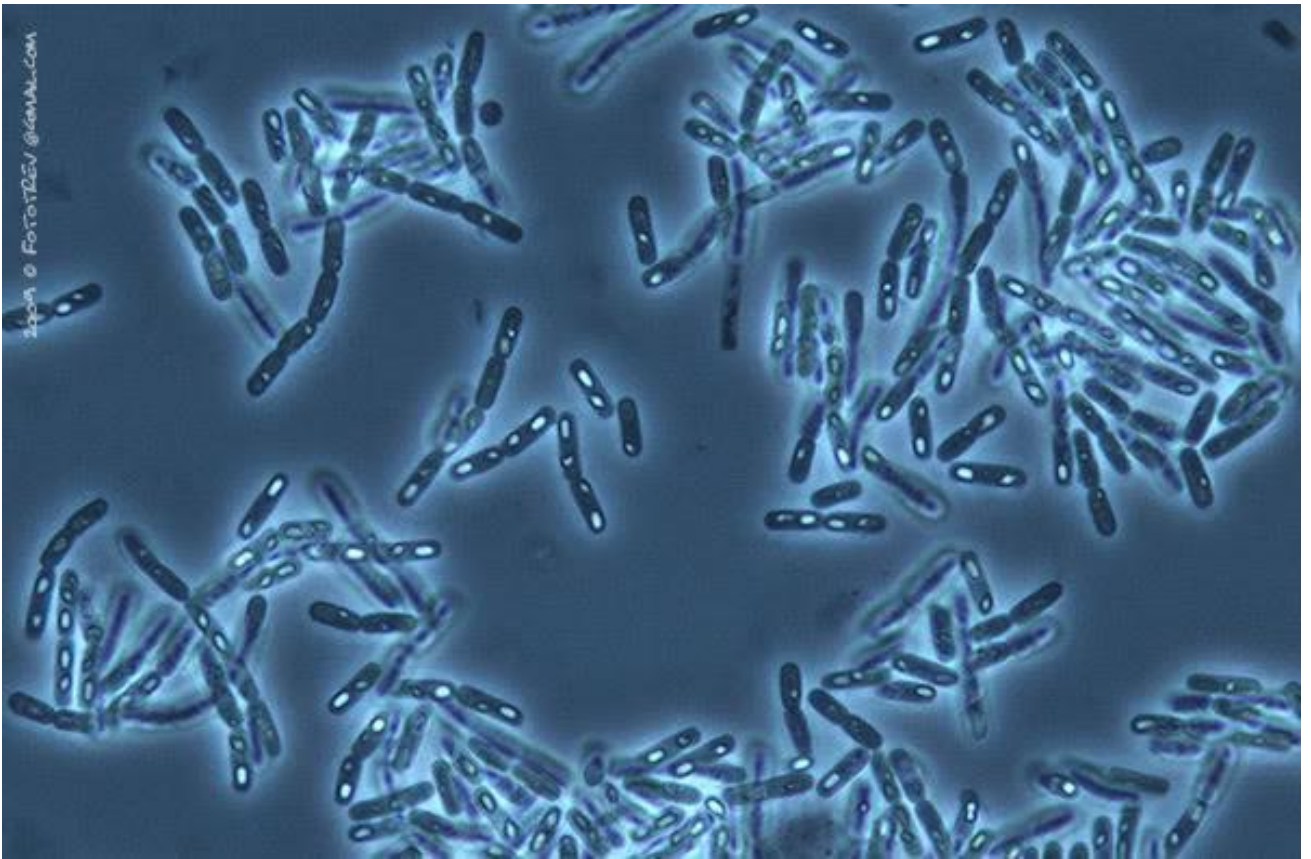


Рис. 9.17. *Bacillus thuringiensis* у масі



Рис. 9.18. Структурна будова *Bacillus thuringiensis*

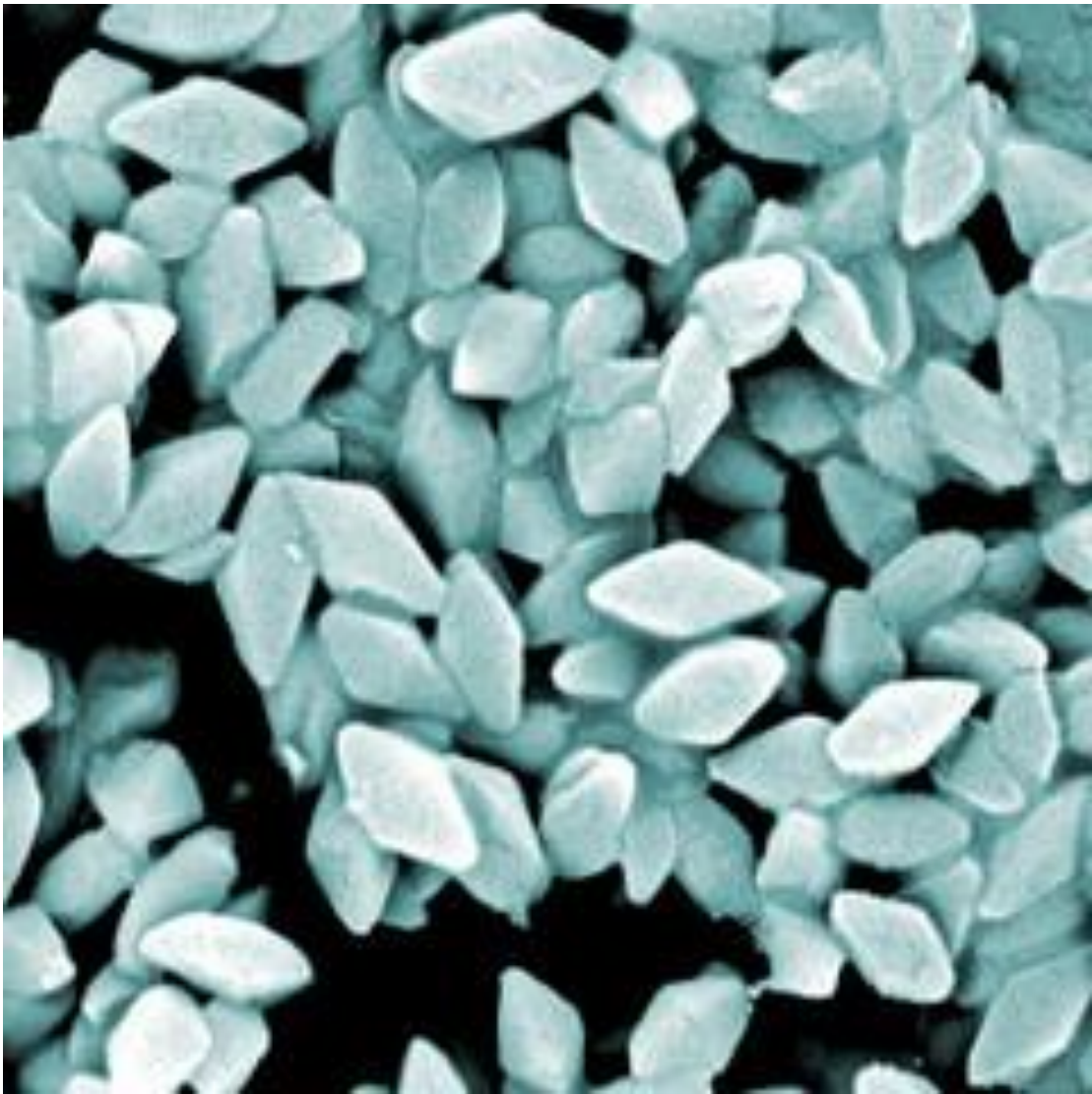


Рис. 9.19. Параспоральні кристали *Bacillus thuringiensis*

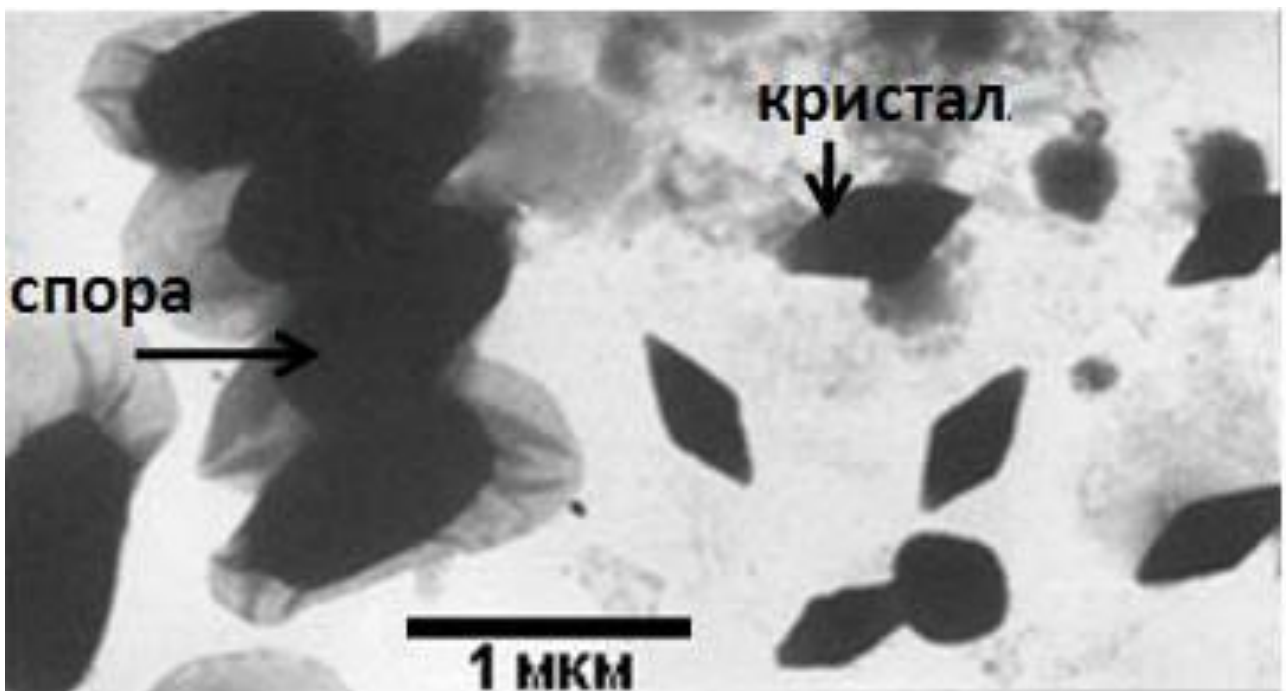


Рис. 9.20. Споро-кристалічна суміш *Bacillus thuringiensis ssp. sotto 1020*

Друга група препаратів поряд зі спорами та кристалами ендотоксину містить ще й термостабільний екзотоксин. До цих бактеріальних препаратів належить вітчизняний препарат бітоксисбацилін.

І, нарешті, інсектицидні препарати можуть містити очищені токсини.

Vt-токсин потрапляє в організм комах шляхом поїдання ними оброблених біопрепаратами рослин або поїданням ними тканин трансгенних рослин. Розчинення і активація відбувається за рахунок лужної рН в кишечнику комах. Токсин зв'язується з рецептором на клітині кишечника й інтегрується в мембрану, утворюючи пори, що викликає загибель клітин. Через це гусениця вмирає, а тканин, що розкладаються, можуть бути використані бактеріями (рис. 9.21, 9.22).

Ентобактерин розроблено в колишньому Всесоюзному інституті захисту рослин. Активною основою є бактерія *Bacillus thuringiensis subsp. galleriae* Heimpel. Бактерію вперше виділено з гусениць вощиної молі. Вона відрізняється від інших підвидів *Bacillus thuringiensis* поєднанням таких ознак: утворює ацетилметилкарбінол, слабо гідролізує білки та інтенсивно розкладає ексулін і крохмаль, засвоює саліцил і не засвоює сахарози та маннози, не продукує

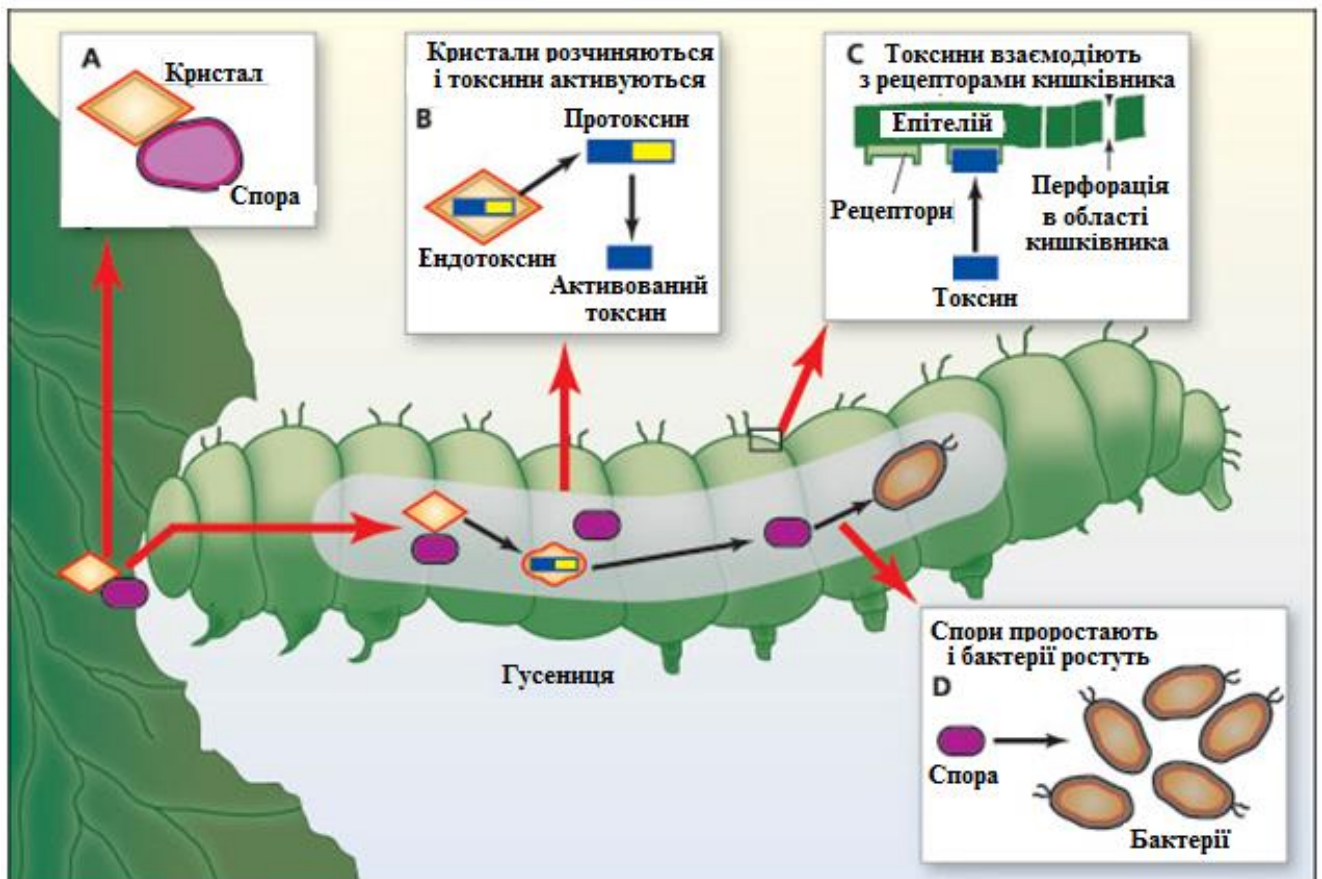


Рис. 9.21. Життєвий цикл *Bacillus thuringiensis*

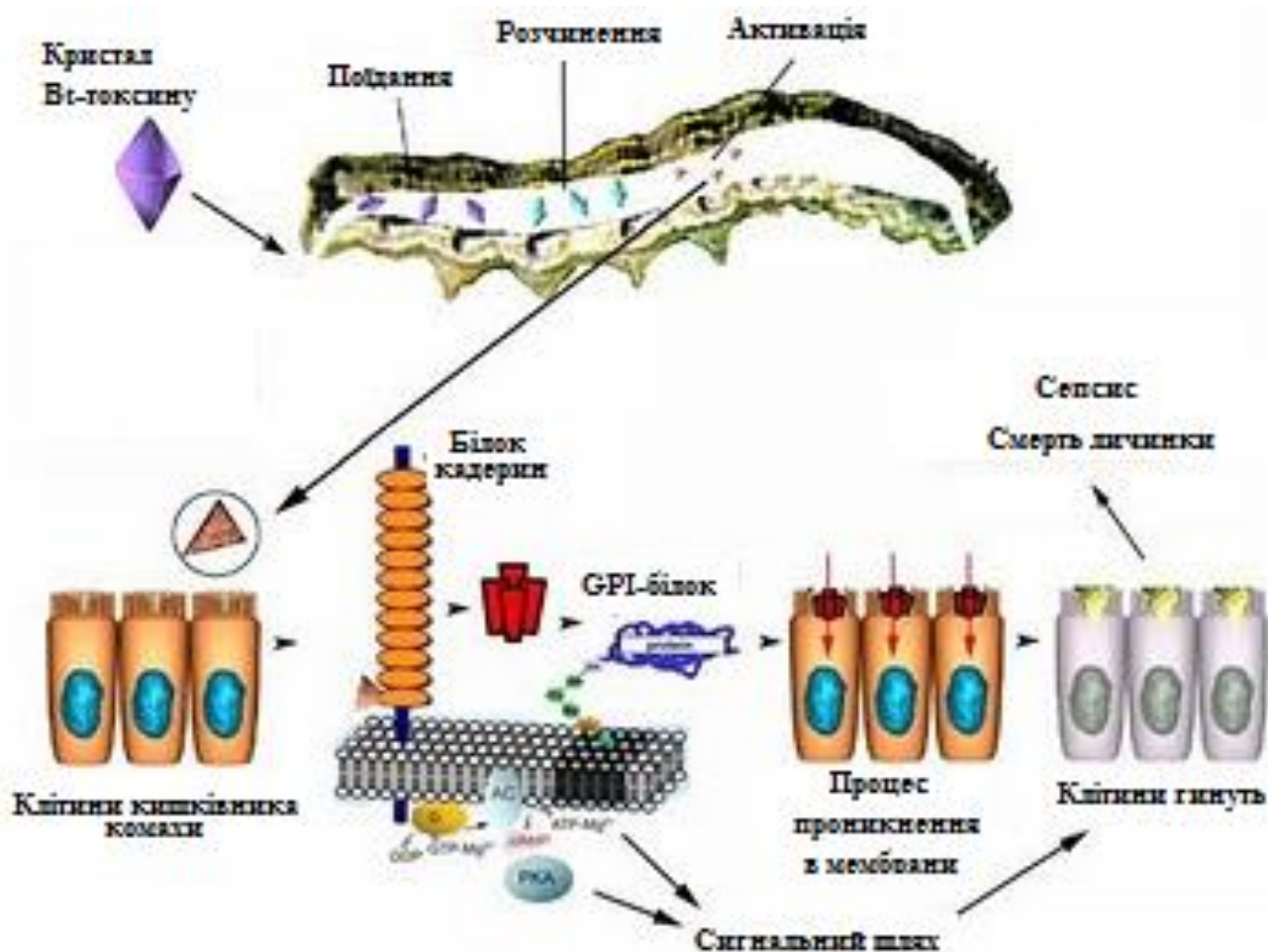


Рис. 9.22. Модель процесу впливу Bt-токсину на комаху

пигменту на яєчному жовтку; її джгутиковий антиген належить до серотипу 5а–5в; вона, як правило, не містить термостійкого екзотоксину і не продукує лецитинази.

Сухий ентобактерин – світло-сірий порошок з умістом вологи не більше 5 %. Під час просівання крізь сито № 009 кількість залишків не перевищує 5 %. Титр – не менше 30 млрд/г спор і стільки ж – кристалів ендотоксину. Випускають партії препарату і з вищим титром. Коефіцієнт біологічної активності, визначений на гусеницях воциної молі за стандартною методикою, становить не менше 1,0. Біологічна активність – 1000 ОА/г.

Ентобактерин зберігають окремо від отрутохімікатів у сухих неопалюваних приміщеннях. Рекомендована температура зберігання – від – 30 °С до +30 °С. Гарантійний термін зберігання – 1,5 року від дня виготовлення.

Препарат рекомендовано до застосування:

- капуста – проти гусениць біланів, молей, вогнівок (1,0–3,0 кг/га);
- плодові культури – листогризучі лускокрилі (3,0–5,0 кг/га);
- виноградники – гронова листовійка (5,0–7,0 кг/га);
- ягідні культури – листовійки, вогнівки, пильщики (5,0–7,0 кг/га);
- різні польові культури – лучний метелик (2,0–3,0 кг/га).

Дендробацилін запропоновано Іркутським державним університетом. Основою препарату є ентомопатогенна споротворна бактерія *Bacillus thuringiensis subsp. dendrolimus* (Talalaev) Krieg (*Syn.: Bacillus dendrolimus* Talalaev), що належить до четвертого серотипу, яку виділили з хворих гусениць сибірського шовкопряда. У разі штучного зараження гусениць хазяїна він спричиняє септицемію.

Морфологія клітин: палички із заокругленими кінцями завбільшки 1,0–1,5 та 2,0–6,0 мкм утворюють ланцюжки по 2–6, зрідка 8–10 клітин. Спори овальні, завбільшки 1,0–1,3 мкм, розміщуються субтермінально чи ексцентральні. Поряд зі спорою утворюються включення ендотоксину, звичайно – у вигляді біпірамідальних кристалів.

Сухий дендробацилін – це світло-сірий порошок з умістом вологи не менше 5 %. Титр препарату, тобто кількість життєздатних спор в 1 г, становить 20, 60 і 100 млрд, така сама кількість і кристалів ендотоксину. Строк зберігання – 1,5 року від дня виготовлення. Зберігають препарат окремо від отрутохімікатів у сухих складських приміщеннях з температурою навколишнього середовища.

В умовах зберігання дендробациліну та інших мікробіологічних препаратів, що виробляються на живильних середовищах з крупнозернистими компонентами, якими, наприклад, є борошно та дріжджі, слід оберігати препарати від перезволоження, оскільки наявні в них органічні компоненти стають субстратом для пліснявих грибів і гнилісних бактерій, які продуктами метаболізму і продуктованими ферментами деградують білковий ендотоксин. У разі підвищеної вологості життєздатність бактеріальних спор знижується. Це стосується й спор *B. thuringiensis*. Особливо різко знижується активність мікробіологічних препаратів унаслідок поєднання підвищеної вологості і температури в межах 15–35 °С, за якої розмножується більшість мезофільних мікроорганізмів.

Препарат з титром 60×10^9 рекомендовано до застосування:

- капуста – проти гусениць біланів, молей, вогнівок, капустяної совки (1,0–1,5 кг/га);
- плодові і лісові культури – листогризучі лускокрилі (1,5–2,0 кг/га);
- різні польові культури – лучний метелик (0,5–1,0 кг/га).

Для препаративних форм з іншим титром норми витрати відповідно коригуються.

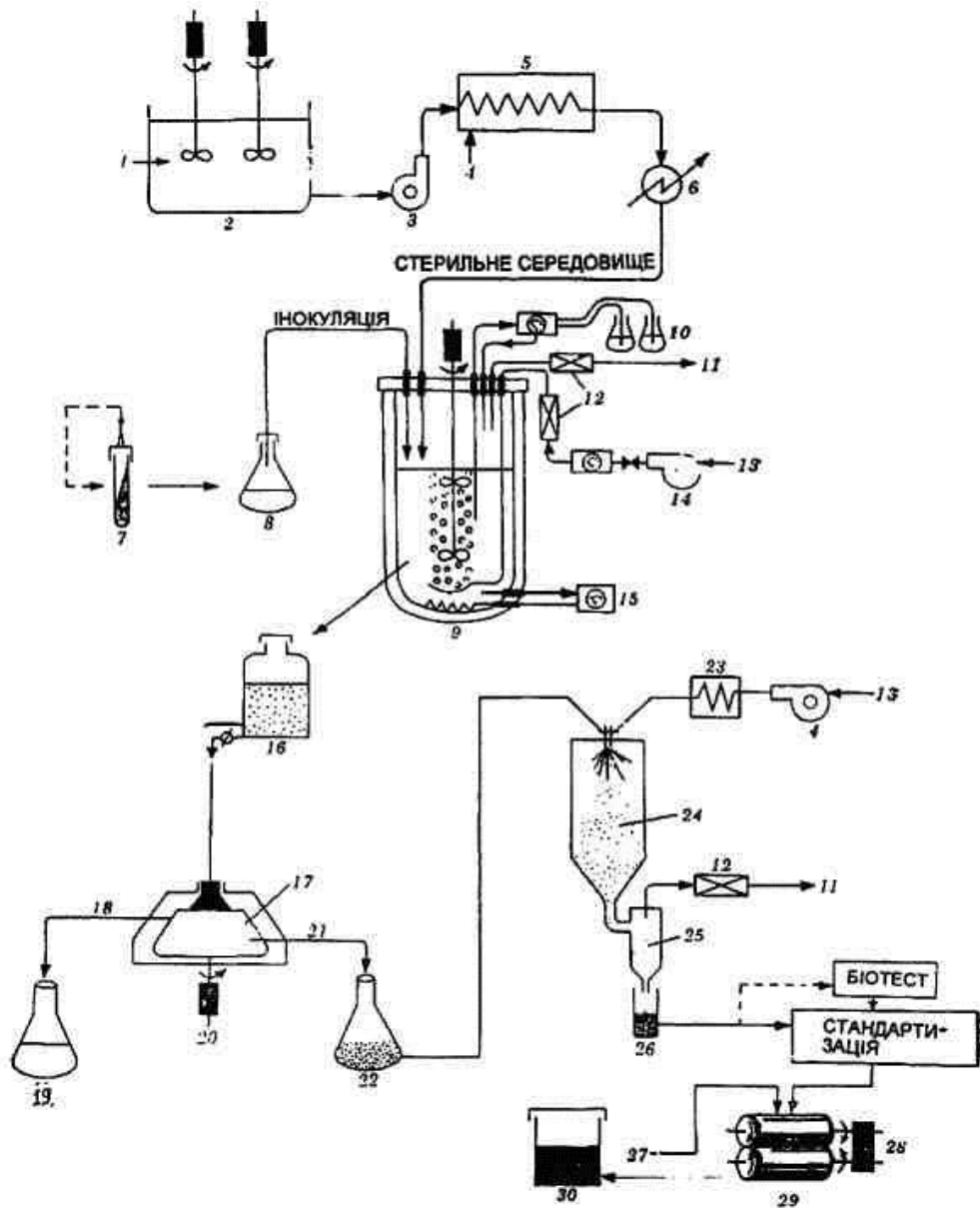


Рис. 9.23. Технологія виробництва біопрепаратів на основі бактерії *Bacillus thuringiensis*:

1 – штучне живильне середовище; 2 – змішувач; 3 – насос; 4 – водяна пара; 5 – стерилізатор; 6 – охолоджувач; 7 – виробничий штам бактерії; 8 – попередня культура; 9 – ферментер; 10 – регулювання рН живильного середовища; 11 – відведення повітря; 12 – фільтр; 13 – подача повітря; 14 – компресор; 15 – регулювання температури; 16 – продукт ферментації; 17 – барабан для концентрування біомаси; 18 – надосадна рідина; 19 – вільне від бактерій культуральне середовище; 20 – центрифуга; 21 – осад; 22 – концентрат бактеріальної маси; 23 – нагрівач; 24 – розпилювальна сушарка; 25 – циклон; 26 – висушена бактеріальна маса; 27 – добавки (наповнювач, прилиплювач, змочувач); 28 – млин тонкого розмелу; 29 – готування препарату; 30 – готовий бактеріальний препарат (змочуваний порошок).

Лепідоцид – бактеріальний вітчизняний препарат, створений на основі *Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki* Krywienczyk Dulm., et F., штам Z-52, K-102. Підвид продукує кислоту з саліцину, утворює уреазу і не утворює пігменту. Випускають його у формі сухого концентрованого порошку з титром 100 млрд/г спор і такої самої кількості ендотоксину. Біологічна активність – 3000 ОА/г.

Лепідоцид стабілізований (ЛЕСТ). Активна основа така ж, як і в концентрованому, титр 70 млрд спор в 1 г препарату, біологічна активність – 3000 ОА/г.

Концентрований порошок рекомендовано до застосування:

- капуста – проти гусениць біланів, молей, вогнівок, капустяної совки (1,5–2,0 кг/га);
- плодові культури – листогризучі лускокрилі (1,0–1,5 кг/га);
- виноградники – гронова листовійка (2,0–3,0 кг/га);
- різні польові культури – лучний метелик (0,6–1,0 кг/га).

Інститутом мікробіології Академії наук Вірменії розроблено препарат **БІІІ** на основі бактерії *Bacillus thuringiensis subsp. caucasicus* (за міжнародною номенклатурою *Bacillus thuringiensis subsp. dermstadiensis*), виділеної вперше з гусениць шовкопряда тутового.

Бактерія має такі ознаки: продукує пігмент на яєчному жовтку, не зброджує саліцину, утворює плівку на м'ясо-пептонному бульйоні, гідролізує крохмаль, дає позитивну реакцію Фок-Проскауера, продукує лецитиназу, не утворює термостійкого токсину. Від інших форм *Bacillus thuringiensis* кавказький підвид відрізняється серологічними реакціями.

Препарат випускають у таких самих препаративних формах, як й інші препарати цієї групи.

Інсектин створено Інститутом лісу і деревини Сибірського відділення РАН. Випускають його на основі *Bacillus thuringiensis subsp. insectus*, штам НР-5, виділеної із хворих та загиблих гусениць шовкопряда сибірського. Бактерія продукує термостійкий екзотоксин. Під час виготовлення інсектину за технологією ентобактерину цей токсин не включається до окремого препарату. Інсектин за своїми властивостями подібний до дендробациліну.

Титр препарату 60 млрд спор і така ж кількість кристалів ендотоксину та екзотоксину. Біологічна активність – 2000 ОА/г. Ефективний проти шкідників лісу.

Препарат рекомендовано до застосування:

- капуста – проти гусениць біланів, молей, вогнівок (1,5–2,0 кг/га);

– лісові культури – листогризучі лускокрилі (1,0 кг/га, авіаобприскування).

Гомелін створено в Білоруському НДІ лісового господарства на основі бактерії *Bacillus thuringiensis subsp. thuringiensis*, штами 5072, 4067, і призначено для регулювання чисельності шкідників лісу.

Гомелін випускають у формі змочуваного порошку, титр 90 млрд спор/г. Біологічна активність – 2700 ОА/г.

Препарат рекомендовано до застосування:

– капуста – проти гусениць біланів, молей, вогнівок, капустяна совка (1,5–2,0 кг/га);

– плодові і лісові культури – листогризучі лускокрилі (1,0–2,0 кг/га).

Окрім перелічених ендотоксиномісних препаратів, ефективних проти лускокрилих комах, останнім часом створено препарати, активні проти личинок твердокрилих. Створення таких препаратів стало можливим після виділення нового підвиду *Bacillus thuringiensis subsp. tenebrionis*, що продукує кристалічний ендотоксин зі специфічною інсектицидною активністю.

Децимід – препарат на основі серотипу *Bacillus thuringiensis subsp. tenebrionis* Krieg створено в колишньому ВНДІ карантину і НВО «Біомаш» (Москва). Концентрована суспензія.

Рекомендовано до застосування на пасльонових культурах проти колорадського жука (5,0–6,0 кг/га).

Новодор – створено на основі *Bacillus thuringiensis subsp. tenebrionis*, штам № В-125, текучий концентрат або порошок. Активна основа – білкові кристали ендотоксину. У своєму складі не має екзотоксину. Застосовується проти колорадського жука (личинки першого-другого віку) на картоплі і помідорах – дві-три обробки у період вегетації рослин через п'ять-сім днів проти кожного покоління з нормою витрати 2,0–5,0 кг/га.

Колорадо, змочуваний порошок, титр 20×10^9 спор і кристалів ендо-токсину бактерії *Bacillus thuringiensis subsp. tenebrionis*. Рекомендовано до застосування на пасльонових культурах проти колорадського жука (4,0–5,0 кг/га).

Перелічені бактеріальні препарати, що належать за описаною вище класифікацією до першої групи, не мають принципових відмінностей у технології виробництва та характеристики препаративних форм.

До другої групи бактеріальних інсектицидних препаратів, створених на основі *Bacillus thuringiensis*, належить **бітоксимацилін**.

Активною основою його є спори, ендо- та екзотоксини. Бітоксидацилін виробляють на основі *Bacillus thuringiensis subsp. thuringiensis* (Berliner Heimpel et Angus), що відрізняється від інших серотипів цієї групи бактерій поєднанням таких ознак: продукує термостабільний екзотоксин, утворює кислоту з саліцилу, сахарози та маннози, гідролізує крохмаль і ескулін, містить лецитиназу, не продукує пігменту на яєчному жовтку, не містить уєрази й утворює плівку на живильному бульйоні.

Препарат малотоксичний для людини і теплокровних тварин, безпечний для ентомофагів та бджіл. Строк очікування – одна доба.

Бітоксидацилін – це однорідний порошок від світло-сірого до світло-коричневого кольору, з характерним запахом. В 1 г препарату міститься 45 млрд життєздатних спор, 45 млрд кристалів екзотоксину, 0,8 % термостабільного екзотоксину і не більше 7 % вологи. Біологічна активність – 1500 ОА/г. Біологічна активність, визначена за смертністю гусениць непарного шовкопряда, має становити від 15 до 9 % у разі годівлі їх живильним середовищем, змішаним з 0,0015; 0,006; 0,025 і 0,1 %-ними суспензіями препарату (співвідношення ваги корму й суспензії – 5 : 1). Завдяки тому, що в препараті містяться токсини двох типів, він більш ефективний проти листогризухих гусениць, ніж описані вище препарати. Зокрема, бітоксидацилін ефективніший проти личинок колорадського жука, гусениць бавовникової совки, карадрини, люцернового довгоносика, капустиної мухи, павутинного кліща та інших шкідників. Екзотоксин виявляє також овіцидну дію, тому обробка ним яйцекладок колорадського жука, кільчастого шовкопряда приводить до загибелі личинок, що виплджуються з яєць. Комахи під дією препарату часто гинуть під час заляльковування. Характерною рисою дії бітоксидациліну є порушення метаморфозу, що проявляється в утворенні великої кількості незвичайних особин, зниженні життєздатності й плодючості комах.

Гарантійний термін зберігання препарату – 1,5 року в сухих складах при температурі від –30 до 30 °С. Наприкінці терміну зберігання допускається зниження кількості життєздатних спор до 20 млрд/г препарату без зниження біологічної активності. Препарат рекомендовано до застосування:

- пасльонові культури – проти колорадського жука (3,0–5,0 кг/га);
- капуста – проти гусениць біланів, молей, вогнівок, капустяна совка (2,0–3,0 кг/га);
- плодові культури – листогризухі лускокрилі (3,0–5,0 кг/га);

- виноградники – гронова листовійка (6,0–8,0 кг/га);
- ягідні культури – листовійки, вогнівки, пильщики (3,0–5,0 кг/га);
- різні польові культури – лучний метелик (2,0 кг/га);
- огірок у закритому ґрунті – павутинний кліщ (30,0–50,0 кг/га).

Бікол. Препарат створено на основі штаму бактерії *Bacillus thuringiensis subsp. thuringiensis*, і за своєю характеристикою він близький до бітоксубациліну. Виробляється промисловістю у формі змочуваного порошку з титром 45×10^9 .

Препарат рекомендовано до застосування:

- пасльонові культури – проти колорадського жука (2,0–5,0 кг/га);
- капуста – проти гусениць біланів, молей, вогнівок, капустяна совка (1,0–1,5 кг/га);
- плодові культури – листогризучі лускокрилі (1,0–1,5 кг/га);
- огірок у закритому ґрунті – павутинний кліщ (14,0–21,0 кг/га).

До третьої групи належать препарати: **турингін**, у Румунії виробляють на культуральній рідині *Bacillus thuringiensis* препарат **туринтакс**, що також містить екзотоксин. В Японії одержують препарати на основі чистих кристалів ендотоксину.

Турингін. Розроблено на основі *Bacillus thuringiensis subsp. thuringiensis*, штами 5072 та 4067. Виготовляються дві препаративні форми: турингін-1, рідкий, вміщує 0,8 %, та турингін-2, водний розчин, який вміщує 10 % термостабільного екзотоксину. У процесі виробництва турингину біомасу, отриману у ферментерах, розділяють на центрифугі на тверду і рідку фракції і потім з рідкої фракції випаровуванням концентрують екзотоксин. Препарати рекомендовані до застосування проти павутинного кліща на овочевих і декоративних культурах (турингін-1) і проти колорадського жука на картоплі (турингін-2, 0,2–0,4 кг/га).

У промислово розвинених країнах Заходу більшість бактеріальних препаратів для регулювання чисельності комах виробляють на основі *Bacillus thuringiensis*. Це здебільшого препарати першої групи, серед них – турицид, діпел, бактоспеїн, біотрол, агрітрол, спореїн та ін.

Турицид НР (Німеччина, Швейцарія, Нідерланди) створено на основі *Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki* у вигляді змочуваного порошку.

Випускають його в пакетах по 10 кг. В 1 г препарату – 20 млрд жит-тездатних спор. Активність його в МО (міжнародні одиниці) становить 16 тис.

Терміни зберігання – залежно від температури: при 5–10 °С –

кілька років, при 20–24 °С – протягом року, при 32 °С – протягом півроку, при 45 °С – місяць.

Діпел (США, Австрія, Швейцарія, Німеччина, Франція) виробляють на основі *Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki* в п'яти різних формах: діпел ТМ – змочуваний порошок з титром 25 млрд/г і активністю 16000 МО/мг; діпел LC – рідкий концентрат з титром 6,25 млрд/г і активністю 4000 МО/мг; діпел Нg – змочуваний порошок з титром 6,75 млрд/г та активністю 4300 МО/мг; діпел SC рідкий концентрат з титром 14 млрд/г й активністю 9000 МО/мг, а гранульовану принаду (США) біотрол – у кількох формах. Для їх виробництва використовують різні штами зі специфічним спектром дії, на основі яких у продаж надходять біотрол БТ 183, біотрол 2,5, біотрол ХК, біотрол плюс.

У Франції на основі бактерії *Bacillus thuringiensis* виробляють **бактоспеїн** у трьох формах: змочуваний порошок з активністю 16000 МО, пасту з активністю 6000 МО і гранули з активністю 500 МО. Термін придатності змочуваного порошку – до п'яти років, гранул – 2,5 року, пасти – один рік. Бактоспеїн виготовляють і в Голландії, препаративна форма – змочуваний порошок, активність препарату 16000 ОА/мг. Друга форма препарату бактоспеїн – концентрат суспензії, біологічна активність 8500 ОА/мг.

Випускається ще бактоспеїн у формі дусту, біологічна активність його 800 ОА/мг.

Крім бактопсеїну, у Франції виробляють препарати **спореїн** та **плантибак**.

Інші види бактерій для виробництва інсектицидних біопрепаратів використовують менше. Так, у США на основі збудників молочної хвороби пластинчатовусих комах бактерії *Bacillus popilliae* Dutky. (рис. 9.24) та *Bacillus lentimorbus* Dutky. виробляють бактеріальні препарати **дум** та **джапідемік**. У першу чергу препарати застосовують проти японського жука. В 1 г готового препарату міститься 100 млн життєздатних спор.

Бактофіл марки А та В – активний початок комплекс ґрунтових бактерій із загальним титром 3×10^8 клітин/мл. Застосовується проти шкідників сходів рослин шляхом внесення в ґрунт перед висівом насіння.

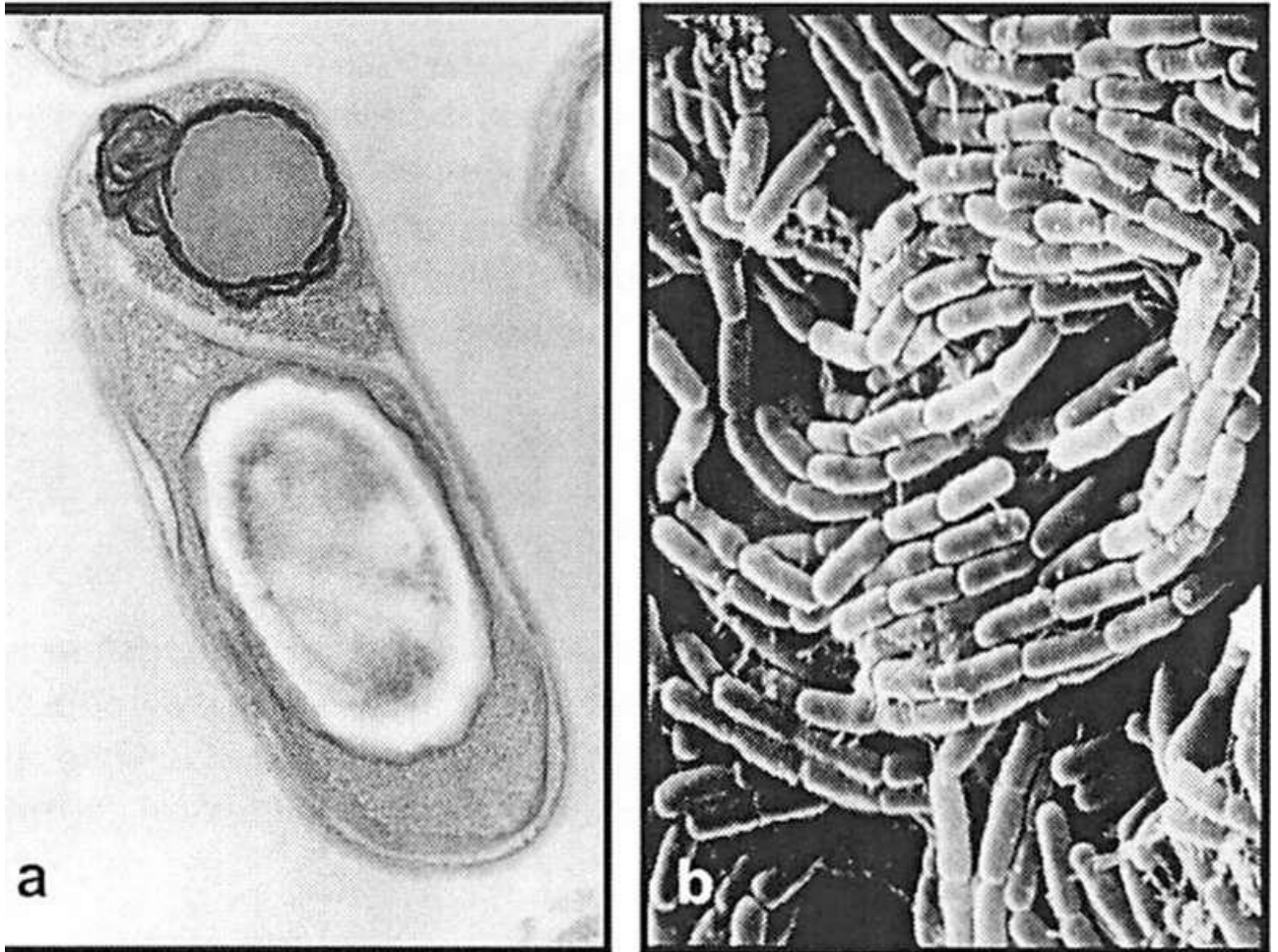


Рис. 9.24. *Bacillus popilliae* Dutky.

9.3. Вірусні препарати

Віруси продукуються тільки в живих клітинах відповідних організмів-хазяїнів, чим визначаються і способи їх масового одержання під час створення вірусних препаратів. Є кілька принципових можливостей накопичення вірусної маси: зараження хазяїна і подальше очищення інфекційного матеріалу, культивування і зараження клітин, чутливих до того чи іншого вірусу *in vitro*, використання ізольованих органів тварин, конструювання безклітинних систем.

Вірусні препарати звичайно випускають у рідкій формі, де як наповнювач використовують гліцерин, і в сухій – з метилцелюлозою чи іншими речовинами.

У країнах СНД запропоновано регламенти кількох препаратів на основі бакуловірусів. Усі ці препарати створено на основі масового розмноження комах-хазяїнів відповідних вірусів.

Вірусні інсектицидні препарати, як правило, називаються **віринами**. Їх розрізняють за додатковими позначеннями, що є або першими літерами українських видових назв комах-хазяїнів, або їхньої назви латиною. Якщо препарат створено на основі вірусу – збудника гранульозу, літерна аббревіатура доповнюється літерою Г. Наприклад, назва препарату «вірин-ГЯП» означає, що цей препарат створено на основі вірусу – збудника гранульозу яблуневої плодожерки.

Вірусні включення (поліедри та гранули) досить стійкі проти чинників зовнішнього середовища і в сухому стані можуть зберігатися кілька років. Для захисту вірусного препарату від інактивації прямими сонячними променями до нього додають 1 % сухого збираного молока (порошку) та інші домішки. Найкраще вірусні препарати зберігаються у формі суспензії у воді, гліцерині, фізіологічному розчині (рН 6–7).

Вірин-ЗСП. Препарат на основі вірусу ядерного поліедрозу звичайного соснового пильщика, штам ВА-1. Концентрат суспензії. Титр 10^9 поліедрів/мл. Рекомендовано до застосування у хвойних та листяних лісах проти звичайного соснового пильщика (80–100 мл/га).

Вірин-НШ. Створено на основі експериментального штаму вірусу ядерного поліедрозу непарного шовкопряда. Це концентрат суспензії поліедрів у 50%-ному гліцерині, з титром не менше 1 млрд поліедрів/мл. Рекомендовано до застосування в лісових насадженнях проти непарного шовкопряда (100–150 мл/га).

Вірин-ДШ. Вірусний матеріал – поліедри вірусу ядерного поліедрозу накопичують у гусеницях дубового шовкопряда. Препарат рекомендується до експериментального застосування проти гусениць капустяної совки з нормою витрати 150–200 мл/га.

Вірин-Діпріон. Препарат на основі вірусу ядерного поліедрозу рудого соснового пильщика кишкового типу штам Ns-3–8, концентрат суспензії. Титр 10^9 поліедрів/мл. Рекомендовано до застосування у хвойних лісах проти рудого соснового пильщика (10–40 мл/га).

Вірин-КШ. Створено на основі вірусу ядерного поліедрозу кільчастого шовкопряда. Виготовляють у сухій та рідкій формах. Сухий препарат має титр 1 млрд поліедрів і являє собою суміш їх з наповнювачем (каолін, бентоніт) та консервантами.

Рідкий препарат має титр 1 млрд поліедрів/г і містить наповнювач та консервант. Норма витрати – 200 мл/га.

Термін зберігання препарату обох форм при температурі 30 °С і не нижче –15 °С до п'яти років.

Вірин-ЕКС. Створено на основі вірусу ядерного поліедрозу капустяної совки. Препаративна форма – суспензія у 50 %-ному гліцерині з титром 1 млрд поліедрів в 1 мл. Випускають також вірин-ЕКС, сухий порошок, який містить не менше 1 млрд поліедрів в 1 г.

Вірин-ОС. Створено на основі вірусів гранульозу та ядерного поліедрозу озимої совки. Препаративна форма – сухий порошок на каоліні, титр – 3 млрд гранул та 1 млрд поліедрів у 1 г препарату.

Вірин-БС. Створено на основі вірусу ядерного поліедрозу бавовникової совки. Препаративна форма – сухий порошок, титр – 7 млрд поліедрів в 1 г препарату.

Елькар (САН-240). Створено на основі вірусу ядерного поліедрозу бавовникової совки. Препаративна форма – сухий порошок з титром 4 млрд в 1 г.

Вірин ГЯП. Створено на основі вірусу гранульозу яблуневої плодожерки. Випускають рідкий препарат з титром не менше 3 млрд гранул в 1 мл.

Вірин АБМ. Створено на основі вірусів ядерного поліедрозу та гранульозу американського білого метелика. Рідкий препарат, титр – 1 млрд поліедрів та 2 млрд гранул вірусів в 1 мл 50 %-ного гліцерину.

Вірин МВ. Створено на основі вірусів ядерного поліедрозу та гранульозу та агрусового п'ядуна. Препаративна форма – сухий порошок.

Вірин КД. Створено на основі вірусів ядерного поліедрозу та гранульозу смородинового та агрусового п'ядунів. Препаративна форма – сухий порошок. Препарату властива виражена інсектицидна дія відносно гусениць п'ядунів, листокруток, молей та вогнівок, які пошкоджують кущові ягідники. Пропонується для захисту ягідних культур в інтегрованих системах з переважним використанням біологічного методу, а також в системах органічного землеробства. Ефективність препарату відносно цільових об'єктів складає 65–75 %. Вірин КД дозволяється використовувати в суміші з бактеріальними і грибними препаратами.

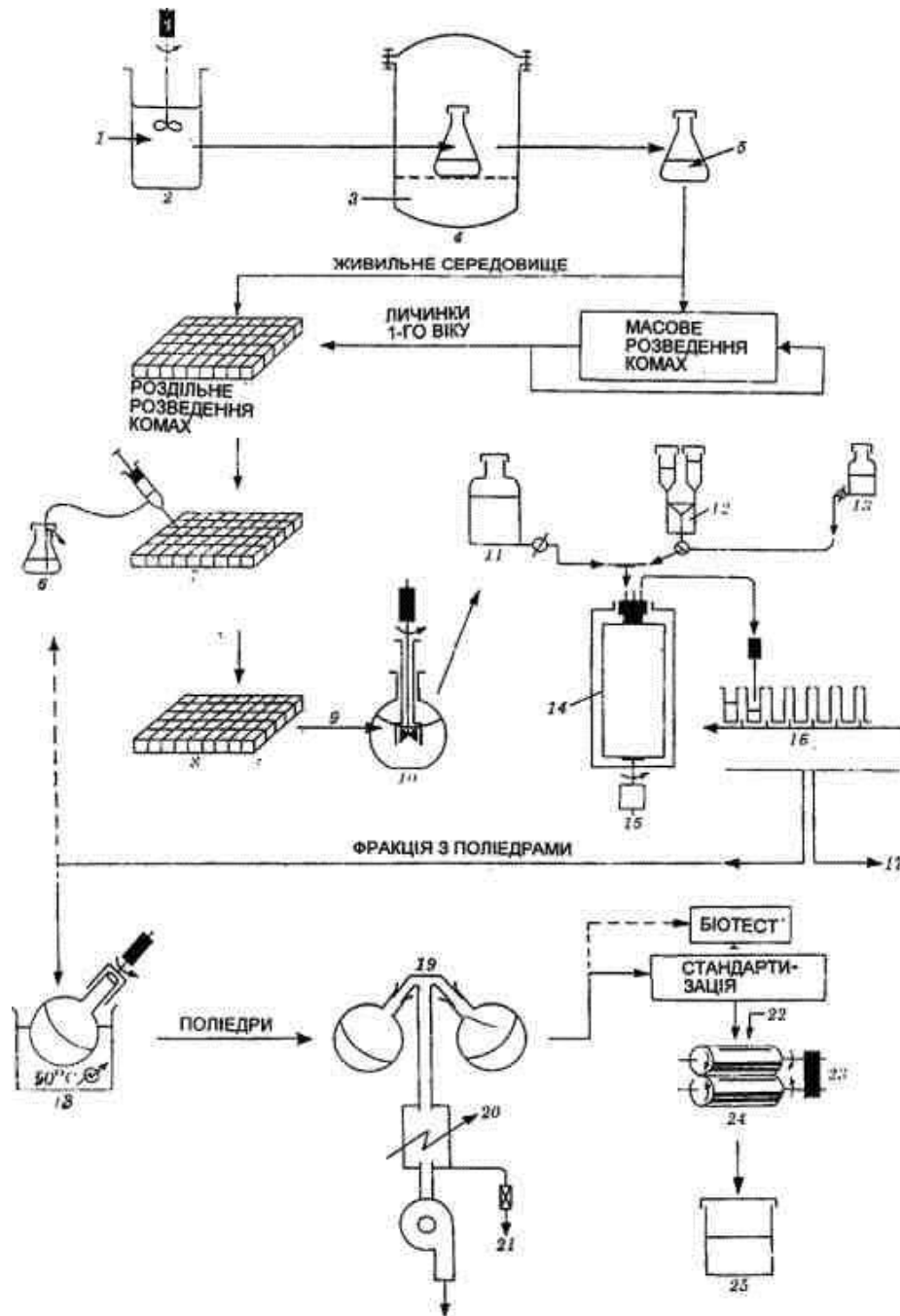


Рис. 9.25. Технологія виробництва вірусних інсектицидних препаратів:
 1 – живильне середовище для комахи-хазяїна; 2 – змішувач; 3 – водяна пара; 4 – стерилізатор; 5 – антибіотики і ростові речовини; 6 – суспензія вірусу; 7 – інокуляція (зараження комах вірусом); 8 – інкубація (розмноження вірусу й утворення поліедрів чи гранул); 9 – загиблі від вірусу личинки + вода; 10 – гомогенізатор; 11 – гомогенат; 12 – змішувач градієнтів; 13 – нашарування; 14 – зональний ротор; 15 – ультрацентрифуга; 16 – відбірник фракцій; 17 – видалення фракцій без поліедрів; 18 – охолодження; 19 – сушка заморожуванням; 20 – охолоджувач; 21 – вакуумний насос; 22 – добавки (наповнювач, змочувач, прилиплювач); 23 – млин тонкого розмелу; 24 – приготування препарату; 25 – готовий вірусний інсектицидний препарат (змочуваний порошок)



Рис. 9.26. Гусениці, що загинули від полідрозу



Рис. 9.27. Зріз великої багатогранної капсули, набитої паличокподібними вірусними частинками, що утворюють у клітинах заражених комах віруси ядерного поліедрозу та «стопки» вірусних часток, розрізані під різними кутами

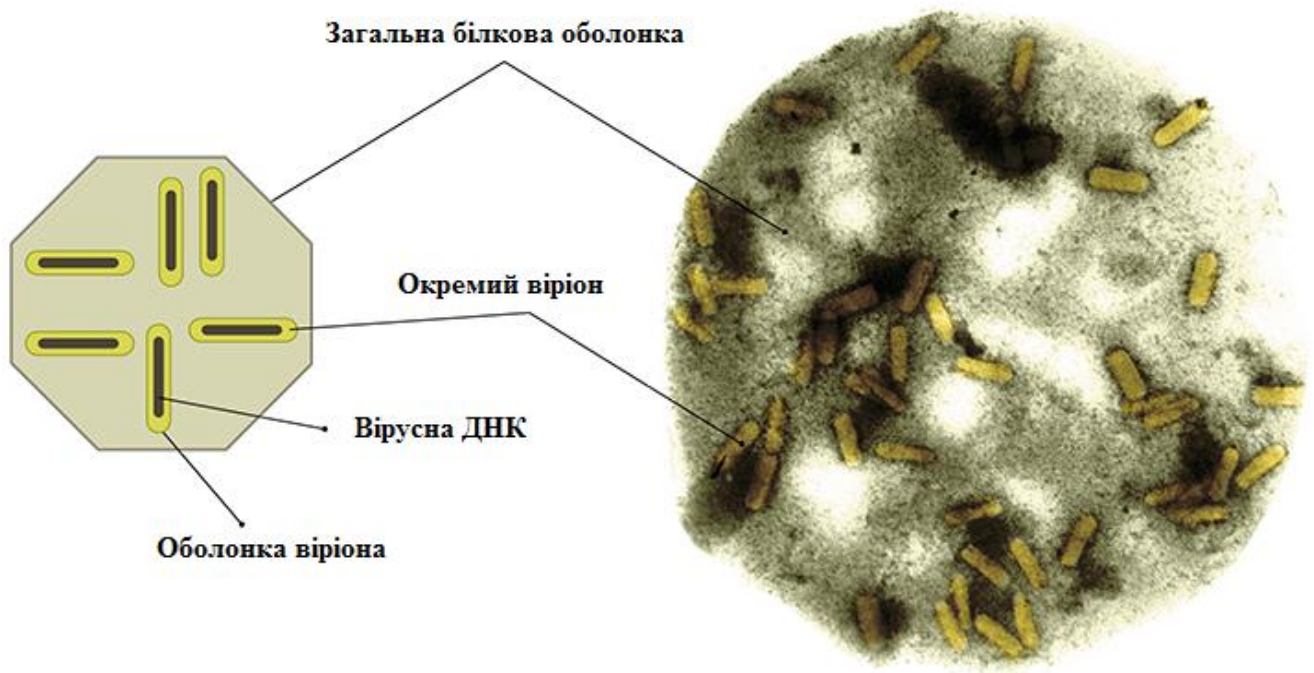


Рис. 9.28. Вірус ядерного поліедрозу непарного шовкопряда в білковій оболонці

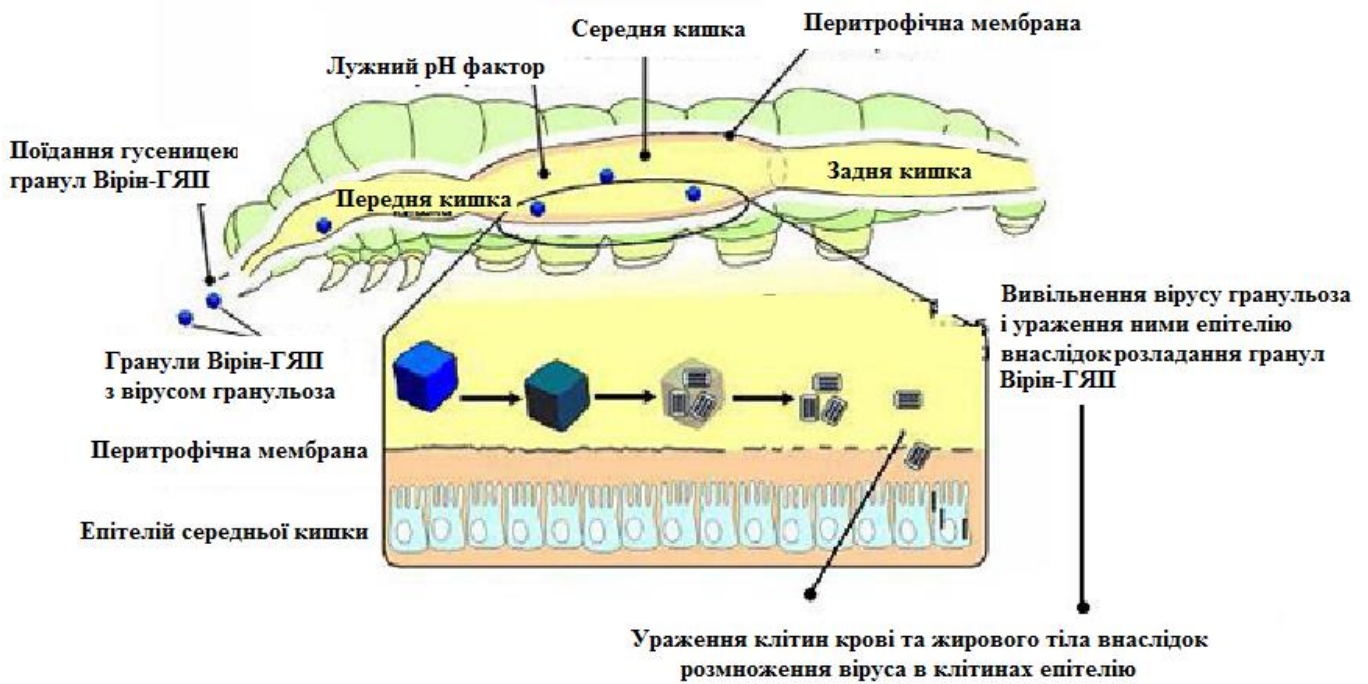


Рис. 9.29. Модель процесу впливу вірусу гранульозу на комаху

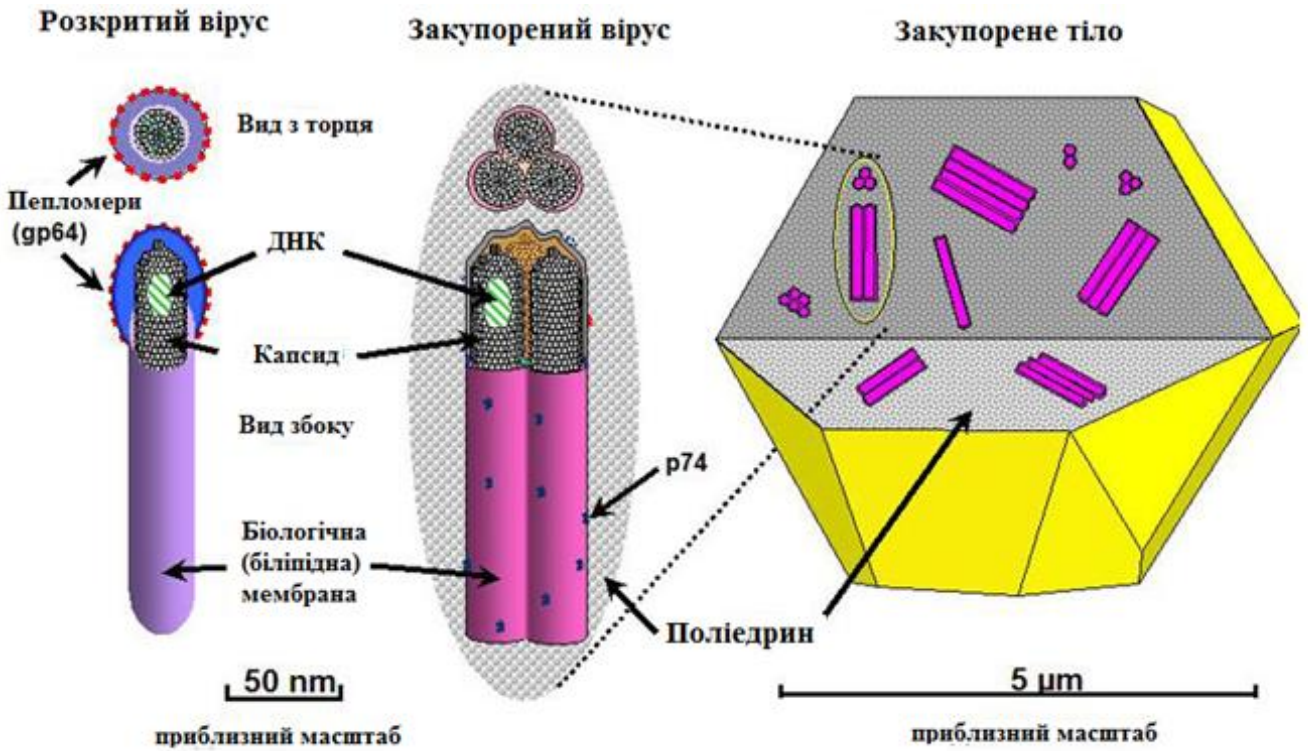


Рис. 9.30. Бакуловірус. Мультикапсид нуклеополігедровірус

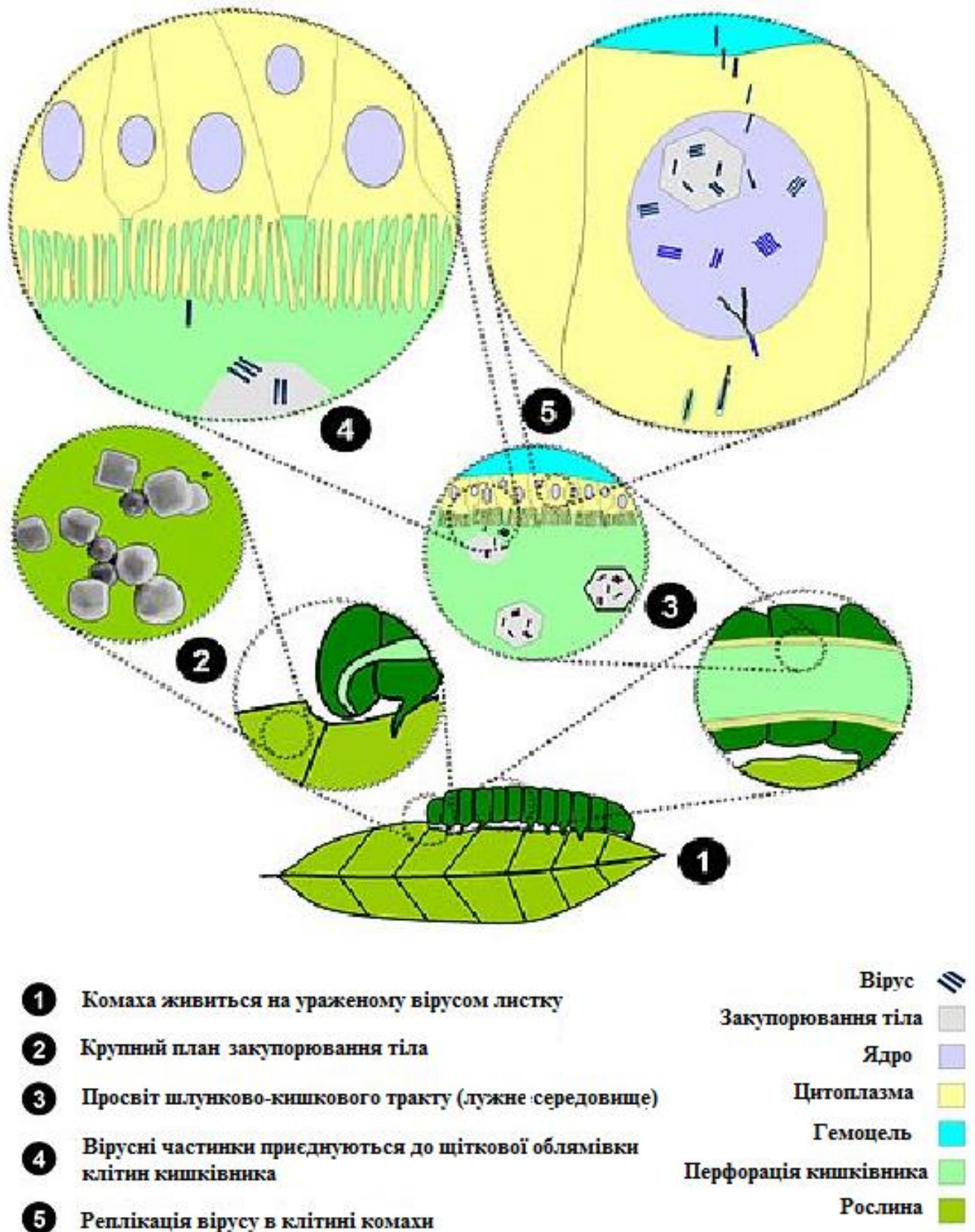


Рис. 9.31. Схема процесу впливу вірусного препарату на комаху

9.4. Нематодні препарати

Ґрунт – природне середовище проживання цих нематод, де вони добре адаптовані до різних умов вологості, температури, механічного та хімічного складу різних типів ґрунтів, тому штейнернематіди і гетерорабдіти трапляються на всіх континентах за винятком Антарктики і майже у всіх широтах і висотах над рівнем моря. Ці паразити здатні заражати понад тисячу видів комах з різних загонів, вражаючи всі фази розвитку, крім яйця. Інвазійні личинки нематод проникають усередину тіла комахи пасивно з кормом і активно – через рот, анус, дихальця і кутикулу, після чого нематоди випускають у кров комахи симбіотичних бактерій роду *Xenorhabdus*. Комаха після зараження нематодами гине на 2–3-тю добу під дією симбіотичних бактерій і в результаті пошкодження внутрішніх органів нематодами. Ентомонематоди добре розмножуються в комах, їх можна застосовувати звичайними методами, залишаючись у ґрунті, вони можуть тривалий час існувати без харчування за відсутності комахи-господаря. Стійкість до багатьох сучасних пестицидів і відсутність патогенної дії на рослини, дощових черв'яків і хребетних дозволяє ефективно використовувати їх у програмах управління чисельністю комах-шкідників. Сотні дослідників приблизно в 80 університетських, урядових і промислових лабораторіях у 40 країнах працюють з ентомопатогенними нематодами. Біологічні препарати на основі нематод у комерційних цілях виробляються на 4 континентах і успішно застосовуються проти шкідників пов'язаних з ґрунтом, а їх використання набуває все більшого значення. Ці препарати можна застосовувати спільно з хімічними та біологічними засобами захисту рослин. Нині у США, Канаді та європейських країнах виробництвом, оптовою та роздрібною реалізацією ентомопатогенних нематод займаються 83 компанії.

Немабакт – новий біологічний препарат на основі ентомопатогенної нематоди *Steinernema (Neoaplectana) carpocapsae* (штам Agriotos) (рис. 9.32) для боротьби з комахами-шкідниками.

Препаративна форма – поролонові крихти (розміром 1–6 см³), просочені водною суспензією нематод; 1 г поролону містить 0,5–1,0 млн нематод.

У закритому ґрунті ефективно діє проти: каліфорнійського і квіткового трипса, капустяної мухи, грибного комарика, цвіркунів та довгоносиків.

У відкритому ґрунті застосовується проти: смородинної склівки,

брунькової молі, дротяників, обліпихової та капустяної мух, листовійки, плодожерки, травневого хруща, дротяників, капустянки, колорадського жука, короїдів, також як додатковий ефект сліпаки залишають оброблені ділянки.



Рис. 9.32. Вихід нематод *Steinernema (Neoaplectana) carpocapsae* з ураженої личинки комахи

Препарат нешкідливий для людини і домашніх тварин, бджіл, риб, дощових черв'яків, корисних комах. Зберігаються пакети в холодильнику при температурі 2 (8) °С.

Немабакт – це симбіоз хижої нематоди і бактерії, яка проникає всередину личинки комахи, буквально виїдає її зсередини, після чого залишає порожню оболонку. Після потрапляння в ґрунт личинки нематод за відсутності комахи-господаря інактивуються. Таким чином, нематоди без харчування можуть існувати більше двох років. Коли поруч з'являється комаха, личинки активізуються, впроваджуються в тіло комахи. Після проникнення в комаху нематоди випускають у гемолімфу господаря симбіотичні бактерії. У результаті інтенсивного розмноження бактерій і пошкодження внутрішніх органів нематодами, комаха гине

через 1–3 доби. Усередині комах відбувається розмноження і ріст нематод, після чого протягом 8–15 діб з тіла комах виходять тисячі нових інвазійних личинок, здатних до зараження.

Транспортування важливий момент – температура повинна бути в межах 2–25 °С. Якщо температура вище або нижче потрібна сумка-холодильник. Головне завдання – рівномірно пролити препарат по оброблюваній ділянці. Нематода проникне в личинку комах, а бактерія знищить усі нутроці.

Після доставки препарату на ділянку, її кладуть у затінок для акліматизації. Витримка препарату становить від 2 до 4 годин (рекомендується 8 годин). Потім препарат заливають водою. Температура води повинна бути такою ж як і температура навколишнього середовища. Для того, щоб нематоди виплили і осіли на дні ємності, очікують 1,0–1,5 годин. Проливають ґрунт увечері та в сиру погоду. Якщо погодні умови посушливі, то землю проливають водою і зволожують. 0,5 л води з нематодами розмішують з 10 л чистої води і обробляють до 5 м². Потім знову проливають ділянку водою для змивання залишків нематод з листя і стебел. Через тріщини в ґрунті нематоди йдуть углиб, і починають полювання на личинок комах. Після внесення немабакту через 15–30 хв. ґрунт слід додатково зволожити (наприклад, рясно полити водою). Це полегшує проникнення нематоди вглиб ґрунту.

Ентонем-ґ – концентрат живих нематод *Steinernema feltiae* (Filipjev) (рис. 9.33, 9.34), що паразитують на широкому спектрі садових шкідників, враховуючи їх активних личинок і кладки яєць. Тривало зберігаючись у ґрунті, нематоди уражують шкідників повністю, показуючи результати викорінюючої дезінсекції. Препарат відносять до класу кишкових пестицидів, безпечних для людини (4-й клас токсичності).

Препарат випускають у рідкій емульсійній формі, що містить 5 млн нематод в 1 м препарату. Тривалість дії біоматеріалу на шкідників – 2 роки і більше. Засіб показує селективну вибірковість отруйної активності, залишаючи неушкодженими корисні види членистоногої ентомофауни.

Ентонем-ґ поступово ліквідує: капустяну, грибну та обліпихову мух, смородинну склівку, квіткових трипсів, дротяників, колорадського жука та борознистого скосяря.

Препарат на основі живої культури нематод – хижих організмів, що уражають шкідників у циклі активного паразитування в тілі комах, у його личинках та інших біологічних похідних. Завдяки своєму винятково

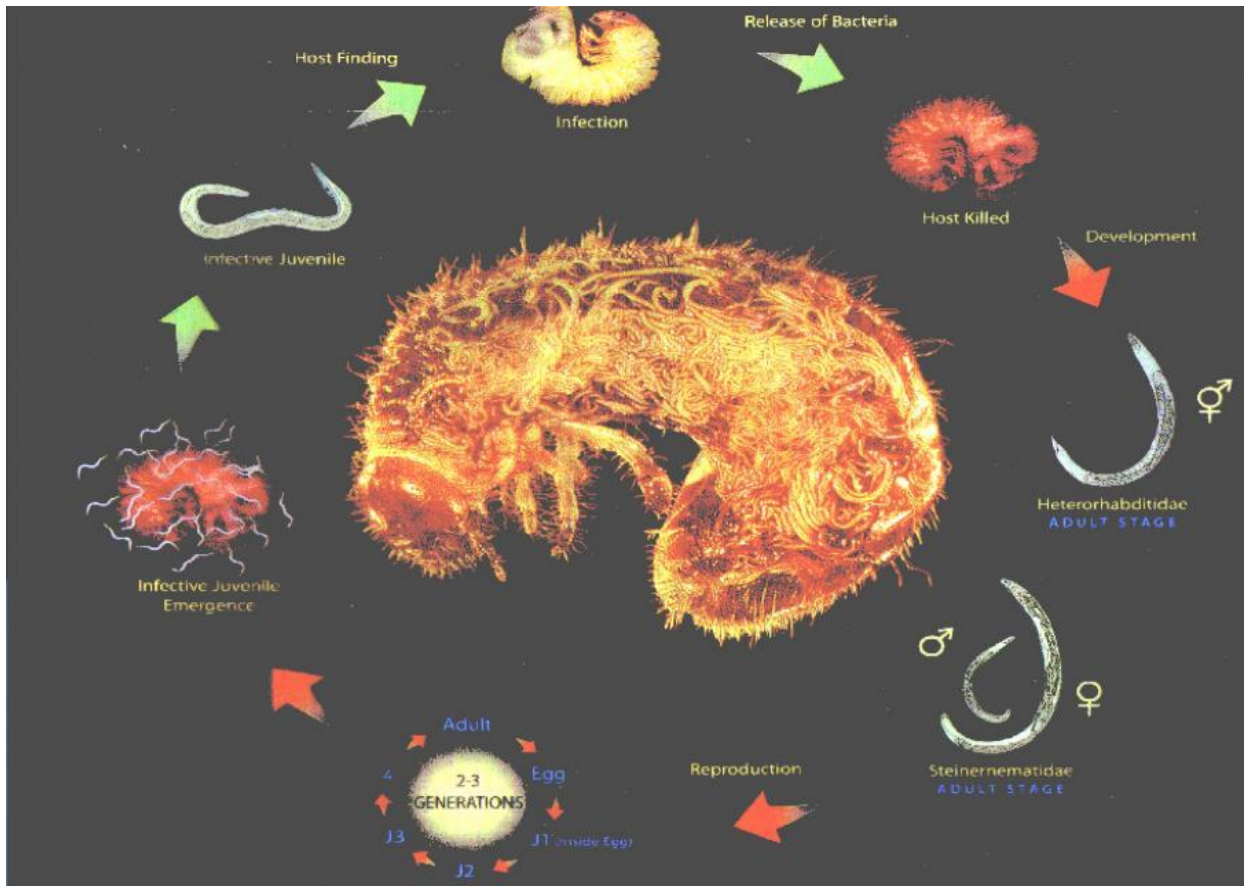


Рис. 9.33. Цикл розвитку нематоди *Steinernema feltiae* (Filipjev) на личинці хруща



Рис. 9.34. Нематоди *Steinernema feltiae* (Filipjev), виділені з ураженої личинки комахи

органічному походженню, препарат не забруднює навколишнє середовище в зоні внесення. Нематоди зберігають життєздатність у ґрунті близько двох років, стаючи грізним біологічним захистом на ділянці. Досить одного внесення Ентонем-Ф у ґрунт за сезон, щоб запустити роботу нематод.

Ентонем-Ф використовують у розчинах заводського концентрату з водою, де визначальне значення має не об'єм робочої рідини, а достатня кількість нематод на рослину або 1 м². Так на 1 одиницю капустяної розсади потрібно близько 125 тис. організмів (полив, або обприскування). Картопляний кущ обробляють поверхнево з орієнтовною витратою не менше 80 тис. нематод, а під час поливу від дротяників витрачають 5 млрд нематод на 1 га ріллі (близько 800 л робочого розчину).

Для підмішування в ґрунт і лікування квіткових живців використовують вологий пісок, у якому створюють концентрацію препарату 200–300 діючих одиниць на 1 см³ піщаної фракції. Орієнтовно 5–10 млрд органічних агентів вносять на гектар ґрунту під декоративні насадження. Для обприскування ґрунту (поверхнєве внесення) стартова концентрація агента становить 125 тис. одиниць на 1000 м².

За результатами випробувань (1993–2003 рр.) встановлено ефективність препаратів Немабакт та Ентонем-Ф проти таких видів комах-шкідників сільського господарства: трипси – 86–98 %; цвіркуни на 4-ту добу – 77,9 % і на 30-ту добу – 100 %; мухи – 80–90 %; довгоносики – 64–100 %); на печерицях проти грибних комариків – 60–90 %, дротяники на картоплі і кукурудзі – 97,9 %, капустяні мухи – 60–90 %, яблунева і сливова плодожерки – 80–100 %, личинки колорадського жука – 80 %, вишнева муха – 85 %, обліпихова муха – 93–100 %, капустянка – 80 %, личинки травневого хруща – 70–90 %, смородина склівка – 88,8 %, клоп шкідлива черепашка – 60 %, саранові – 75%, гедзі на тваринах 80–100 %.

Випробування ентомопатогенних нематод проти личинок коваликів проводилися з 1974 р. в Брянській, Ленінградській, Іванівській і Нижегородській областях і Краснодарському краї. Отримані результати свідчать, що в однакових нормах витрати Немабакту (0,5 і 1,0 млн нематод на 1 м²), за умов локального внесення під кущі картоплі водної суспензії нематод у період бутонізації, забезпечується зниження чисельності дротяників до періоду збирання врожаю на 93,6 %, тоді як за умов суцільного внесення нематод на

поверхню ґрунту в період посадки, технічна ефективність за цим показником становила 80 %. За першим способом внесення нематод бульби картоплі були чистими від пошкоджень, за другим – пошкоджених бульб було 12,0–17,8 % від загальної їх кількості. Установлено також, що Ентонем-Ф здатний ефективно знижувати чисельність личинок коваликів на рівні 95–100 % за локального внесення водної суспензії нематод під рослини у фазу бутонізації між першим і другим підгортанням картоплі. На підставі результатів випробувань Немабакту і Ентонему-Ф проти личинок коваликів на картоплі до подальшого використання на практиці рекомендується спосіб поверхневого їх внесення в ґрунт по рядках рослин у фазу бутонізації рослин, або в період посадки картоплі з нормою витрати нематод – 500 тис. особин на 1 м².

Під час розробки технології застосування нематод проти колорадського жука було проведено вивчення сприйнятливості різних фаз розвитку комахи до зараження нематодами і визначення можливих шляхів використання нематод проти цього шкідника. Найбільша сприйнятливість до зараження нематодами встановлена у личинок I, II і III-го віку. Личинки IV-го віку та імаго проявляють високу стійкість до зараження нематодами, тому вся технологія використання нематод проти шкідника орієнтована на використання цих паразитів проти личинок молодших віків. Випробування нематод у виробничих умовах проведено в Краснодарському краї, Брянській, Нижегородській, Іванівській та Ленінградській областях шляхом обприскування рослин картоплі водною суспензією нематод у вечірні години в період масової появи личинок колорадського жука молодших вікових груп на високому фоні їх чисельності (в 1,5–2,0 разу перевищує значення економічного порогу шкідливості). Підвищення технічної ефективності на 10,9–24,6 % встановлено за рахунок спільного використання суміші водних суспензій Немабакта і Ентонема-Ф. За умов обприскування картоплі сумішшю видів нематод в співвідношенні 40 : 40 тис./рослину технічна ефективність використання нематод проти личинок колорадського жука підвищується на 10,9–12,3 %. Оптимальним співвідношенням двох видів нематод, що забезпечує підвищення технічної ефективності на 20,0–22,3 %, є концентрації відповідно, 80 тис. і 60 тис. нематод на рослину. У результаті ефективність боротьби з личинками колорадського жука становить до 80 %. На підставі результатів випробувань до застосування у виробничих умовах рекомендується

спосіб боротьби з личинками колорадського жука молодших вікових груп за допомогою ентомопатогенних нематод у суміші Немабакту і Ентонему-Г з розрахунку 80 тис. особин першого виду і 60 тис. другого виду, в 20 мл води на 1 рослину шляхом обприскування кущів картоплі у вечірні години. В процесі застосування нематодних препаратів на картоплі відзначали їх високу ефективність проти картопляної совки.

Капустяні мухи – весняна і літня – посідають особливе місце серед шкідників капусти і редиски. Випробування Немабакту на капусті з урахуванням технології вирощування культури й особливостей біології капустяних мух проведені в Ленінградській, Сахалінській областях; республіках Комі, Карелії – шляхом внесення препарату в ґрунт з поливною водою одночасно з висадкою розсади в ґрунт. На підставі отриманих результатів випробувань встановлено, що чисельність пупаріїв мух знижується значно за норм витрати 125–250 тис. нематод на рослину. Так, наприклад, за даними польових випробувань у Республіці Комі загибель рослин становила в контролі 46,6 %, у варіанті з внесенням 125 тис. нематод на рослину – 23,3 %, у варіанті з 250 тис. – 3 %. Урожайність качанів капусти становила відповідно 41 т/га, 56–69 т/га, 75–80 т/га. Випробування Немабакту проти весняної капустяної мухи на редисці проведені в АСХО "Шушари" Ленінградської області у двох нормах витрати 125 і 250 тис. особин в розрахунку на 1 м². Ефективність застосування нематод оцінювали в період збирання редиски за кількістю і якістю отриманого врожаю. Технічну ефективність (72,2 %) встановлено за умов внесення 125 тис. інвазійних личинок із розрахунку на 1 м². Відпрацьована також і нова технологія застосування Немабакта, шляхом внесення водної суспензії нематод у нормі витрати 125 тис. Особин під рослину в касети з розсадою капусти перед висадкою їх у відкритий ґрунт, при цьому ефективність препарату зберігається на рівні хімічних препаратів. Таким чином, на підставі результатів виробничих випробувань Немабакт рекомендують до застосування проти капустяних мух на капусті й редисці шляхом внесення нематод у нормі витрати 125–250 тис. інвазійних личинок на 1 м² з поливною водою, або шляхом внесення препарату під рослини в касети з розсадою капусти перед висадкою їх у відкритий ґрунт.

Випробування ентомопатогенних нематод проти саранових представляють значний практичний інтерес, і особливо, у зв'язку з небезпекою застосування пестицидів у місцях резервації шкідників. Найбільш сприятливі умови для зараження саранових нематодами

створюються в період, коли личинки молодших віків приступають до активного харчування і тримаються скупчено в місцях виходу із зимівлі. З урахуванням цих біологічних особливостей вивчали можливість зараження в лабораторних і польових умовах личинок молодших віків сарани нематодами *Steinernema carpocapsae* штам "agriotos". У лабораторних дослідах личинок 2 і 3 вікових груп азійської сарани (*Locusta migratoria*) і білосмугастої кобилки (*Chorthippus albamarginatus*) заражали в чашках Петрі з кормом при температурі 18–24 °С. Для азійської сарани випробувані дози нематод 30, 60 і 150 інвазійних личинок на 6 комах. Повторність досліду – п'ятиразова. Через дві доби загибель комах становила відповідно 50, 63 і 96 %. Під час експерименту з білосмугастою кобилкою досліджували дози нематод 25, 50 і 100 інвазійних личинок на 10 комах з п'ятикратною повторністю. Загибель личинок сарани при температурі 18–20 °С тривала протягом трьох днів і становила відповідно 48, 61 і 96 %. Результати лабораторних дослідів дозволили зробити висновок про високий ступінь сприйнятливості личинок саранових до нематод. У червні 1989 р. було закладено польовий дослід в умовах Якутської АРСР (Алас Луку радгоспу Дюпсюнський Усть-Алданського району). У марлеві садки розміром 30 × 30 × 70 см, установлені на зростаючу траву, підсаджувалися личинки білосмугастої кобилки 2 і 3-го віку. Увечері (після 22 годин) на поверхню трави всередину кошів були внесені нематоди у вигляді водної суспензії шляхом обприскування рослин із застосуванням ручного обприскувача "Дізенфаль". Один садок з 30 личинками приймався за повторність. Усі варіанти досліду і контролю закладали в чотирихкратній повторності. Випробовували дві дози нематод 100 і 250 тис. особин на 1 м². Температура повітря коливалася в нічні години від 3 °С, до 18 °С в денний час. Технічна ефективність нематод проти личинок сарани становила 32,3 і 36,0 %. В іншому досліді в тих саме умовах Усть-Алданського району Якутії було проведено польовий дослід, у якому водною суспензією нематод *Steinernema carpocapsae* штам "agriotos" у вечірні години обробляли трав'яний покрив з личинками сарани II і III-го віку, що живилися. Дослід містив три ділянки по 12 м² кожна і контрольні ділянки, де обробку рослин проводили водою без нематод. На восьму добу технічна ефективність застосування нематод становила 55 %. Результати проведених випробувань дозволяють зробити висновок про можливість використання ентомопатогенних нематод як біологічних агентів проти

личинок II–III-го віку шляхом обробки рослин у місцях скупчення сарани водною суспензією *Steinernema carpocapsae* штам "agriotos" у вечірні години з розрахунку 500 тис. інвазійних личинок на 1 м² (тобто вміст одного пакета на 100 м²).

Обліпихова муха належить до групи шкідників, традиційні засоби захисту проти якої малоефективні через прихований спосіб життя шкідливої стадії. У зв'язку з високою шкідливістю цього виду, коли в окремі роки знищується до 90 % врожаю, а в середньому 60–75 %, виникає гостра необхідність пошуку нових більш досконалих засобів боротьби, серед яких особливе місце можуть зайняти ентомопатогенні нематоди. У НЗПЯС ім. Мічуріна (Новосибірська обл.) було проведено випробування *S. feltiae* SRP18-91 проти обліпихової мухи на виробничих посадках обліпихи у зв'язку з високим відсотком (85–95 %) пошкодження плодів у попередні роки. Найбільш доступною для нематод стадією розвитку в цього виду є діапаузуючі лялечки, що зимують у несправжніх коконах у ґрунті на глибині 10 см. Випробування нематод проведено шляхом обробки поверхні ґрунту водною суспензією нематод з розрахунку 250 тис. і 500 тис. інвазійних личинок на 1 м² пристовбурних кіл дерев за два тижні до очікуваного вильоту покоління, що перезимувало (кінець травня). Витрата води – 10 л під одне дерево. У контролі поверхню ґрунту оброблено водою без нематод. Ефективність оцінювали за чисельністю імаго в досліді і контролі за допомогою фотоеклекторів. Кожен варіант дослідів проводили з триразовою повторністю. Для спостереження за динамікою вильоту обліпихової мухи на дослідній ділянці застосовували жовті клейові пастки. У дослідних варіантах комахи вилітали одиничними екземплярами без певної закономірності. Ефективності нематод у випробовуваних нормах витрати істотно не розрізнялися, проте за умов меншої дози (250 тис. нематод) відзначався виліт окремих особин комах на більш тривалий період. Крім того, було встановлено, що личинки мухи, котрі йдуть на заляльковування в ґрунт, у другій половині літа також уражувалися нематодами. На дослідних ділянках заляльковувалися всього 2 % личинок. Результати випробувань свідчать про високу технічну ефективність *S. feltiae* SRP18-91 на обліписі проти обліпихової мухи за умови внесення водної суспензії інвазійних личинок на поверхню ґрунту під рослини перед вильотом імаго після зимівлі з розрахунку 250 тис. особин нематод/10 л води/1 м² пристовбурного кола дерев обліпихи.

У декоративному виробництві до найбільш небезпечних комах –

шкідників можуть бути віднесені довгоносики і, особливо, борозенчастий скосар. Нині не існує ефективних заходів боротьби з цим шкідником на декоративних культурах. Найбільш шкідлива в цього шкідника личинкова фаза розвитку, проти якої і розробляють способи боротьби із застосуванням ентомопатогенних нематод. За результатами порівняльної оцінки різних видів нематод як перспективного проти борознистого скосаря відібрано вид нематод препарату Немабакт. Експериментальні дані з вивчення можливості застосування ентомопатогенних нематод проти довгоносиків на декоративних культурах послужили основою для розробки технології захисту квіткових культур від пошкоджень довгоносики, яку застосовує протягом останніх 10 років у відділенні ПЦПО "Квіти". Тільки в 1988 р. від пошкоджень довгоносиком збережено було більше 90 % рослин азалії. До застосування нематод у 1986–1987 рр. втрати рослин від цього шкідника досягали 40–50 %. Отже, за допомогою біологічного агента фірма отримала додатково 30 % рослин азалії. На підставі багаторічних виробничих випробувань Немабакт рекомендовано до застосування в захищеному ґрунті проти личинок довгоносиків (у період із серпня до листопада), шляхом внесення нематод з поливною водою у квіткові горщики з розрахунку 10 тис. особин на один горщик.

Західний квітковий трипс один з найбільш шкідливих видів трипсів, що ушкоджують тепличні культури. Німфальні стадії шкідника, як і у багатьох видів трипсів, в основному, розвиваються в ґрунті, і є постійним джерелом відновлення популяції через недоступність їх для традиційних засобів захисту рослин. З огляду на складності хімічного захисту надземної частини рослин троянди від личинок і імаго трипса, особливої актуальності набувають способи боротьби, що дозволяють знижувати чисельність німфальних стадій у ґрунті. У зв'язку з цим особливий інтерес можуть представляти ентомопатогенні нематоди. Результати трирічних лабораторних і виробничих випробувань свідчать, що навіть одноразовим, але щорічним внесенням Ентонему-Ф в ґрунт теплиць досягається більше зниження чисельності західного квіткового трипса зі зменшенням пошкоджених бутонів і кількості хімічних обробок (від 2 до 4 і більше).

Випробування Ентонему-Ф проти тютюнового трипса проведено у виробничих застелених теплицях АТЗТ "Літо" (СПб.) площею 10 000 м² на рослинах огірка. Нематод було внесено на поверхню

грунту під рослини у вигляді водної суспензії з розрахунку 1 і 2 млрд інвазійних личинок в 300 л води на 1 га. Ефективність препарату оцінювали за допомогою приманочних рослин. У результаті проведених випробувань було отримано високу (до 100 %) технічну ефективність біопрепарату проти стадій розвитку тютюнового трипса, пов'язаних з ґрунтом. Таким чином, отримані матеріали дозволяють рекомендувати застосування ентомопатогенних нематод у боротьбі із західним квітковим трипсом у закритому ґрунті шляхом одноразового внесення на поверхню ґрунту 10 млрд інвазійних личинок нематод і проти тютюнового трипса 2 млрд особин нематод у 300 л води в період появи одиничних імаго шкідника на рослинах.

Вирощування перцю і зеленних культур (петрушка, салат, кріп) у тепличних господарствах здійснюється за технологією, яка виключає застосування пестицидів. За відсутності хімічного пресингу на овочевих культурах зросла шкідливість цвіркунів. Біологічні засоби боротьби з цим шкідником до сих пір не розробляли. Цвіркуні ведуть потаємний спосіб життя. Більший час доби вони живуть під грудочками ґрунту і конструкціями теплиць, які мають контакт з поверхнею ґрунту. Умови проживання цвіркунів створюють сприятливі передумови для ефективного використання проти них ентомопатогенних нематод. Виробничі випробування нематод Ентонем-Ф проти цвіркунів на овочевих культурах проведені на базі АТЗТ "Літо" (СПб.) На площі 10 000 м² у двох нормах витрати – 1 і 2 млрд інвазійних личинок на 1 га у 300 л води. Нематоди внесені у вигляді їх водної суспензії на поверхні ґрунту під рослини і конструкції шляхом обприскування в період появи шкідника. Біологічна ефективність застосування нематод на четверту добу, відповідно, становила 74,0 % і 77,9 %, у наступні терміни обліку (33 доба) – 95 і 100 %. За результатами випробувань нематоди Ентонем-Ф рекомендуються до застосування в захищеному ґрунті проти цвіркунів у нормі витрати 2 млрд інвазійних личинок у 300 л води на 1 га шляхом внесення водної суспензії нематод на поверхню ґрунту в період прояву шкідливості шкідника.

Грибні комарикі – найбільш економічно значущі шкідники печериць у їх промисловому культивуванні. Личинки сциарід, харчуючись міцелієм і плодовими тілами грибів, знижують урожайність і якість готової продукції. Найбільший інтерес у боротьбі зі сциарідами представляють ентомопатогенні нематоди і зокрема, препарат Ентонем-Ф. У виробничих умовах в АТЗТ "Літо" нематоди

випробувані шляхом внесення на поверхню покривного ґрунту у вигляді водної суспензії інвазійних личинок у період росту міцелію грибів. Найбільшу прибавку врожаю плодівих тіл грибів отримано з нормою витрати 2 млн інвазійних личинок із розрахунку на 1 м², а з нормою витрати нематод 1 млн урожайність дещо знижувалася. На підставі результатів випробувань Ентонем-Е може бути рекомендовано до застосування як засіб захисту печериць від грибних комариків з нормою витрати 1 млн інвазійних личинок на 1 м² поверхні ґрунту шляхом поверхневого обприскування покривного ґрунту водною суспензією нематод у період початку росту міцелію грибів.

9.5. Препарати на основі біологічно активних речовин

Із біологічно активних речовин, продукованих мікроорганізмами, у практиці найбільш широко застосовуються антибіотики, проте ведеться пошук антибіотиків немедичного призначення для застосування в захисті рослин. Неабиякий інтерес становить також можливість одержання на основі мікробіологічного синтезу біологічно активних речовин, що діють як антрактанти, репелленти й антифіданти.

На сьогодні найбільшого поширення набули препарати, діючою речовиною яких є комплекс природних авермектинів, що продукуються непатогенним ґрунтовим променистим грибом – *Streptomyces avermitilis* (рис. 9.33) – це природні високоспецифічні нейротоксини, які проникають в організм комах кишковим або контактним шляхом і необоротно вражають їх нервову систему.

Фітоверм (Аверсектин). Спектр пестицидної дії – інсектоакарицид кишково-контактної дії. Препаративна форма – 0,2 % к.е. Біопрепарат четвертого покоління, активною основою якого є продукти життєдіяльності комплексу ґрунтових мікроорганізмів. За умов використання більше 6 мл/л у робочому розчині на розсаді овочевих культур здатний проявляти фітотоксичність різного характеру. Препарат не спричиняє шкіряно-резорбтивних та алергічних реакцій. Пестицидна дія проявляється через три-шість годин при температурі повітря 25–35 °С і через вісім-десять годин при 18–25 °С. Препарат починає діяти в разі потрапляння в кишечник шкідників, а також у разі тактильного контакту комах з отруйною речовиною. Результат такого впливу проявляється у паралічі з подальшим летальним кінцем для кліщів, білокрилок, колорадського жука, довгоносиків, трипсів, плодожерок, молей і тощо. Через деякий час (від 6 до 15 годин, залежно від виду комах) після того,

як було проведено обприскування, комахи припиняють живитися на рослинах. Після закінчення трьох днів комахи починають гинути. Найвищого ефекту можна очікувати через тиждень. Якщо сприяють погодні умови, то препарат може діяти до 20 днів. Фітоверм у закритому ґрунті застосовується в період вегетації рослин проти комплексу сисних шкідників шляхом обприскування рослин. Для обробки овочевих культур рекомендується 0,1%-ний розчин препарату. Ураховуючи ті обставини, що контактна дія фітоверма незначна, з метою підвищення ефективності контактної дії рекомендується до робочого розчину додавати ПАР-0,01% твіна або 0,05% КМЦ.

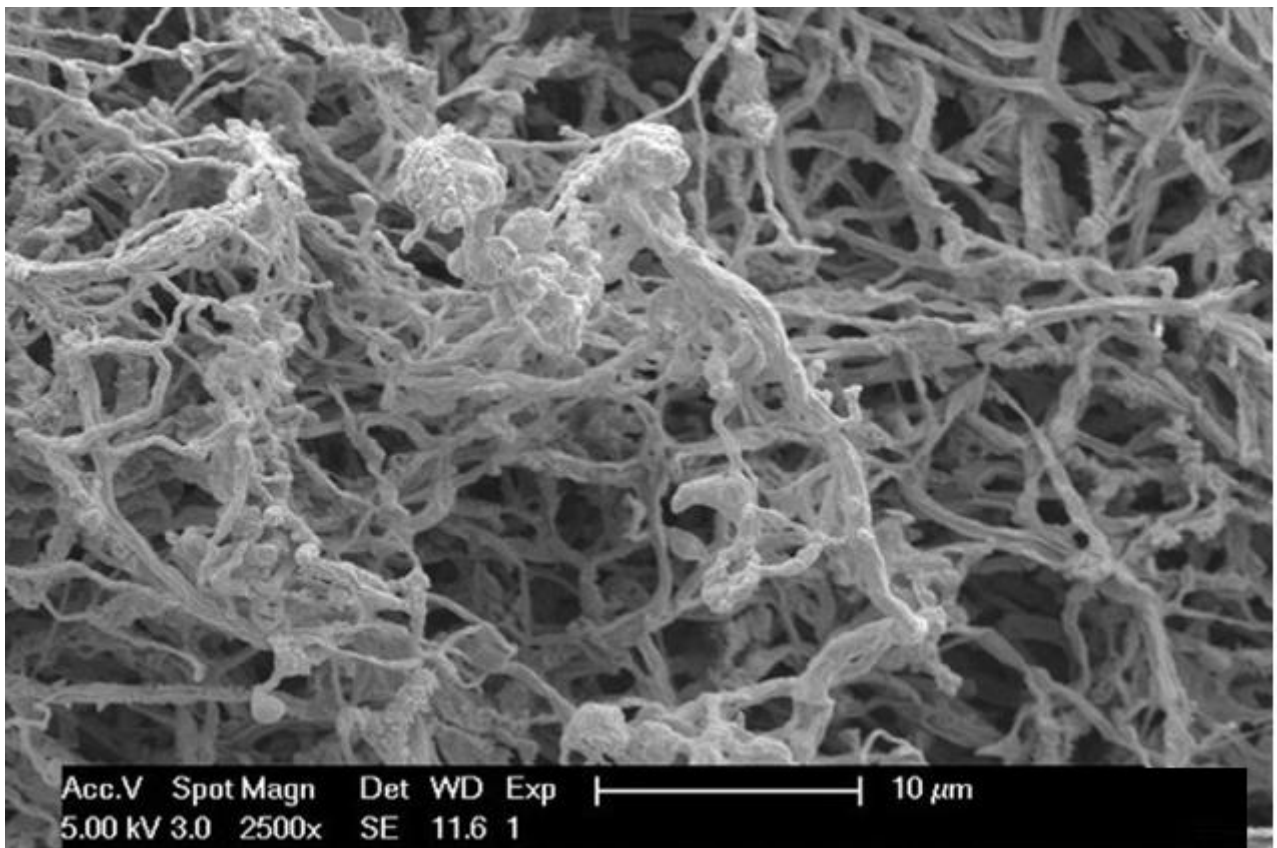


Рис. 9.35. *Streptomyces avermitilis*

Актофіт (Аверсектин-С) – 0,2%-ний концентрат емульсії. Високоспецифічний природний нейротоксин. Потрапляючи контактним або кишковим шляхом в організм шкідника, він уражує нервову систему і веде до загибелі комахи. Обробляти рослини Актофітом потрібно в ясну суху погоду. Якщо погода передвіщає дощ, обприскування краще відкласти. Для обприскування можна використовувати будь-який тип обприскувача. Гризучі шкідники перестають пересуватися і харчуватися через 4–8 годин після обприскування, а сисні – через 8–16 год. Обробку бажано проводити

при температурі від 18 °С. Останню обробку потрібно проводити за дві доби до початку збору врожаю. Випадання роси чи опади значно знижують дію препарату, так само, як і обробка при температурі нижче 18 °С. Обробляючи рослини при температурі понад 28 °С, витрату препарату можна скоротити на 25 %. За умов частої обробки рослин Актофітом ефективність впливу препарату на шкідників не знижується, тому що препарат не викликає у них резистентності. Якщо додати в розчин Актофіту поверхнево активні речовини, то на відкритому ґрунті ефективність препарату буде значно вище. Рекомендовано до застосування як інсектоакарицид на виноградниках – 2,0 л/га, ягідних та плодових кльотутрах – 1,5–2,0 л/га, картоплі – 0,3–0,4 л/га, овочевих і декоративних культурах у закритому ґрунті – 2,0 л/га.

Контрольні запитання до розділу 9

1. Назвіть класифікацію та препаративні форми біологічних препаратів для боротьби з камахами-фітофагами.
2. Які Ви знаєте грибні препарати для боротьби з комахами-фітофагами?
3. Які Вам відомі Бактеріальні препарати для боротьби з комахами-фітофагами?
4. Які Ви знаєте вірусні препарати для боротьби з комахами-фітофагами?
5. Назвіть нематодні препарати для боротьби з комахами-фітофагами.
6. Назвіть відомі Вам препарати на основі біологічно активних речовин для боротьби з комахами-фітофагами.

10. ОЦІНКА ЯКОСТІ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ

Однією з умов ефективного застосування мікробіологічного методу регулювання чисельності шкідливих організмів є контроль якості препаратів.

На ранніх етапах розвитку біометоду процент загибелі тест-організмів був єдиним показником активності патогенних мікроорганізмів. Але цей показник значною мірою залежить від багатьох чинників. Навіть у разі створення в лабораторії стандартних умов фізичний стан хазяїна в кожному випадку істотно впливає на кінцевий результат взаємовідносин між ним і патогенним мікроорганізмом. Об'єктивніші дані щодо його активності можна одержати, порівнюючи біопрепарати зі стандартом. У зв'язку зі специфічністю біопрепаратів, для кожної їх групи створюються окремі стандарти. Наприклад, нині в деяких країнах стандартом для препаратів на основі бактерії *Bacillus thuringiensis* прийнято препарат Е-61, що зберігається в Парижі. Прийнято вважати активність 1 мг цього препарату за 1000 МО/мг (міжнародних одиниць/мг).

В основі мікробіологічних тестів оцінки біопрепаратів лежать різні методи, що описані в практичних рекомендаціях.

Визначення титру біопрепаратів

Відбір проб. Проби порошкоподібних препаратів із заводських упаковок вагою 15–20 кг відбирають щупом, місткістю не більше 100 г, занурюючи його на всю глибину тари, або совком після ретельного перемішування в закритому мішку. Рідкі форми препаратів, перед тим як узяти проби, ретельно перемішують, не залишаючи осаду. З пастоподібних препаратів беруть проби залежно від їх концентрації. Під час дослідження менше 40 тарних одиниць проби беруть з чотирьох-п'яти, при 40–70 – з п'яти-семи, більше 70 – з 5 % упаковок. Проби однієї партії препарату об'єднують у загальну пробу масою не більше 500 г. Якщо в оцінюваній партії є пошкоджені місткості, зразки з них об'єднують в одну загальну пробу.

Під час аналізу грибних препаратів, одержуваних у лабораторних умовах, проби беруть із 3–5 % загальної їх кількості. Вага загальної проби – 70–100 г.

Визначення вологості препаратів. Для визначення вологості для аналізу беруть сухі та пастоподібні препарати. Для цього скляні чи металеві бюкси заввишки 4–5 см і діаметром 4,5–5,0 см висушують до постійної ваги в сушильній шафі при температурі 100–105 °С, зважуючи з похибкою не більше 0,001 г через кожну годину. Висушені

бюкси можна зберігати в ексикаторі над прожареним хлористим калієм чи сірчаною кислотою. У бюкси кладуть наважки препаратів масою 5 г, зважені з похибкою не більше 0,001 г, і висушують у сушильній шафі при такій самій температурі до постійної маси. Вважається, що постійної маси досягнуто, якщо різниця між останніми двома зважуваннями не перевищуватиме 0,005 г. Визначають це в трьох повтореннях. Уміст вологи визначають за формулою:

$$X = \frac{100 \times (M_0 - M_1)}{100 - M_2},$$

де M_0 – маса бюкси з наважкою до висушування;

M_1 – маса бюкси з наважкою після висушування;

M_2 – маса наважки до висушування.

В Україні якість мікробіологічних препаратів характеризують їх титром та біологічною активністю.

Титр біопрепарату – це кількість бактерій, життєздатних спор, поліедрів, гранул в 1 мл або 1 г препарату.

Титр препаратів перший раз визначають під час виробництва кожної партії і повторно – після закінчення гарантійного строку зберігання. Якщо титр зменшився у 1,5–3,0 разу порівняно з початковим, то визначають біологічну активність препаратів.

Титр бактеріальних препаратів визначають переведенням сухого порошку в суспензію. Для цього середню пробу препарату (1 г) зважують з точністю 0,001 г, вміщують у колбу мікроподрібнювача РТ-2 і наливають 50 мл 0,5 %-ного водного розчину жовчі ВРХ. Суміш перемішують дві хвилини з частотою обертання 3000 об/хв. і доводять її об'єм до 100 мл. Концентрація препарату в ній становитиме 0,01 г/мл (1×10^2). Потім у штативі розмішують 8–10 пробірок з 9 мл стерильної води та піпетками. Стерильною піпеткою переносять 1 мл суспензії з колби мікроподрібнювача у першу пробірку, уміст перемішують другою стерильною піпеткою і з її допомогою переносять 1 мл суспензії в наступну пробірку. Послідовними розведеннями доводять концентрацію спор до 10^{-8} в 1 мл (паралельно готують дві такі серії розведення). Далі в кожній серії готують три-п'ять стерильних чашок Петрі для кожного розведення і засів на стерильне живильне середовище, наприклад, м'ясо-пептонний агар чи ін.

Для засіву беруть 1 мл суспензії такого розведення, щоб забезпечити ріст не більше 300 і не менше 50 колоній в одній чашці Петрі. Під час засіву стерильною піпеткою переносять по 1 мл суспензії на середину п'яти стерильних чашок Петрі з двох паралельних розведень.

Наливають охоложене розплавлене живильне середовище і ретельно перемішують його з суспензією, роблячи чашками кругові рухи на поверхні стола. Після затвердіння середовища чашки ставлять у термостат в перевернутому стані на добу при температурі 28–30 °С. Потім підраховують колонії бактерій, що проросли. Титр визначають за формулою:

$$X = \frac{N_{c.a.}}{K},$$

де $N_{c.a.}$ – середньоарифметична кількість колоній з двох серій паралельних розведень;

K – розведення.

Титр грибних препаратів – це кількість спор гриба, що містяться в 1 мл суспензії чи в 1 г сухого порошку. Під час визначення ефективності застосування грибного препарату важливо стежити за тим, щоб титр його робочої суспензії відповідав тому, що рекомендується. Особливо важливо контролювати титр препарату під час його виготовлення дрібними партіями в умовах виробничих біолабораторій.

Визначення титру препарату, приготовленого на пивному суслі. Для змивання конідій з міцелію в пляшку із сусликом кілька разів наливають по 100–150 мл води, скляною паличкою проводять по поверхні середовища, суспензію зливають у колбу, фільтрують через два шари марлі і доводять водою до 1 л, що відповідає розведенню в 1000 разів. У разі великого спороношення отриману суспензію розбавляють ще в 10 і 100 разів, для чого в мірні колби беруть піпеткою по 1 мл добре перемішаної суспензії і доводять водою до обсягу 10 і відповідно 100 мл.

Титр грибних препаратів визначають методом підрахунку спор під мікроскопом у камері Горяєва (рис. 10.1).

Облікова камера Горяєва являє собою товсте предметне скло з прямокутним заглибленням у центрі загальною площею 9 мм². На дні заглиблення є сітка, яка має 225 великих квадратів (15 рядів по 15 квадратів). Площа одного великого квадрата становить 1/25 (0,04) мм². Частина великих квадратів (через два на третій) розділена на 16 малих квадратів. Сторона малого квадрата дорівнює 1/20 (0,05) мм, площа такого квадрата становить 1/400 (0,0025) мм². Глибина камери 0,1 мм, об'єм камери 0,9 мм³ (рис. 10.2).

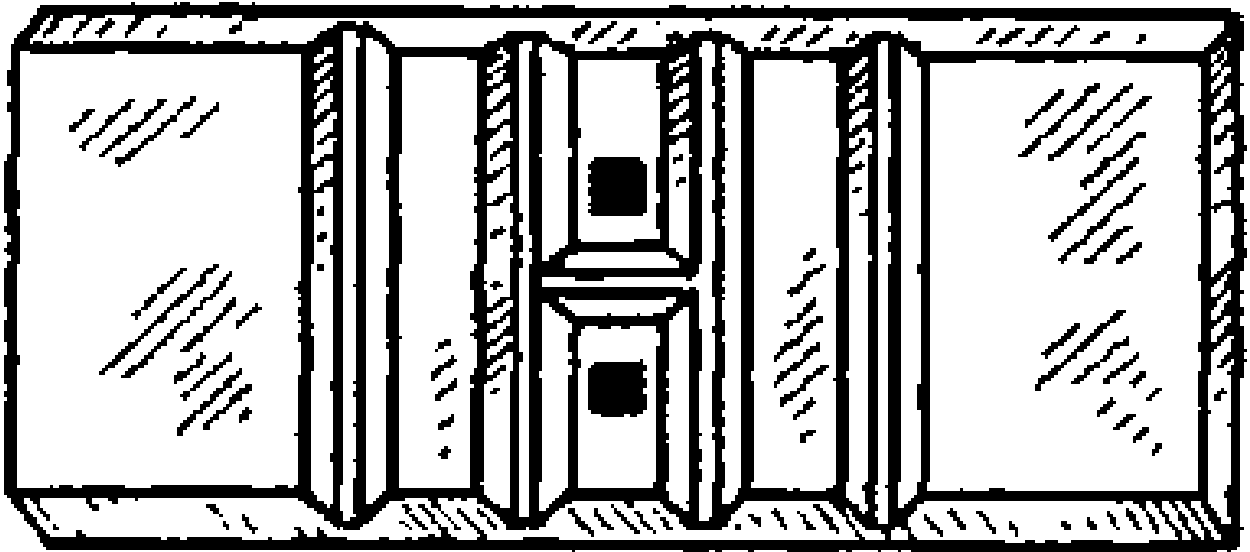


Рис. 10.1. Камера Горяєва

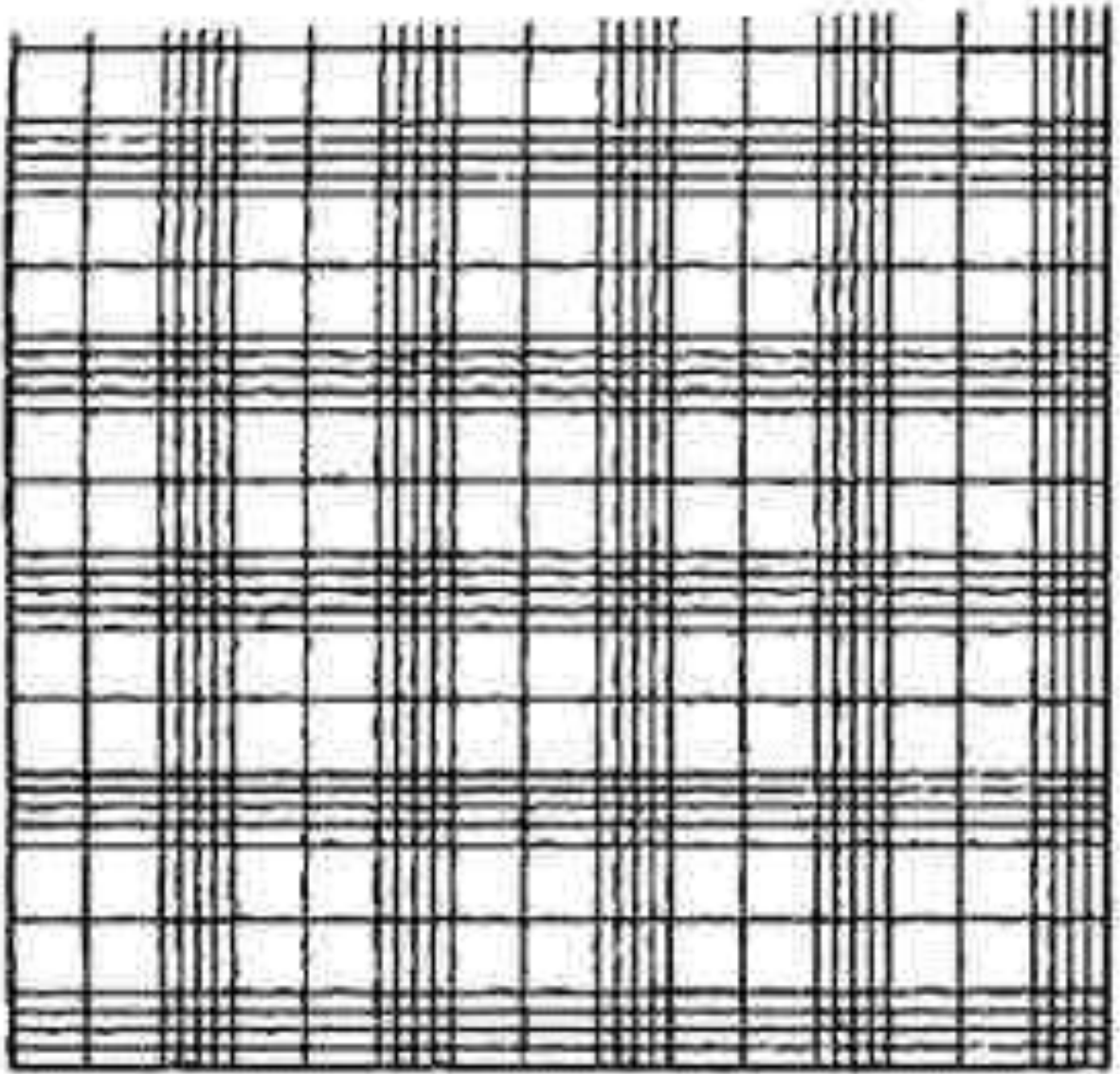


Рис. 10.2. Сітка камери Горяєва

Уміст досліджуваної суспензії ще раз струшують, скляною паличкою по краплі наносять на два квадрати камери Горяєва. Камера має шліфоване накривне скельце. Його слід накласти так, щоб воно накрило обидві бічні і середню пластинки. Натискаючи великими пальцями на краї скельця, його притирають до бічних пластинок до появи райдужних кілець (кільця Ньютона). Надлишки рідини видаляють фільтрувальним папером. Після заповнення камеру потрібно покласти на стіл на дві-три хвилини, поки рух рідини в ній не припиниться і конідії не розташуються нерухомо на тлі квадратів сітки. За умови заповнення камери рідина не повинна стікати в борозни. Неприпустимо потрапляння в камеру бульбашок повітря.

Камеру поміщають на предметний столик мікроскопа і при окулярі $10\times$ і об'єктиві $10\times$ знаходять середній ряд квадратів сітки, переводять об'єктив на збільшення $40\times$ і підраховують кількість спор. Підрахунок проводять у десятиох великих квадратах камери, розташованих у середньому ряді сітки, пропустивши при цьому два перших і два останніх квадрати. Якщо кількість спор у великому квадраті перевищує 50, для аналізу беруть суспензію з більшим розведенням, а якщо її немає, розбавляють у 10 разів останній варіант розведеної суспензії.

Обчисливши середнє арифметичне число конідій в одному великому квадраті, підставляють його у формулу для визначення титру (T) маточної культури:

$$T = 250000 \times n \times p,$$

де n – середнє арифметичне число конідій у великому квадраті;

p – розведення (10; 100 і т. д.).

Визначення титру препарату, виготовленого на зерні. Уміст пляшки (банки) зважують (з точністю до 1 г) і витрушують на скляну лійку, поміщену в склянку і покриту двома шарами марлі. Струменем води змивають спори і міцелій із зерен, які розтирають пальцями. Зібрану в склянці суспензію доводять до 1 л. Подальше визначення титру проводять так само, як і в попередньому випадку. Отриманий результат ділять на масу препарату в одній банці і визначають титр, тобто кількість спор в 1 г препарату.

Перед застосуванням грибних препаратів (ашерсонії, вертициліну боверину, триходерміну та ін.) визначають титр робочої рідини, тобто кількість конідій гриба в одиниці об'єму. Для цього певну кількість біоматеріалу поміщають на два шари марлі та ретельно змивають спорову масу водою. Одержану кількість суспензії біоматеріалу

переносять у більшу ємність і доводять об'єм суспензії до 1 л (10 л). З одержаної маточної суспензії готують у пробірках серію розведень 1 : 10, 1 : 100 і т.д. доки за внесення краплі суспензії на сітку камери Горяєва у великому квадраті буде не більше 25 спор гриба.

Потім краплю суспензії наносять на дві сітки камери Горяєва, притискають накривним скельцем, ретельно притирають. Через п'ять хвилин підраховують спори у 20–30 великих квадратах середнього ряду камери. Конідії краще підраховувати при окулярі 10–15[×] та об'єктиві 20–40[×] з опущеним конденсором. Титр цієї суспензії визначають за формулою:

$$T = \frac{N \times 250000}{M},$$

де T – титр суспензії;

N – сума спор у всіх облікових квадратах;

M – кількість проаналізованих квадратів;

250 000 – коефіцієнт камери Горяєва.

Для отримання суспензії із заданим титром (T) визначають коефіцієнт розведення початкової суспензії (Y) з відомим титром (T) водою. Розрахунки здійснюють за формулою:

$$Y = \frac{T_1 + T_2 + T_3 + \dots + T_n}{N \times T_{p.c.}},$$

де Y – коефіцієнт розведення;

$T_1 + T_2 + T_3 + \dots + T_n$ – титри суспензій, визначених відповідно в першій, другій, третій і наступних партіях біоматеріалу;

n – кількість партій;

$T_{p.c.}$ – титр робочої суспензії.

Наприклад, початковий титр суспензії в кожній з аналізованих партій становив 170, 190, 150 млн спор, необхідний титр робочої суспензії повинен бути 10 млн спор, тоді $Y = (170 + 190 + 150) : 3 \times 10 = 17$.

Титр вірусних препаратів визначають також методом підрахунку поліедрів чи гранул під мікроскопом у камері Горяєва.

Розведення 1 г препарату готують так само, як і при визначенні титру грибних препаратів.

Краплю суспензії препарату розташовують у центрі камери, накривають накривним скельцем і притирають його до появи райдужних кілець. Підрахунки білкових включень (гранул чи поліедрів), а також визначення титру проводять за методикою, наведеною для грибних препаратів.

Визначення біологічної активності інсектицидних біопрепаратів

Визначення життєздатності спор у грибних інсектицидних препаратах. Зберігання мікробіологічних препаратів обмежене конкретними строками й умовами, передбаченими Державним стандартом чи відповідними Технічними умовами. Це стосується в першу чергу грибних препаратів. Тому незадовго до їх застосування доцільно перевірити життєздатність спор гриба.

Для визначення життєздатності спор гриба *Beauveria bassiana* у боверині беруть 1 г змочуваного порошку боверину і розводять у 1000 мл стерильної води. Щоб уникнути утворення грудочок, воду спочатку додають невеликими порціями, ретельно перемішуючи скляною паличкою, а потім колбу ставлять на качалку і перемішують 20 хв.

Отриману суспензію послідовно розводять 10^{-9} . Для цього в поставлені у штатив шість пробірок, забезпечуючи при цьому і в подальшому стерильність (стерильні пробірки, ватні пробки, градуйовані піпетки, вода; усі операції виконують над полум'ям спиртівки тощо), наливають по 9 мл води і по 1 мл суспензії. У першу пробірку беруть з колби 1 мл суспензії, після ретельного перемішування з першої пробірки переносять 1 мл суспензії в другу і тощо.

Паралельно готують живильне середовище для гриба. 200 г очищеної картоплі нарізають кубиками по 1,5 см, варять 15–20 хв. від початку кипіння, фільтрують, додають 20 г сахарози, агар (з розрахунку 18 г на 1 л середовища), нагрівають до розчинення останнього і після стерилізації розливають у чашки Петрі. Стерилізацію проводять в автоклаві протягом 20–30 хв. із тиском 760 мм рт. ст. Якщо автоклава немає, середовище кип'ятять у колбі, закритій ватно-марлевою пробкою протягом години.

Середовище розливають у чашки Петрі, стерилізовані над полум'ям пальника, по 15–20 мл у кожна. Через 30 хв. стерилізованою мірною піпеткою з відпиляним кінчиком носика переносять у чашки Петрі із середовищем по 1 мл суспензії з пробірок із трьома останніми розведеннями (у 10, 100 млн і 1 млрд разів). Чашку погойдують, щоб суспензія рівномірно розподілилася по поверхні живильного середовища. Чашки загортають у папір і ставлять у термостат для проростання спор при температурі 24–26 °С. Перегляд чашок починають через дві-три доби і закінчують на п'яту добу, щоб переконатися, що колонії, що з'явилися, належать до *Beauveria bassiana*, а не до сторонньої мікрофлори. Вони стають білими, пухнастими. При перегляді препарату під мікроскопом видно, що

конідієносці розташовані переважно кільчасто, розширені біля основи і закінчуються до вершини у вигляді тонкого зигзагоподібного волокна, а спори кулястої форми.

Підрахувавши кількість колоній гриба, що виростили в чашках Петрі, визначають титр аналізованого препарату. Якщо в чашках з останнім ступенем розведення (1 млрд) виростило дві колонії, а з передостаннього розведення (100 млн) – 20, то препарат відповідає стандарту – 2 млрд життєздатних спор у 1 г порошку. У разі меншої кількості колоній у чашках з відповідним розведенням визначають, у якому ступені спори втратили свою життєздатність. Якщо немає колоній у чашках з усіма трьома розведеннями, можна взяти на аналіз суспензію з трьох перших пробірок (розведення в 10, 100 тис. і 1 млн).

Оцінюючи якість мікробіологічних препаратів, важливо з'ясувати їх біологічну активність щодо тест-організмів. Біологічна активність – показник, що відображає загибель комах унаслідок впливу на них певних доз препарату.

Біологічну активність визначають у тих партіях препарату, які зберігалися більше року і мають знижений титр (допускається його зниження до 10 млн спор/г). Із цією метою навесні відірвані листки рослин, якими живляться фітофаги певного виду, розміщують в один шар на площі 1 м² і на них наносять з пульверизатора 50 мл 0,5 %-ної суспензії досліджуваного біопрепарату, що відповідає виробничій витраті робочої суспензії 500 л/га. Для порівняння досліджують партію препарату, виготовлену в цьому році. Паралельно інші листки обприскують звичайною водою (контроль). Оброблені листки з комахами, які ними живляться, після підсихання вміщують у пастки. Листки замінюють в міру підсихання. Загибель комах обліковують через 5, 10 і 15 діб. Висновки роблять на підставі десятиденних результатів.

Біологічну активність препаратів виражають у процентах загибелі комах – тест-об'єктів за формулою Аббота, що враховує загибель піддослідних особин у контролі:

$$X = \frac{M_0 - M_k}{100 - M_k} \times 100,$$

де M_0 – процент загибелі особин у досліді в результаті зараження їх біопрепаратом (середньоарифметичне);

M_k – процент загибелі в контролі (середньоарифметичне).

У практиці часто біологічну активність біопрепаратів виражають у ЛК₅₀ (летальна концентрація). Це середня концентрація суспензії чи

розчину препарату, що спричиняє загибель 50 % тест-організмів у результаті внесення в корм. ЛК найчастіше визначають методом пробітів. У характеристиках препаратів, застосовуваних для регулювання чисельності шкідливих комах, указують величину коефіцієнта біологічної активності (K), що є відношенням ЛК₅₀ стандартного препарату (с. п.), тобто – препарату з певною ЛК₅₀, що використовується для порівняння, до ЛК₅₀ дослідної партії препарату:

$$K = \frac{\text{ЛК}_{50 \text{ с. п.}}}{\text{ЛК}_{50 \text{ д. п.}}}$$

Точнішу оцінку біологічної активності дає ЛД₅₀ (летальна доза). Для її визначення тест-організми заражують дозовано за допомогою мікроін'єктора серією відомих концентрацій біопрепаратів. Заражувати, залежно від поставленого завдання, можна через рот або ін'єкціями. Для розрахунку ЛД₅₀ можна користуватися також методом пробітів.

Ще одним важливим показником біологічної активності біопрепаратів є показник ЛТ₅₀ (летальна тривалість періоду), що відображає тривалість періоду, протягом якого в результаті зараженні певними дозами патогенних організмів гине 50 % особин. Уявлення про тривалість загибелі тест-організмів можна одержати, визначивши перелічені вище показники.

Біологічну активність препаратів визначають з використанням тих чи інших тест-організмів, що можуть бути шкідливими, проти яких передбачається застосування мікробіологічного методу боротьби, або інших сприйнятливих до досліджуваного препарату організмів. Коло організмів, що можуть бути використаними для з'ясування активності препаратів, визначається спектром його дії. Для отримання порівнюваних результатів у визначенні показників активності препарату використовують, як правило, рекомендовані тест-організми. Крім того, залежно від форми препарату і його титру методи визначення біологічної активності мають свої особливості.

Визначення активності біопрепарату в лабораторних умовах. Для дослідження використовують один, а ще краще два-три бактеріальні препарати, що випускаються мікробіологічною промисловістю. Ефективність препарату визначають у лабораторних і польових умовах. Це завдання можна ускладнити, взявши для оцінки препарати з різним терміном чи умовами зберігання або різні препаративні форми препарату.

Для порівняльної оцінки ефективності випробовуваних препаратів визначають ЛК₅₀, тобто концентрацію препарату, що викликає 50%-ну смертність піддослідних комах. Як тест-об'єкт

використовують гусениць капустиного білана, капустяної молі або листогризучих гусениць плодкових чи ягідних культур, яких достатньо на ділянках, де в подальшому можна буде провести випробовування препарату в польових умовах. При цьому підбирають гусениць одного віку.

Для оцінки готують серію концентрацій препарату, за більш високих значень яких забезпечується 100%-на смертність комах, наприклад, 5; 3; 1; 0,5; 0,1; 0,01 і 0,001 % по препарату. На кружечок лист кової пластинки площею 1 см² наносять по 0,01 мл суспензії різних концентрацій препарату. Кружечок з однією гусеницею поміщають у чашку Петрі або пробірку для індивідуального утримання. Повторність досліду – трикратна.

У міру підсихання корм для комах змінюють на свіжий, але без додаткової обробки біопрепаратом. У міру загибелі гусениць вибірково проводять мікробіологічний аналіз у досліді і в контролі, з метою встановлення причин загибелі, зокрема і від наявності латентної інфекції інших патогенних мікроорганізмів – вірусів, мікроспорицій тощо. Через п'ять-шість днів після обробки дослід закінчують і визначають середній процент загибелі комах (*C*) для кожної концентрації препарату з поправкою на смертність у контролі за формулою:

$$C = \frac{A-B}{100-B} \times 100,$$

де *A* – кількість загиблих гусениць у досліді;

B – кількість загиблих гусениць у контролі.

Отримані показники обробляють за допомогою пробіт-аналізу для визначення ЛК₅₀.

Визначення ефективності препаратів у польових умовах. У цьому досліді кількість варіантів залежить від кількості досліджуваних препаратів чи його препаративних форм, але в схему досліду обов'язково вводять контроль (обприскування водою) та еталон. Як еталон беруть хімічний препарат, що рекомендується для цієї культури і шкідника з відповідною нормою витрати. Суспензію бактеріального препарату готують не раніше ніж за дві години до початку обробки. Обприскування проводять рано-вранці або увечері теплої і сухої погоди після переходу гусениць шкідника до відкритого живлення. Облік чисельності гусениць проводять через 3, 5, 10 і 15 діб після обробки за методикою, рекомендованою для певної культури (кількість живих комах на 1 м² чи на одну рослину, на 0,5 м гілки тощо).

Відсоток смертності комах (C) визначають з поправкою на контроль і на міграцію шкідника з моменту обліку до і після обприскування рослин за формулою:

$$C = 100 \times \left(1 - \frac{K_1 \times O_2}{K_2 \times O_1}\right),$$

де K_1 і K_2 – щільність шкідника на контролі відповідно до і після обприскування рослин препаратом;

O_1 і O_2 – те саме на досліді.

Після закінчення роботи проводять аналіз ефективності препаратів чи їх препаративних форм.

Визначаючи біологічну ефективність мікробіологічних препаратів, треба мати на увазі, що показник біологічної ефективності не відображає повної ефективності препарату відносно певного шкідника. Ентомопатогенні мікроорганізми, які є основою біопрепаратів, стають частиною біоценозу та вступають у взаємозв'язки з іншими біотичними і абіотичними чинниками. Від цих взаємодій і залежить повна ефективність біопрепаратів. Є чимало даних, що свідчать про наявність декількох біологічних ефектів від застосування мікробних препаратів: антифідантний, метатоксичний, репродуктивний, тератогенний, псевдогормональний, овіцидний та ін. Так, у бітоксубациліну за умов його застосування проти колорадського жука виявляється метатоксичний ефект, який зростає із збільшенням норми витрати препарату. Так, з нормою витрати БТБ 3,0 кг/га загибель інфікованих личинок у фазі лялечки становить 40 %, а при 5–6 кг/га вона досягає 60 %. На 70 % знижується плодючість самок колорадського жука в наступному поколінні. Спостерігаються тератогенні зміни в різних фазах розвитку комах після застосування БТБ та вірусних препаратів.

У визначенні ефективності біопрепаратів найбільш показовою оцінкою є захисний ефект, що являє собою ступінь зберігання вирощуваної культури та врожаю. Захисний ефект вважається достатнім, якщо втрати врожаю не перевищують допустимі (3–5 %). Величина допустимих втрат обумовлюється відновлюючими можливостями рослин на популяційному та біоценотичному рівнях. Установлено, що допустимим порогом пошкодження яблуні є втрата 25 % листя, пошкодження до 25 % листя капусти у фазі зав'язування головки не знижує врожаю за умови високої агротехніки. На картоплі в разі пошкодження колорадським жуком 15 % листової поверхні кущів у фазі бутонізації спостерігається відчутне зниження врожаю.

Тому для захисту врожаю картоплі від цього шкідника треба досягти зберігання 85 % її листкової поверхні. Ця величина і характеризує захисний ефект, який необхідно забезпечити біопрепаратами.

Антифідантний ефект, що спостерігається в непарного шовкопряда під впливом бактеріальних препаратів, зберігається в дочірніх поколіннях заражених гусениць і перебуває у прямій залежності від норми витрати біопрепарату.

Післядія біопрепаратів характеризується загибеллю лялечок (%) та чисельністю неповноцінних особин у популяції шкідника.

Таким чином, мікробіологічні препарати характеризуються різноманітним впливом на популяції шкідників, що є підставою для розгляду їх як регулювального чинника в динаміці чисельності виду.

Дія мікробіологічних препаратів на ентомофагів визначається у ті ж строки, що й на фітофагів, на оброблених біопрепаратами полях за відповідними методиками.

Визначення якості препаратів на основі *Salmonella enteritidis*

Бактерії *Salmonella enteritidis* належать до родини Enterobacteriaceae. Це облигатні патогени. Вони паличкоподібної форми, не фарбуються за Грамом, аероби, джгутики розташовані перитрихіально, тобто по всій поверхні бактеріальної клітини. Спор цей вид бактерій не утворює.

Найбільш поширеним і широкодоступним методом виявлення бактерій *Salmonella enteritidis* у препараті бактороденцид є мікроскопія фарбованих мазків, приготовлених із досліджуваного матеріалу. Для цього спочатку готують на предметному склі мазок, висушують його, фіксують і фарбують.

Виготовлення мазка. Мазки готують на абсолютно чистому, ретельно знежиреному предметному склі. Знежирення скла проводять 96%-ним етиловим спиртом. За допомогою препарувальної голки беруть одну зернівку вологого зернового бактороденциду і на скло наносять легкий мазок (у товстому мазку бактерії будуть у вигляді щільного шару, що не дасть можливості роздивитись їх морфологію). Мазок висушують у струмені теплого повітря.

Фіксація мазка. Фіксація мазка з бактеріями має на меті:

- а) убити бактерії;
- б) закріпити мікроби на склі, щоб їх не змили під час фарбування і промивання водою;
- в) покращити сприйнятливість барвника.

Найпростішим методом фіксації бактерій є фіксація в полум'ї

пальника. Для цього предметне скло беруть великим і вказівним пальцями руки за подовжні ребра і проводять його три-чотири рази через верхню частину полум'я пальника.

Фарбування мазка. Механізм фарбування мікробів розглядають як складний фізико-хімічний процес взаємодії барвника з умістом бактеріальної клітини. Для фарбування бактерій *Salmonella enteritidis* використовують розчин метиленової синьки (синька Лефлера). Зафіксований препарат поміщають мазком угору на скляний місточок над ванночкою. На поверхню мазка наносять краплю синьки. Барвник утримують на мазку три-п'ять хвилин. Потім барвник з мазка зливають, препарат промивають водою, висушують у струмені повітря або обережно промокають фільтрувальним папером.

Перегляд бактерій. На висушений зафарбований мазок наносять краплю імерсійної олії, розміщують препарат на предметний столик мікроскопа і переглядають через імерсійний об'єктив (90[×]).

Чистоту бактороденциду перевіряють шляхом висіву зерен на МПА і МПБ. Через добу при температурі 37 °С на поверхні МПА навколо кожного зерна виростають характерні безбарвні колонії бактерій. М'ясо-пептонний бульйон через добу рівномірно каламутніє. Для визначення інших властивостей бактерій їх висівають із МПБ на середовища кольорового ряду.

Визначення титру. Кількість життєздатних бактерій у препараті (титр) визначають чашковим методом.

За умов невеликого виробництва (до 30 банок у партії) для контролю береться дві-три банки, а за масового виробництва – 3–5 % від загальної кількості банок.

З відібраних для контролю посудин беруть стерильно по пробі препарату в чашки Петрі, з кожної чашки беруть одну-три наважки по 1 г, кожену наважку поміщають в окрему стерильну ступку. Заздалегідь готують колби ємністю 250 мл зі 105 мл стерильної питної води і з грубо-зернистим річковим піском (по 10 г у кожній колбі). Пісок попередньо просівають через сито з отворами 1,5–2,0 мм, промивають водопровідною водою і прожарюють при температурі 162 °С протягом двох годин.

До наважки зерна в 1 г, поміщеної в ступку діаметром 5–7 см, додають 3–5 мл стерильної води з колби з піском, і зерно ретельно розтирають товкачиком. Після цього наважку препарату з водою виливають зі ступки назад у колбу з піском і водою; водою з колби два-три рази промивають ступку. Після промивання ступки воду виливають у

колби з піском і закривають стерильною гумовою пробкою. (Для кожної наважки (1 г) використовують окрему колбу з піском і ступку з товкачиком).

Колби з наважками проб витримують у кімнатній температурі протягом 10–20 хв., потім колбу струшують на вібраційному апараті чи ручним способом упродовж 10 хв. і далі проводять послідовні розведення суспензії бактерій у пробірках з 9 мл стерильної водопровідної води, для цього з колби беруть 1 мл суспензії і виливають у першу пробірку, одержуючи розведення 10^3 (1 : 1000), з першої пробірки в другу і далі до сьомої пробірки, тобто до розведення 10^9 (1 : 1 млрд). Для кожної пробірки використовують окрему стерильну піпетку ємністю 1 мл. З останніх трьох розведень беруть по 1 мл у кожну стерильну чашку Петрі і заливають охолодженим до 40–42° МПА. Для рівномірного розподілу засівного матеріалу чашки злегка погойдують на склі в одній площині. Чашки поміщають у термостат при температурі 37 °С. Через одну-дві доби підраховують колонії в кожному розведенні і знаходять середнє арифметичне з трьох останніх чашок (кількість бактерій у 1 г препарату). Титр препарату не менше 2 млрд бактерій у 1 г вважається стандартним.

Вірулентність препарату визначають за кількістю загиблих гризунів після згодовування по 1–2 г препарату кожному пацюку і по 0,1–0,2 г кожній миші чи полівці.

Облік виробництва препарату бактерій оформляють у спеціальній книзі, де записують номер серії, дату виготовлення, найменування штаму бактерій, назву живильного середовища, кількість виготовленого препарату, дані контролю чистоти і титру, підпис особи, що робила аналіз препарату. Аналогічні дані повинні бути і на етикетках, які наклеюють на тару з препаратом.

Контрольні запитання до розділу 10

1. Що означає поняття «титр біопрепарату»?
2. Як проводять визначення титру біопрепаратів?
3. Опишіть методику визначення біологічної активності інсектицидних біопрепаратів.
4. Як відбувається визначення якості препаратів на основі *Salmonella enteritidis*?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ ПЕРЕВІРКИ ЗНАНЬ

1. Як називаються захворювання комах, викликані грибами:

- а) мікози;
- б) бактеріози;
- в) вірози;
- г) протозоозози?

2. Як називаються захворювання комах, викликані вірусами:

- а) мікози;
- б) бактеріози;
- в) вірози;
- г) протозоозози?

3. Як називаються захворювання комах, викликані найпростішими:

- а) мікози;
- б) бактеріози;
- в) вірози;
- г) протозоозози?

4. Як називаються захворювання комах, викликані бактеріями:

- а) мікози;
- б) бактеріози;
- в) вірози;
- г) протозоозози?

5. Як називаються захворювання комах, викликані нематодами:

- а) мікози;
- б) нематодози;
- в) вірози;
- г) протозоозози?

6. Зменшення об'єму тканини або органа в результаті загального або місцевого порушення живлення організму – це:

- а) ентрапія;
- б) атрофія;
- в) алергія;
- г) гіперплазія.

7. Вид антагоністичних відносин організмів, пов'язаний з виділенням одними з них речовин, що придушують або гальмують розвиток інших, – це:

- а) протозооноз;
- б) метеопрогноз;
- в) симбіоз;
- г) антибіоз.

8. Реакція тест-об'єкта у відповідь на дію препарату виражену в одиницях активності, – це:

- а) екологічна активність препарату;
- б) технічна активність препарату;
- в) біологічна активність препарату;
- г) економічна активність препарату.

9. Препарат, у якому діючою (активною) речовиною (компонентом) є мікроорганізм або продукт його діяльності, – це:

- а) біопрепарат;
- б) інсектицид;
- в) акарицид;
- г) альгіцид.

10. Яку назву мають вірусні інсектицидні препарати:

- а) метаризин;
- б) вірин;
- в) ампеломіцин;
- г) актофіт?

11. Ступінь хвороботворності (патогенності) певних мікроорганізмів або вірусів – це:

- а) толерантність;
- б) ефективність;
- в) активність;
- г) вірулентність?

12. Неклітинні форми життя, здатні проникати в окремі живі клітини і розмножуватися тільки всередині них, – це:

- а) бактерії;
- б) віруси;
- в) рикетсії;
- г) грегарії?

13. Передача інфекції особинам однієї генерації через корм, екскременти тощо – це:

- а) горизонтальна передача інфекції;
- б) вертикальна передача інфекції;
- в) діагональна передача інфекції;
- г) летальна передача інфекції.

14. Вірусна хвороба комах, що характеризується утворенням у клітинах тканин особливих включень – гранул, – це:

- а) кокомікоз;
- б) поліедроз;
- в) гранульоз;
- г) трахеомікоз.

15. Як називаються токсичні розчинні речовини, що продукуються деякими бактеріями під час їхнього активного росту в субстраті або під час утворення бактеріями спор:

- а) екзотоксини;
- б) ендотоксини;
- в) кайрамони;
- г) хемостериланти?

16. Як називаються токсичні речовини, що утворюються в клітинах мікроорганізмів, виділяються в довкілля після загибелі і руйнування мікробної клітини:

- а) екзотоксини;
- б) ендотоксини;
- в) кайрамони;
- г) хемостериланти?

17. Мікроорганізми, що спричиняють захворювання комах називаються:

- а) антропогенні;
- б) техногенні;
- в) ентомопатогенні;
- г) фітопатогенні.

18. Масовий розвиток інфекційної хвороби в популяції тварин, зокрема комах, кліщів і гризунів, що призводить їх до загибелі, – це:

- а) епізоотія;
- б) епіфітотія;
- в) панфітотія;
- г) пандемія.

19. Наука про причини хвороб називається:

- а) фітопатологія;
- б) ембріологія;
- в) епіфітотіологія;
- г) етіологія.

20. Наука, яка вивчає поведінку живих організмів називається:

- а) антропологія;
- б) етологія;
- в) епіфітотіологія;
- г) етіологія.

21. Проникнення паразита в тіло хазяїна – це:

- а) селекція;
- б) інтродукція;
- в) інвазія;
- г) телетокія.

22. Культура мікроорганізму, вирощена з однієї спори або з однієї клітини, що забезпечує генетично чистий матеріал, називається:

- а) безспорова;
- б) гетероспорова;
- в) поліспорова;
- г) моноспорова.

23. Грибні хвороби комах, за яких уражені комахи муміфікуються і покриваються щільним нальотом з конідієносців із конідіями білого, рожевого або зеленого кольору, мають загальну назву:

- а) ентомофтороз;
- б) мускардина;
- в) гранульоз;
- г) поліедроз.

24. Організм, який слугує середовищем мешкання паразита, при цьому в нього не проявляються зовнішні ознаки хвороби, – це:

- а) паразит;
- б) хазяїн;
- в) носій патогена;
- г) господар.

25. Масове захворювання тварин, яке охоплює декілька країн або континентів, – це:

- а) панзоотія;
- б) епіфітотія;
- в) епізоотія;
- г) пандемія.

26. Як називається організм, здатний спричиняти захворювання іншого організму:

- а) актофіт;
- б) паразит;
- в) геоксен;
- г) патоген.

27. Механізм виникнення й розвитку хвороби та окремих її проявів на різних рівнях – від молекулярних порушень до змін в органах і системах називається:

- а) панспермія;
- б) септицемія;
- в) патогенез;
- г) інвазія.

28. Здатність мікроорганізмів викликати захворювання, може змінюватися залежно від фенофази, стану організму, екологічних умов називається:

- а) патогенність;
- б) резистентність;
- в) персистентність;
- г) вірулентність.

29. Відносна чи абсолютна стійкість одного організму до проникнення і розвитку в ньому іншого організму – це:

- а) патогенність;
- б) резистентність;
- в) персистентність;
- г) вірулентність.

30. Як називається стійкість організму до впливу різних чинників, зокрема хімічних і біологічних:

- а) патогенність;
- б) резистентність;
- в) персистентність;
- г) вірулентність.

31. Вірусне захворювання комах, яке характеризується утворенням у клітинах живителя білкових включень у вигляді поліедрів, називається:

- а) поліедроз;
- б) гранульоз;
- в) фітофтороз;
- г) ентомофтороз.

32. Як називається бактеріальне інфекційне захворювання, за якого бактерії активно розмножуються в гемолімфі комах:

- а) інтродукція;
- б) інвазія;
- в) телетокія;
- г) септицемія?

33. Реакція організму на вплив патогена, яка має морфологічні відхилення, а також відхилення у поведінці і функціях, називається:

- а) патогенність;
- б) резистентність;
- в) персистентність;
- г) симптоми хвороби.

34. Кількість одиниць активної основи (спор, клітин тощо) в одному грамі (мілілітрі) препарату – це:

- а) консистенція препарату;
- б) препаративна форма препарату;
- в) титр препарату;
- г) діюча речовина препарату.

35. Речовини мікробного, рослинного або тваринного походження, які здатні пригнічувати фізіологічні функції живих організмів, спричиняючи їхні захворювання або загибель, називаються:

- а) токсини;
- б) гормони;
- в) феромони;
- г) аломони.

36. Як називається витривалість виду до дії чинників середовища (погодні та інші умови, шкідливі організми):

- а) патогенність;
- б) толерантність;
- в) персистентність;
- г) вірулентність?

37. Передача патогенних мікроорганізмів від одного покоління до наступного на зовнішній поверхні яєць має назву:

- а) аномальної;
- б) трансовальної;
- в) трансоваріальної;
- г) феноменальної.

38. Передача патогенних мікроорганізмів від матері потомству ще в той час, коли це потомство перебуває у вигляді яєць у яєчниках, має назву:

- а) аномальної;
- б) трансовальної;
- в) трансоваріальної;
- г) феноменальної.

39. Висновок про сутність хвороби організму, зроблений на підставі різних методів вивчення хворого організму, – це:

- а) діагноз;
- б) анамнез;
- в) синтез;
- г) анабіоз.

40. Збудником мускардинозу щитівок і білокрилок є:

- а) *Cordyceps militaris*;
- б) *Entomophthora aphidis*;
- в) *Entomophthora sphaerosperma*;
- г) *Cephalosporium (Verticillium) lecani*.

41. Збудником рожевого мускардинозу є:

- а) *Cordyceps militaris*;
- б) *Paecilomyces farinosus*;
- в) *Entomophthora sphaerosperma*;
- г) *Cephalosporium (Verticillium) lecani*.

42. Збудником білого мускардинозу є:

- а) *Cordyceps militaris*;
- б) *Paecilomyces farinosus*;
- в) *Beauveria bassiana*;
- г) *Cephalosporium (Verticillium) lecani*.

43. Збудником зеленого мускардинозу є:

- а) *Cordyceps militaris*;
- б) *Paecilomyces farinosus*;
- в) *Entomophthora sphaerosperma*;
- г) *Metarrhizium anisoplia*.

44. Гриби якого роду є паразитами білокрилок і щитівок:

- а) *Cordyceps*;
- б) *Aschersonia*;
- в) *Entomophthora*;
- г) *Metarrhizium*.

45. Бактеріоз кільчатого шовкопряда викликає:

- а) *Cordyceps militaris*;
- б) *Paecilomyces farinosus*;
- в) *Entomophthora sphaerosperma*;
- г) *Clostridium malacosomae*.

46. Токсин, що продукується бактерією *Bacillus thuringiensis*, називається:

- а) Вt-токсин;
- б) Вc-токсин;
- в) Вk-токсин;
- г) Вg-токсин.

47. Збудником молочної хвороби комах є:

- а) *Cordyceps militaris*;
- б) *Bacillus popilliae*;
- в) *Entomophthora sphaerosperma*;
- г) *Metarrhizium anisoplia*.

48. Збудником клостридіозів комах є:

- а) *Cordyceps militaris*;
- б) *Clostridium brevifaciens*;
- в) *Entomophthora sphaerosperma*;
- г) *Metarrhizium anisoplia*.

49. Ентомофтороз дротяників викликає:

- а) *Entomophthora sphaerosperma*;
- б) *Entomophthora thaxteriana*;
- в) *Entomophthora aphidis*;
- г) *Entomophthora sphaerosperma*.

50. Ентомофтороз павутинних кліщів викликає:

- а) *Entomophthora sphaerosperma*;
- б) *Entomophthora thaxteriana*;
- в) *Entomophthora aphidis*;
- г) *Entomophthora sphaerosperma*.

51. Ентомофтороз попелиць викликає:

- а) *Entomoyhtora sphaerosperma*;
- б) *Entomoyhtora thaxteriana*;
- в) *Entomophthora aphidis*;
- г) *Entomophthora sphaerosperma*.

52. Ентомофтороз яблуневої листоблішки викликає:

- а) *Entomoyhtora sphaerosperma*;
- б) *Entomoyhtora thaxteriana*;
- в) *Entomophthora aphidis*;
- г) *Entomophthora sphaerosperma*.

53. Яка бактерія у симбіозі із нематодами роду *Neoaplectana* (*Steinernema*) викликає септицемію у комах:

- а) *Pseudomonas cornea*;
- б) *Bacillus popilliae*;
- в) *Bacillus thuringiensis*;
- г) *Serratia marcescens*.

54. Червоний бактеріоз комах викликає:

- а) *Pseudomonas cornea*;
- б) *Bacillus popilliae*;
- в) *Bacillus thuringiensis*;
- г) *Serratia marcescens*.

55. Бактеріоз личинок японського жука викликає:

- а) *Pseudomonas cornea*;
- б) *Bacillus popilliae*;
- в) *Bacillus thuringiensis*;
- г) *Serratia marcescens*.

56. Ядерний поліедроз тутового шовкопряда викликає:

- а) *Baculovirus (Granulovirus) carpocapsa*;
- б) *Baculovirus (Granulovirus) choristoneura*;
- в) *Baculovirus (Polyhedrovirus) reprimens*;
- г) *Baculovirus bombycis*.

57. Ядерний поліедроз непарного шовкопряда викликає:

- а) *Baculovirus (Granulovirus) carpocapsa*;
- б) *Baculovirus (Granulovirus) choristoneura*;
- в) *Baculovirus (Polyhedrovirus) reprimens*;
- г) *Baculovirus bombycis*.

58. Гранульоз яблуневої плодожерки викликає:

- а) *Baculovirus (Granulovirus) carpocapsa*;
- б) *Baculovirus (Granulovirus) choristoneura*;
- в) *Baculovirus (Polyhedrovirus) reprimens*;
- г) *Baculovirus bombycis*.

59. Гранульоз ялинкової хвоєкрутки викликає:

- а) *Baculovirus (Granulovirus) carpocapsa*;
- б) *Baculovirus (Granulovirus) choristoneura*;
- в) *Baculovirus (Polyhedrovirus) reprimens*;
- г) *Baculovirus bombycis*.

60. Віспу травневого хруща викликає:

- а) *Densonucleosisvirus galleria*;
- б) *Entomopoxvirus melolontha*;
- в) *Reovirus bombycis*;
- г) *Insectoreovirus brassicae*.

61. Дензонуклеоз вощинної молі викликає:

- а) *Densonucleosisvirus galleria*;
- б) *Entomopoxvirus melolontha*;
- в) *Reovirus bombycis*;
- г) *Insectoreovirus brassicae*.

62. Цитоплазматичний поліедроз тутового шовкопряда викликає:

- а) *Densonucleosisvirus galleria*;
- б) *Entomopoxvirus melolontha*;
- в) *Reovirus bombycis*;
- г) *Insectoreovirus brassicae*.

63. Цитоплазматичний поліедроз капустяної совки викликає:

- а) *Enterovirus apis*;
- б) *Entomorphovirus melolontha*;
- в) *Reovirus bombycis*;
- г) *Insectoreovirus brassicae*.

64. Гострий параліч медоносної бджоли викликає:

- а) *Densonucleosisvirus galleria*;
- б) *Enterovirus apis*;
- в) *Reovirus bombycis*;
- г) *Insectoreovirus brassicae*.

65. Паразитом хлібної жужелиці із найпростіших є:

- а) *Leldyana ephestia*;
- б) *Gregarina vizri*;
- в) *Mattegi dispora*;
- г) *Adelina tribolli*.

66. Паразитом гусениць млинової вогнівки із найпростіших є:

- а) *Leldyana ephestia*;
- б) *Gregarina vizri*;
- в) *Mattegi dispora*;
- г) *Adelina tribolli*.

67. Паразитом метеликів млинової вогнівки із найпростіших є:

- а) *Leldyana ephestia*;
- б) *Gregarina vizri*;
- в) *Mattegi dispora*;
- г) *Adelina tribolli*.

68. Паразитом борошністого і булавовусого малих хрущаків із найпростіших є:

- а) *Leldyana ephestia*;
- б) *Gregarina vizri*;
- в) *Mattegi dispora*;
- г) *Adelina tribolli*.

69. Нозему тутового шовкопряда викликає:

- а) *Nosema apis*;
- б) *Gregarina vizri*;
- в) *Mattegi dispora*;
- г) *Nosema bombycis*.

70. Нозематоз медоносної бджоли викликає:

- а) *Nosema apis*;
- б) *Gregarina vizri*;
- в) *Mattegi dispora*;
- г) *Nosema bombycis*.

71. Який вид нематоди викликає загибель личинок японського жука, стеблоїого метелика та бавовникової совки:

- а) *Neoaplectana glaseri*;
- б) *Steinernema (Neoaplectana) feltiae*;
- в) *Steinernema (Neoaplectana) carpocapsae*;
- г) *Pristionchus imiformis*?

72. Який вид нематоди викликає загибель озимої совки:

- а) *Neoaplectana glaseri*;
- б) *Steinernema (Neoaplectana) feltiae*;
- в) *Steinernema (Neoaplectana) carpocapsae*;
- г) *Pristionchus imiformis*?

73. Який вид нематоди викликає загибель яблуневої плодожерки:

- а) *Neoaplectana glaseri*;
- б) *Steinernema (Neoaplectana) feltiae*;
- в) *Steinernema (Neoaplectana) carpocapsae*;
- г) *Pristionchus imiformis*?

74. Який вид нематоди викликає загибель колорадського жука:

- а) *Neoaplectana glaseri*;
- б) *Steinernema (Neoaplectana) feltiae*;
- в) *Steinernema (Neoaplectana) carpocapsae*;
- г) *Pristionchus imiformis*?

75. Який вид нематоди викликає загибель хвилястої блішки:

- а) *Howardula phyllotretae*;
- б) *Steinernema (Neoaplectana) feltiae*;
- в) *Hexameris albicans*;
- г) *Pristionchus imiformis*?

76. Який вид нематоди викликає загибель непарного шовкопряда:

- а) *Howardula phyllotretae*;
- б) *Steinernema (Neoaplectana) feltiae*;
- в) *Hexameris albicans*;
- г) *Pristionchus imiformis*?

77. Який вид нематоди викликає загибель перелітної сарани:

- а) *Howardula phyllotretae*;
- б) *Mermis longissima*;
- в) *Hexameris albicans*;
- г) *Pristionchus imiformis*?

78. Який вид нематоди викликає загибель східного травневого хруща:

- а) *Howardula phyllotretae*;
- б) *Mermis longissima*;
- в) *Psammotermis korsakovi*;
- г) *Pristionchus imiformis*?

79. Який біопрепарат виготовляють на основі нематоди *Steinernema (Neoaplectana) carpocapsae*:

- а) Немабакт;
- б) Метаризин;
- в) Актофіт;
- г) Ентонем-Ф?

80. Який біопрепарат виготовляють на основі нематоди *Steinernema feltiae*:

- а) Немабакт;
- б) Метаризин;
- в) Актофіт;
- г) Ентонем-Ф?

81. Який біопрепарат виготовляють на основі променевого

гриба *Streptomyces avermitilis*:

- а) Немабакт;
- б) Метаризин;
- в) Актофіт;
- г) Ентонем-Ф?

82. Який вірусний препарат застосовується проти рудого соснового пильщика:

- а) Вірін-БС;
- б) Вірін-ДШ;
- в) Вірін-Діпріон;
- г) Вірін-ЗСП?

83. Який вірусний препарат застосовується проти капустяної совки:

- а) Вірін-ЕКС;
- б) Вірін-БС;
- в) Вірін-ОС;
- г) Вірін-КШ?

84. Який вірусний препарат застосовується проти яблуневої плодожерки:

- а) Вірін-ГЯП;
- б) Вірін-АБМ;
- в) Вірін-КД;
- г) Вірін-МВ?

85. Який вірусний препарат застосовується проти смородинового та агрусового п'ядунів:

- а) Вірін-КШ;
- б) Вірін-ДШ;
- в) Вірін-КД;
- г) Вірін-МВ?

86. Який біопрепарат створений на основі *Bacillus thuringiensis*:

- а) Фітоверм;
- б) Метаризин;
- в) Децимід;
- г) Ентонем-Ф?

87. Який біопрепарат створений не на основі *Bacillus*

***thuringiensis*:**

- а) Лепідоцид;
- б) Інсектин;
- в) Гомелін;
- г) Фітоспорин?

88. Який біопрепарат створений на основі гриба *Beauveria bassiana*:

- а) Піріформін;
- б) Метаризинин;
- в) Мікоафідін;
- г) Боверин?

89. Який біопрепарат створений на основі гриба *Entomophthora thaxteriana*:

- а) Мікоафідін;
- б) Піріформін;
- в) Мікотал;
- г) Боверин?

90. Який біопрепарат створений на основі гриба *Entomophthora pyriformis*:

- а) Мікоафідін;
- б) Піріформін;
- в) Мікотал;
- г) Верталек?

91. Який біопрепарат створений на основі гриба *Metarrhizium anisopliae*:

- а) Мікоафідін;
- б) Піріформін;
- в) Мікотал;
- г) Метаризин?

92. Який біопрепарат створений на основі гриба *Verticillium lecanii*:

- а) Мікоафідін;
- б) Піріформін;
- в) Мікотал;
- г) Мікотал?

93. Який біопрепарат створений на основі гриба *Coniothyrium piriolum*:

- а) Конітріум;
- б) Піріформін;
- в) Мікотал;
- г) Мікотал?

94. Діюча речовина препарату Фітоверм:

- а) Панкреатин;
- б) Авермектин;
- в) Аквадетрим;
- г) Піретрин.

95. До якої родини належить гриб *Aschersonia placenta*:

- а) Nectrioidaceae;
- б) Genistellaceae;
- в) Tuberculariaceae;
- г) Melanconiaceae?

96. До якої родини належить гриб *Verticillium lecanii*:

- а) Nectrioidaceae;
- б) Genistellaceae;
- в) Tuberculariaceae;
- г) Moniliaceae?

97. До якої родини належить гриб *Beauveria bassiana*:

- а) Nectrioidaceae;
- б) Genistellaceae;
- в) Tuberculariaceae;
- г) Moniliaceae?

98. До якої родини належить гриб *Metarrhizium anisopliae*:

- а) Melanconiaceae;
- б) Genistellaceae;
- в) Tuberculariaceae;
- г) Moniliaceae?

99. До якої родини належить гриб *Entomophthora pyriformis*:

- а) Melanconiaceae;
- б) Entomophthoraceae;
- в) Tuberculariaceae;
- г) Moniliaceae?

100. До якої родини належить гриб *Aspergillus flavus*:

- а) Melanconiaceae;
- б) Entomophthoraceae;
- в) Tuberculariaceae;
- г) Moniliaceae?

Відповіді до тестових завдань

Питання	Відповідь	Питання	Відповідь	Питання	Відповідь	Питання	Відповідь	Питання	Відповідь
1	а	21	в	41	б	61	а	81	в
2	в	22	г	42	в	62	в	82	в
3	г	23	б	43	г	63	г	83	а
4	б	24	в	44	б	64	б	84	а
5	б	25	а	45	г	65	б	85	в
6	б	26	г	46	а	66	а	86	в
7	г	27	в	47	б	67	в	87	г
8	в	28	а	48	б	68	г	88	г
9	а	29	в	49	а	69	г	89	а
10	б	30	б	50	б	70	а	90	б
11	г	31	а	51	в	71	а	91	г
12	б	32	г	52	г	72	б	92	г
13	а	33	г	53	а	73	в	93	а
14	в	34	в	54	г	74	г	94	б
15	а	35	а	55	б	75	а	95	а
16	б	36	б	56	г	76	в	96	г
17	в	37	б	57	в	77	б	97	г
18	а	38	в	58	а	78	в	98	г
19	г	39	а	59	б	79	а	99	б
20	б	40	г	60	б	80	г	100	г

ТЕРМІНОЛОГІЧНИЙ СЛОВНИК

Абіотичні чинники – сукупність умов зовнішнього неорганічного середовища (неживої природи), що впливають на живі організми, зокрема на рослини та їхні хвороби (тепло, вода, повітря, сонячне світло, нестача елементів живлення та ін.).

Авермектини – продукти життєдіяльності актиноміцету *Streptomyces avermitilis*, які проявляють інсектицидну, акарицидну і нематоцидну активність.

Агент біологічного захисту рослин – природний ворог, антагоніст, конкурент чи інший самовідтворювальний організм, який застосовують для захисту рослин від шкідливих організмів.

Агробіоценоз (агроценоз) – штучно створене людиною угруповання організмів (рослин і тварин) для одержання сільськогосподарської продукції, що підтримується регулярним застосуванням агротехнічних та інших заходів технології вирощування певного виду культурної рослини. А. характеризується нездатністю до тривалого самостійного існування, меншою кількістю живих організмів.

Агротехнічні заходи захисту рослин – застосування рекомендованих, оптимізованих щодо фітосанітарного стану заходів, які зменшують прояв хвороб; використання сівозміни, способів і строків сівби, глибини загортання насіння тощо з метою знищення інфекційного початку і стримування розвитку хвороб.

Акарифаг – організм, що живиться кліщами.

Акліматизація – комплекс заходів для внесення якого-небудь виду в нові для нього місця мешкання, що проводиться з метою збагачення біоценозів корисними для людини організмами. У біологічному захисті рослин акліматизація полягає у розселенні за межами первинного ареалу інтродукованого виду.

Алелопатія – властивість рослин виділяти біологічно активні речовини, які негативно чи позитивно впливають на інші види рослин.

Алелогенія – поява в потомстві тільки самців (**ареногенія**) або тільки самок (**телігенія**).

Антагонізм – форма взаємовідносин між організмами в боротьбі за існування (гостре, непримириме протиборство).

Антибіоз – вид антагоністичних відносин організмів, пов'язаний з виділенням одними з них речовин, що придушують або гальмують розвиток інших.

Антибіотики – речовини мікробіологічного, тваринного або рослинного походження, які пригнічують життєдіяльність мікроорганізмів або знищують їх.

Антифіданти – природні або синтетичні речовини, які, діючи на контактні хеморецептори комах або інших тварин, пригнічують або не допускають їх живлення.

Антропічні (антропогенні) чинники – внесені в природу людською діяльністю зміни, що впливають на органічний світ. Непрямий вплив здійснюється через зміни стану атмосфери, водойм, ґрунтів та ін. Прямий вплив – безпосередньо на живі організми, яким створюються сприятливі або несприятливі умови (завезення із насінням і садивним матеріалом збудників хвороб, створення агроценозів, концентрація і спеціалізація господарств, порушення рекомендованих технологій вирощування сільськогосподарських культур та ін.).

Ареал виду – територія (простір) розповсюдження виду тварин, рослин, мікроорганізмів.

Атрактанти – біологічно активні речовини, запах або смак яких принадажує тварин.

Атрофія – зменшення об'єму тканини або органа в результаті загального або місцевого порушення живлення організму.

Бактеріофаг – вірус, що паразитує в бактеріях.

Бакуловіруси – родина ентомопатогенних палочкоподібних вірусів, які спричиняють у комах хвороби – ядерні поліедрози і гранульози.

Біологічна активність препарату – реакція тест-об'єкта у відповідь на дію препарату, виражену в одиницях активності.

Біологічний захист рослин (Біологічний контроль шкідливих організмів) – 1) захист рослин від шкідливих організмів за допомогою агентів біологічного захисту рослин чи продуктів їхньої життєдіяльності; 2) використання живих організмів, продуктів їхньої життєдіяльності і їхніх аналогів для запобігання або зниження збитку і втрат, що спричиняються шкідливими організмами рослин.

Біологічний препарат для захисту рослин (біопрепарат) – препарат, у якому діючою (активною) речовиною (компонентом) є мікроорганізм або продукт його діяльності.

Біологічні цикли – ритмічні повторення біологічних явищ в угрупованнях організмів (популяціях, біоценозах).

Біологічно активна речовина – органічна речовина хімічної природи, якій властива активність у дуже малих концентраціях і велика специфічність дії на організм.

Біометрія – наука про статистичний аналіз групових біологічних явищ.

Біотехнічний захист рослин – захист рослин від шкідливих організмів за допомогою засобів і прийомів, які порушують поведінкові реакції, репродуктивні функції, ріст і розвиток комах.

Біотип – сукупність особин, що мають однаковий генотип, схожий за всіма ознаками з тими, що входять до складу місцевої популяції.

Біотичні (біогенні) чинники – різноманітні фактори біологічного походження (рослини та їхні рештки, продукція рослинництва, комахи, мікроорганізми, продукти життєдіяльності рослин, людина), які впливають на розвиток організмів через зміни умов існування популяцій у біоценозах.

Біотоп – 1) порівняно однорідний за абіотичними чинниками середовища простір, зайнятий одним біоценозом у межах водної, надземної або підземної частин екосистеми; 2) ділянка земної поверхні, порівняно однорідна за умовами, де є певні тварини, рослини та мікроорганізми; 3) частина земної поверхні, яка має однакові абіотичні умови (клімат, рельєф та ін.), що визначають видовий склад організмів і особливості їхнього існування.

Біоценоз – історично сформована і здатна до саморегуляції сукупність рослин, тварин та мікроорганізмів, які живуть на одній території, взаємопов'язані різними формами взаємовідносин, що забезпечує кругообіг речовин у природі.

Вакцинація рослин – штучна обробка насіння або рослин слабопатогенними культурами патогенів або їхніми екстрактами (вакцинами), внаслідок чого підвищується стійкість рослин до певних фітопатогенів.

Вегетаційний період – період року, протягом якого за метеорологічними та іншими зовнішніми умовами можливі ріст і розвиток рослин.

Взаємодія чинників – ефект, який приводить до зміщення оптимальної зони і межі витривалості організмів стосовно до якогось чинника середовища, залежно від того, з якою силою і в якому поєднанні діють одночасно інші чинники.

Вид – сукупність близькоспоріднених організмів, що характеризуються певними, тільки їм властивими морфо-фізіологічними та еколого-географічними особливостями.

Вид аборигенний – корінний мешканець певної місцевості, який виник у процесі еволюції і який живе в ній тепер.

Вид адвентивний – вид, який потрапив у цю місцевість з іншої географічної області і поступово натуралізувався.

Вид шкідливий – відносне поняття, мається на увазі нанесення видом господарських збитків на певній території. Характер збитків залежить від чисельності виду шкідника або поширення та розвитку хвороби.

Вид-мішень – тварина чи рослина, проти якої застосовують той чи інший агент біологічного захисту рослин.

Виживаність – вірогідність і ступінь збереження у часі організмів (від покоління до нового покоління), здатних брати участь у розмноженні. В. визначають у відсотках після дії умов зовнішнього середовища.

Виживання (життєздатність) – кількість особин у відсотках, що збереглися в популяції за певний проміжок часу, стадію розвитку, вік, сезон.

Відбір природний – виживання найбільш пристосованих і загибель менш пристосованих особин під впливом природних умов середовища.

Вікова структура популяцій – форма адаптації живих організмів до умов середовища. Вона формується на основі біологічних властивостей виду, але завжди відображає характер опору організму. Неоднорідність В.С.П. суттєво підвищує шанси того, що за великого відхилення умов існування від норми в популяції збережеться якась частина особин, здатних вижити і продовжити існування виду.

Вірин – назва вірусних інсектицидних препаратів.

Віріон – вірусна часточка.

Вірози – хвороби, збудниками яких є віруси.

Вірулентність – ступінь хвороботворності (патогенності) певних мікроорганізмів або вірусів; це якісний показник патогенності.

Вірулентність – сукупність властивостей патогена, які забезпечують йому переборювання захисних перепон живого організму.

Віруси – неклітинні форми життя, здатні проникати в окремі живі клітини і розмножуватися тільки всередині них. Вірусна часточка – віріон – складається з молекул нуклеїнових кислот (ДНК або РНК), оточених білковою оболонкою.

«Ворота інфекції» – місце проникнення збудника хвороби.

Генерація (покоління) – період життя тварини або рослини від початку його розвитку до статевого дозрівання.

Генетичний (автоцидний) метод захисту рослин – використання таких способів обробки комах – шкідників рослин, які можуть пригнічувати потенціал їхнього розмноження шляхом змін або заміщення генетичного матеріалу.

Генна інженерія – технологія маніпуляцій з ДНК.

Генотип – сукупність усіх спадкових чинників організму, локалізованих у хромосомах. Носій генетичної інформації, яка передається від покоління до покоління та контролює розвиток, будову, життєдіяльність і біологічні властивості організму.

Гідротермічний коефіцієнт (ГТК) – показник гідротермічного режиму території, запропонований Г.Т. Селяниновим. ГТК визначають за теплий період року (вище 10 °С) співвідношенням суми опадів за період аналізу, збільшений у 10 разів, до суми середньодобових температур за цей же період.

Гіпертрофія – одна з макроскопічних змін, що характеризується збільшенням розміру і підвищенням функції органа, тканини або клітини.

Гіфальні тіла (бластоспори) – дріжджеподібні одноклітинні фрагменти міцелію гриба, що розмножуються діленням і брунькуванням.

Горизонтальна передача інфекції – передача інфекції особинам однієї генерації через корм, екскременти тощо.

Гормон – біологічно активна речовина, яка відтворюється ендокринними залозами і виділяється ними безпосередньо в кров. Під дією гормонів у комах регулюються линька і метаморфоз, розмноження, сезонні цикли.

Гранульоз – вірусна хвороба комах, що характеризується утворенням у клітинах тканин особливих включень – гранул.

Депресія – стан пригнічення, у якому перебуває популяція в несприятливих періоди життя, які супроводжуються скороченням її чисельності.

Джерело інфекції – місце резервації інфекційних зародків (пропагул) патогенів.

Динаміка чисельності організму – зміна чисельності організму в часі та просторі залежно від абіотичних, біотичних і антропічних чинників.

Діагноз – висновок про сутність хвороби організму, зроблений на підставі різних методів вивчення хворого організму.

Екзотоксини – токсичні розчинні речовини, що продукуються деякими бактеріями під час їхнього активного росту в субстраті або під час утворення бактеріями спор.

Економічний поріг шкідливості (ЕПШ) – 1) щільність популяції шкідливого організму, за якої економічно доцільне проведення заходів захисту рослин; 2) ступінь ураження рослин патогеном, при якому втрати врожаю досягають такого рівня (3–15 %), коли стає необхідним застосування засобів захисту рослин, а їхнє використання не знижує рентабельності вирощування продукції в конкретних умовах господарства.

Екотип – група особин одного виду, генетично пристосованих до перебування в однакових екологічних умовах.

Ендотоксини – токсичні речовини, що утворюються в клітинах мікроорганізмів. Виділяються в довкілля після загибелі і руйнування мікробної клітини.

Ентомопатогенні мікроорганізми – мікроорганізми, що спричиняють захворювання комах.

Епізоотія – масовий розвиток інфекційної хвороби в популяції тварин, зокрема комах, кліщів і гризунів, що призводить їх до загибелі.

Етіологія – наука про причини хвороб.

Етологія – наука, яка вивчає поведінку живих організмів.

Ефективність захисту рослин від шкідливих організмів:
технічна ефективність – результат застосування засобів захисту рослин проти шкідливого організму в конкретних умовах, що характеризується показниками його загибелі, пригнічення розвитку чи зниженням ураженості (пошкодженості) рослин, що захищаються; *господарська ефективність* – результат застосування засобів захисту рослин, виражений показниками кількості та якості захищеної від шкідливих організмів сільськогосподарської продукції; *економічна ефективність* – 1) вартість захищеної від шкідливих організмів сільськогосподарської продукції; 2) показники (чистий прибуток, рентабельність, окупність тощо), що засвідчують ефективність витрат на захист рослин.

Життєвий цикл – сукупність усіх стадій розвитку організму; пройшовши їх, організм досягає зрілості і набуває здатності давати потомство.

Життєздатність – спроможність особини вижити в мінливих умовах середовища, адекватність реакцій організму на зміну умов існування.

Запліднення – злиття чоловічої і жіночої статевих клітин, яке об'єднує генетичну інформацію самки та самця і з якого починається поділ заплідненого яйця.

Засіб захисту рослин – певний засіб (хімічний, біологічний, біофізичний, біотехнічний, механічний чи інший), який використовують для захисту рослин від шкідливих організмів.

Захист рослин – 1) розділ прикладної біології, що розробляє теоретичні основи і методи запобігання втратам урожаю рослин від шкідливих організмів, а також підгалузь сільськогосподарського виробництва, що здійснює застосування цих методів; 2) комплекс заходів, спрямованих на зменшення втрат урожаю та запобігання погіршенню стану сільськогосподарських культур, багаторічних і лісових насаджень, продукції рослинного походження від шкідників, хвороб і бур'янів.

Зоофаги – організми, які живляться тваринною їжею.

Інвазія – проникнення паразита в тіло хазяїна.

Інкубаційний (латентний) період – період від зараження живого організму до появи перших симптомів хвороби.

Інсектарій – спеціальне приміщення для виведення або розведення й утримання комах.

Інтегрований захист рослин – 1) оптимальне щодо фітосанітарного стану агроценозу застосування методів та засобів регулювання поширеності і розвитку шкідливих організмів до невідчутного рівня на основі моніторингу та прогнозу сучасних технологій, які забезпечують надійний захист рослин і екологічну безпеку довкілля; 2) захист рослин, спрямований на довгострокове регулювання розвитку та поширеності шкідливих організмів до економічно невідчутного рівня на основі фітосанітарного прогнозу, економічних порогів шкідливості, дії корисних організмів, енергоощадних і природоохоронних технологій.

Інтродукція – внесення нових видів організмів у місцеві природні комплекси (біо- або агроценози), де ці організми раніше не жили.

Інфекція – проникнення патогенного організму в організм тварини або рослини.

Інформація агротехнічна – дані про організаційно-господарські заходи, строки, норми та особливості проведення агротехнічних операцій, про фактичну фенологію рослин, стан посівів, урожайність і якість урожаю, стан насінневого матеріалу тощо.

Інформація астрономічна – показники сонячної активності (числа Вольфа), роки мінімуму та максимуму сонячної активності та ін.

Інформація гідрометеорологічна – характеристика клімату, погодних умов минулого року чи інших минулих періодів розвитку хвороби (їхня відмінність від норми), характеристика поточної погоди, прогноз погоди.

Інформація просторова – дані про поширеність і розвиток шкідливих організмів рослин у певній зоні чи господарстві за певний період.

Клімограма – графічне відображення основних метеопоказників (температура і вологість повітря, сума опадів) за певний період, наведене порівняно з кліматичною нормою.

Клімограма відхилень – графік відхилень метеочинників періоду аналізу від кліматичної норми.

Клон – сукупність особин або клітин, які походять від спільного предка і розмножуються нестатевим шляхом.

Колонізація – процес самостійного заселення й освоєння організмом нової території.

Колонія – група організмів, які мешкають спільно (постійно чи тимчасово) і кожний з яких здатний жити самостійно, але в тісному сусідстві має певну користь.

Коменсалізм – симбіотичні відносини двох видів, коли один з них харчується за рахунок іншого, не завдаючи йому шкоди.

Конкуренція – взаємовідносини між організмами одного і того ж виду (внутрішньовидова К.) або різних видів (міжвидова К.), які змагаються за використання одних і тих саме ресурсів довкілля при їх обмеженій кількості.

Консументи – організми, які харчуються готовими органічними речовинами. Це всі тваринні організми, частина мікроорганізмів, паразитичні та комахоїдні рослини.

Культивування мікроорганізмів – створення штучних умов для підтримання процесів життєдіяльності і розмноження мікроорганізмів.

Культура – тут лабораторна популяція корисних мікроорганізмів або членистоногих, яку підтримують у штучних умовах для подальшого використання у біологічному захисті рослин.

Культура чиста – культура мікроорганізмів або ентомоакарифага одного виду.

Лізис – розчинення клітин під дією патогенних організмів, хімічних сполук, високих температур тощо.

Лінія – родинні організми, що розмножуються статевим шляхом і походять, як правило, від одного предка або однієї пари спільних предків і відтворюють у ряді поколінь одні й ті ж спадково стійкі ознаки.

Матеріал маточний – частина лабораторної популяції комах або інших тварин, яка слугує для відтворення (підтримання) живої культури.

Метаморфоз – глибинні перетворення в будові організму в процесі розвитку.

Метод захисту рослин – сукупність способів і засобів, за допомогою яких захищають рослини.

Методи захисту рослин – організаційно-господарський, агротехнічний, селекційний, фізико-механічний, біологічний, хімічний та ін. Назва методу вказує, які заходи при цьому проводяться.

Міжнародна організація з біологічної боротьби зі шкідливими тваринами і рослинами (МОББ) – організація, яка об'єднує урядові і наукові установи, а також окремих осіб, які зацікавлені в біологічному придушенні шкідників рослин і бур'янів.

Мікози – хвороби, спричинені паразитичними грибами.

Мікроклімат – клімат приземного шару повітря невеликої території.

Мікроорганізми – велика група організмів, яких можна побачити лише під мікроскопом (віруси, мікоплазми, бактерії, мікроскопічні гриби, деякі водорості, найпростіші).

Моніторинг – система тривалих спостережень за зміною екосистеми біосфери; спостереження за певними об'єктами чи явищами. Розрізняють різні рівні моніторингу: глобальний, біосферний, регіональний, геосистемний (природно-господарський), локальний, біоекологічний, фітосанітарний.

Моновольтинний організм – організм, який за рік дає одну повну генерацію.

Моноспорова культура – культура мікроорганізму, вирощена з однієї спори або з однієї клітини, що забезпечує генетично чистий матеріал.

Монофаги – живі організми, які живляться тільки одним видом.

Муміфікація – збільшення в розмірах попелиць та інших членистоногих і набуття ними майже кулеподібної форми і темного забарвлення через зараження паразитами. Термін вживається і стосовно до покритих міцелієм грибів комах.

Мускадина – грибні хвороби комах. Уражені комахи муміфікуються і покриваються щільним нальотом з конідієносців з конідіями білого, рожевого або зеленого кольору.

Мутагени – фізичні, хімічні та інші чинники, що спричиняють стійкі спадкові зміни – мутації.

Мутація – різка, раптова зміна властивостей або ознак організму, яка виникає під впливом умов зовнішнього середовища і передається у спадковість.

Мутуалізм – форма симбіозу, при якій обидва організми-симбіонти мають певну користь від свого співжиття.

Нематодози – хвороби тварин і рослин, спричинені нематодами.

Нестатеве розмноження – процес відтворення нових особин організму без участі статевих клітин і запліднення.

Німфа – одна зі стадій післязародкового розвитку членистоногих, що розвиваються з неповним перетворенням.

Ніша екологічна – функціональне місце виду в екосистемі, яке визначається його біотичним потенціалом і сукупністю чинників зовнішнього середовища, до яких він пристосувався.

Носій патогена – організм, який слугує середовищем мешкання паразита, при цьому в нього не проявляються зовнішні ознаки хвороби.

Олігофаг – організм, який живиться обмеженим набором видів, що належать до однієї родини.

Онтогенез – 1) індивідуальний розвиток (сукупність перетворень) тваринного чи рослинного організму з моменту зародження до смерті; 2) індивідуальний розвиток особини, починаючи від стадії заплідненого яйця до статевої зрілості.

Охорона довкілля – комплекс наукових, організаційно-технічних і правових заходів з раціонального використання, відтворення та збереження природних ресурсів в інтересах людини, біологічної рівноваги в природі.

Панзоотія – масове захворювання тварин, яке охоплює декілька країн або континентів.

Паразит – організм, що розвивається на іншому організмі (хазяїні) або всередині нього, живиться ним і часто його знищує.

Паразит внутрішній (ендопаразит) – паразитичний організм, що розвивається всередині свого хазяїна.

Паразит вторинний – паразит, що розвивається за рахунок первинного паразита.

Паразит гетероксенний – вид, якому для повного циклу розвитку необхідні різні хазяїни.

Паразит груповий – вид, який в одній особині хазяїна розвивається в кількості двох і більше особин.

Паразит зовнішній (ектопаразит) – паразит, що розвивається на поверхні тіла хазяїна.

Паразит моноксенний – паразит, якому для успішного завершення життєвого циклу необхідний лише один вид – хазяїн.

Паразит облігатний – вид, який у природних умовах може вести тільки паразитичний спосіб життя.

Паразит одиночний – у кожній особині хазяїна розвивається одна особина паразита.

Паразит факультативний – вид, який в одних випадках розвивається як паразит, а в інших – сапротрофно.

Паразитизм – форма взаємовідносин між організмами різних видів у біоценозі, з яких один (паразит) використовує другого (хазяїна) в ролі середовища розвитку і джерела корму упродовж певної частини свого життєвого циклу, поступово приводячи хазяїна до загибелі.

Паразитизм множинний (мультипаразитизм) – ситуація, коли одного хазяїна послідовно або одночасно заражають декілька видів паразитів, потомство яких розвивається одночасно.

Партеногенез – розвиток потомства з незапліднених яєць.

Патоген – 1) організм, що спричиняє розвиток хвороби в організмі, викликає розвиток патологічних явищ – порушення обміну речовин, зміни забарвлення та ін.; 2) організм, здатний спричинити захворювання іншого організму.

Патогенез – 1) механізм виникнення та розвитку хвороби й окремих її проявів на різних рівнях – від молекулярних порушень до змін в органах і системах; 2) механізм виникнення конкретної хвороби, процес її розвитку і стан організму на різних етапах перебігу хвороби.

Патогенність (хвороботворність) – здатність мікроорганізмів викликати захворювання. П. може змінюватися залежно від фенофази, стану організму, екологічних умов та ін.

Персистентність – відносна чи абсолютна стійкість одного організму до проникнення і розвитку в ньому іншого.

Позакишкове травлення – тип травлення в деяких хижих комах, який полягає в тому, що травні ферменти вводяться в жертву через канали в щелепах і процес перетравлення їжі відбувається в тілі жертви.

Поліедроз – вірусне захворювання комах, яке характеризується утворенням у клітинах живителя білкових включень у вигляді поліедрів.

Поліембріонія – розвиток двох і більше (до 2000) особин з одного яйця поділом ембріона на ранній стадії розвитку.

Поліморфізм – генотипова і фенотипова неоднорідність виду.

Поліфаг – організм, який живиться різноманітним кормом або паразитує в різних видах-хазяїнах.

Популяція – 1) просторове угруповання особин певного виду організмів, яке займає частину його ареалу і характеризується генотипічною і фенологічною специфічністю; 2) сукупність особин певного виду, здатних до схрещування в межах популяції, що заселяють обмежену територію ареалу виду.

Популяція лабораторна – популяція, що сформувалася завдяки тривалому лабораторному розведенню з обмеженого числа особин-засновників. П. л. є менш гетерозиготною і має ознаки, які відрізняють її від вихідної популяції.

Поріг розвитку (температурний) – граничне значення температури повітря, нижче (або вище) від якого розвиток організму неможливий.

Потомство – сукупність особин з яєць, відкладених однією самкою.

Препарат бактеріальний – препарат, створений на основі бактерій і (або) продуктів їхнього метаболізму.

Препарат вірусний – препарат, створений на основі вірусу (вірусів).

Препарат гормональний – препарат, що містить у своєму складі гормон або його аналоги.

Препарат грибний – препарат, створений на основі гриба і (або) продуктів його метаболізму.

Природне середовище – сукупність абіотичних і біотичних чинників, які впливають на організм.

Протозоозни – хвороби, спричинені найпростішими.

Процес інфекційний – сукупність біологічних процесів в організмі, що спричинені інфекційним агентом.

Раси (біологічні) – внутрішньовидові форми, які мешкають в одній місцевості, і фактично не відрізняються за структурними особливостями, але можуть бути чітко виділені на основі певних біологічних ознак. Зокрема, серед паразитичних видів комах виділяють раси, що різняться за ступенем переваги того або іншого хазяїна.

Раціональне управління чисельністю шкідливих організмів – стратегія захисту рослин, яка є частиною раціонального використання природних ресурсів.

Реакліматизація – введення в біоценози видів, які зникли з них через дію катастрофічних або антропогенних чинників.

Резистентність – стійкість організму до впливу різних чинників, зокрема хімічних і біологічних.

Сапрофаг – організм, джерелом живлення якого є мертвий органічний субстрат.

Септицемія – бактеріальне інфекційне захворювання, при якому бактерії активно розмножуються в гемолімфі комах.

Середовище живильне – субстрат для живлення мікроорганізмів під час їх вирощування в лабораторних умовах.

Середовище зовнішнє (фітоценотичне) – сукупність зовнішніх умов у певному фітоценозі, які діють на організм, популяцію виду, патологічний процес, рослину-господаря тощо і викликають відповідну реакцію.

Симбіоз – сумісне співіснування двох або декількох різних видів організмів, яке дає їм взаємну користь.

Симптоми хвороби – реакція організму на вплив патогена, яка має морфологічні відхилення, а також відхилення у поведінці і функціях.

Синергізм – комбінована дія мікроорганізмів або яких-небудь речовин на організм, за якої сумарний ефект перевищує дію, що проявляє кожен компонент окремо.

Статевий індекс – показник відносної частки самців і самок у певній групі особин (популяції). Виражається або процентом самців від загальної кількості особин, або кількістю самців на 100 самок.

Стація – ділянка території з певними екологічними умовами, зайнята популяцією виду.

Титр біопрепарату – кількість одиниць активної основи (спор, клітин тощо) в одному грамі (мілілітрі) препарату. Один з показників якості біопрепарату.

Токсини – речовини мікробного, рослинного або тваринного походження, які здатні пригнічувати фізіологічні функції живих організмів, спричиняючи їхні захворювання або загибель.

Толерантність – витривалість виду до дії факторів середовища (погодні та інші умови, шкідливі організми).

Трансовальна передача патогена – 1) передача патогенних мікроорганізмів від одного покоління до наступного на зовнішній поверхні яєць; 2) передача патогенних мікроорганізмів від матері потомству ще в той час, коли це потомство перебуває у вигляді яєць в яєчниках.

Фенограма – спеціальний графік розвитку всіх фенофаз шкідливих організмів і рослин, виконаний з використанням спеціальних загальноприйнятих умовних позначень.

Фенологічні спостереження – спостереження за сезонними явищами живої природи, реєстрація строків їхнього настання і закінчення.

Фенологічні фази – фази сезонних явищ живої природи. Фенофази рослин визначають за зовнішніми морфологічними ознаками органів рослин, фенофази хвороб – за діагностикою макрота мікроознак певних фаз циклу розвитку хвороби.

Фенотип – сукупність усіх структурних і функціональних особливостей організму (зокрема фітопатогенів), які сформувалися на базі його генотипу в результаті взаємодії з довкіллям.

Фітосанітарія – заходи, що спрямовані на отримання здорових рослин.

Фітосанітарний стан – рівень розвитку та потенційної загрози шкідливих рослин на конкретній території у певний період.

Форезія – тип симбіозу, при якому один вид використовує інший з метою пересування в просторі.

Хазяїн (паразита) – живий організм, який слугує середовищем мешкання і розвитку для іншого організму (паразита).

Хітин – тверда речовина, яка не розчиняється у воді, розведених лугах і кислотах. Основний компонент зовнішнього скелета членистоногих тварин.

Чинник – 1) рушійна сила процесу або одна з головних його умов; 2) явище, агент або будь-який природний компонент, який впливає на особину, популяцію, біоценоз. Відомі абіотичні, біотичні й антропогенні чинники; 3) в екології – явище, агент або будь-який природний компонент, який впливає на особину, популяцію, біоценоз; виділяють три групи екологічних чинників: абіотичні, біотичні й антропічні.

Чисельність шкідника – кількість особин шкідника на території, зайнятій його популяцією.

Швидкість розселення – темпи розселення особин від місця випуску; швидкість природного поширення інтродуцента на новій території після його колонізації.

Шкідливий організм – живий організм, що знижує врожай рослин і його якість.

Шкідник рослин – вид тварини, що здатний спричиняти пошкодження рослини, збиткам від якого доцільно запобігати.

Штам – чиста культура мікроорганізмів, виділена з певного середовища. Штами одного й того ж виду грибів, бактерій і вірусів різняться між собою багатьма властивостями.

Штучне живильне середовище (ШЖС) – живильний субстрат, на якому в лабораторних або промислових умовах розводять організми.

Щільність популяції шкідника – кількість особин шкідника на одиницю площі чи обліку.

Якість біоагента – сукупність властивостей (фізіологічних, екологічних, поведінкових) біоагента, необхідних для його ефективного використання в біологічному захисті рослин.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Бей-Биенко Г.Я. Общая энтомология / Г. Я. Бей-Биенко. – Москва: Высш. школа, 1980. – 416 с.
2. Білик М. О. Біологічний захист рослин / М. О. Білик — Харків: Майдан, 2009. — 424 с.
3. Білик М.О. Довідник з біологічного захисту рослин / М.О. Білик. – Харків: ХНАУ, 2016. – 178 с.
4. Бондаренко Н.В. Биологическая защита растений / Н.В. Бондаренко. – Москва: Агропромиздат, 1987. – 278 с.
5. Вейзер Я. Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми / Я. Вейзер. – Москва: Колос, 1972. – 640 с.
6. Векірчик К.М. Мікробіологія з основами вірусології / К.М. Векірчик. – Київ: Либідь, 2001. – 312 с.
7. Воронин К.Е. Биологическая защита зерновых культур от вредителей / К.Е. Воронин, В.А. Шапиро, Г.А. Пукинская. – Москва: Агропромиздат, 1988. — 198 с.
8. Гулий В.В. Вирусы в защите леса от вредных насекомых / В.В. Гулий, М.А. Голосова. – Москва: Лесная промышленность, 1975. – 168 с.
9. Гулий В.В. Микробиологическая борьба с вредными организмами / В.В. Гулий, Г.М. Иванов, М.В. Штерншис. – Москва: Колос, 1982. – 121 с.
10. Гулий В.В. Вирусные болезни насекомых и их диагностика / В.В. Гулий, С.Ю. Рыбин. – Кишенев: Штиинца, 1988. – 125 с.
11. Дядечко М.П. Основи біологічного методу захисту рослин / М.П. Дядечко. – Київ: Урожай, 1990. – 266 с.
12. Евлахова А.А. Энтомopatогенные грибы / А.А. Евлахова. – Ленинград: Наука, Ленингр. отд-ние, 1974. – 260 с.
13. Євтушенко М.Д. Хрестоцвіті блішки, ріпаковий квіткоїд на ріпаку ярому й гірчиці у Східному Лісостепу України: монографія / М.Д. Євтушенко, С.В. Станкевич, В.В. Вільна. – Харків.: Майдан, 2014. – 164 с.
14. Євтушенко М. Д. Захист овочевих культур від хвороб і шкідників у закритому ґрунті / М. Д. Євтушенко, М. О. Білик, Ф. М. Марютін. – Харків: Еспада, 2003. – 464 с.
15. Ижевский С.С. Словарь по биологической защите растений / С.С. Ижевский, В.В. Гулий. – Москва: Россельхозиздат, 1986. – 223 с.

16. Ижевский С.С. Защита тепличных и оранжерейных растений от вредителей / С.С. Ижевский, А.К. Ахатоа. – Москва, 1999. – 399 с.
17. Кайа Х. Методичні вказівки із розведення ентомопатогенних нематод / Х. Кайа, Т.Р. Стефановська. – Девіс: Каліфорнійський університет, 2005. – 25 с.
18. Кандыбин Н.В. Бактериальные средства борьбы с грызунами и вредными насекомыми / Н.В. Кандыбин. – Москва: Агропромиздат, 1989. – 172 с.
19. Коваль Э.З. Определитель энтомофильных грибов СССР / Э.З. Коваль. – Київ: Наук. думка, 1974. – 258 с.
20. Леднев Г.Р. Возбудители микозов насекомых: пособие по диагностике / Г.Р. Леднев, Г.В. Митина, Б.А. Борисов. – Санкт-Петербург: ВНИИЗР, 2003. – 79 с.
21. Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты / под ред. В.В. Глупова. – Москва: Круглый год, 2001. – 736 с.
22. Писаренко В. В. Захист рослин: Фітосанітарний моніторинг, методи захисту рослин, інтегрований захист рослин / В. М. Писаренко, П. В. Писаренко. – Полтава, 2007. – 256 с.
23. Попкова К. В. Общая фитопатология / К. В. Попкова. – Москва: Агропромиздат, 1989. – 399 с.
24. Практикум по биологической защите растений / под ред. Н.В. Бондаренко. – Москва: Колос, 1984. – 286 с.
25. Рекомендации по применению средств биологического происхождения в системе защиты плодово-ягодных, овощных культур и картофеля от вредителей и возбудителей болезней / Д.А. Колесова, Т.А. Рябчинская, Г.Л. Харченко и др. – Рамонь: ВНИИЗР, НБЦ «Фармбиомед», 1999. – 44 с.
26. Сільськогосподарська ентомологія / за ред. проф. Б. М. Литвинова та М. Д. Євтушенка. – Київ: Вища школа, 2005. – 511 с.
27. Смирнов В.В. Бактерии рода *Pseudomonas* / В.В. Смирнов, Е.А. Киприанова. – Київ: Наук. думка, 1990. – 264 с.
28. Соколов М.С. Экологизация защиты растений / М.С. Соколов, О.А. Монастырский, Э.А. Пикушова. – Пущино: ОНТИ ПНЦ РАН, 1994. – 462 с.
29. Станкевич С.В. Застосування мікробіопрепарату актофіт в поєднанні з інсектицидом біскайя проти ріпакового квіткоїда у фенофазу жовтого бутону / С.В. Станкевич // Вісник Харківського

національного аграрного університету ім. В.В. Докучаєва. Сер. «Фітопатологія та ентомологія». – 2012. – № 12. – С. 115–122.

30. Станкевич С.В. Управління чисельністю комах-фітофагів: навч. посібник / С.В. Станкевич. – Харків: ФОП Бровін О.В., 2015. – 178 с.

31. Станкевич С.В. Моніторинг шкідників сільсько-господарських культур: навч. посібник / С. В. Станкевич, І. В. Забродіна. – Харків: ФОП Бровін О.В., 2016. – 216 с.

32. Стефановська Т.Р. Патологія комах: методичні вказівки для лабораторних занять та самостійної роботи / Т.Р. Стефановська, Я.О. Лікар, Л.П. Кава. – Київ: Вид-во НУБіП, 2009. – 38 с.

33. Стратегія і тактика захисту рослин. Т. 1. Стратегія / В.П. Федоренко, Л.І. Бублик, Н.О. Козуб та ін.; за ред. В.П. Федоренка. – Київ: Альфа-стевія, 2012. – 500 с.

34. Тарасевич Л. М. Вирусы насекомых / Л.М. Тарасевич. – Москва: Наука, 1975. – 198 с.

35. Твердюков А. П. Биологический метод борьбы с вредителями и болезнями в защищенном грунте / А.П. Твердюков, П.В. Никонов, Н.П. Ющенко. – Москва: Колос, 1993. – 160 с.

36. Термінологічний словник-довідник з ентомології, фітопатології, фітофармакології: навч. посібник / М. Д. Євтушенко, Ф. М. Марютін, О. Ф. Марютін, І. В. Забродіна / за ред. М. Д. Євтушенка, Ф. М. Марютіна. – Вид. 2-ге, переробл. і доп. – Харків: Майдан, 2013. – 370 с.

37. Тыщенко В.П. Физиология насекомых / В.П. Тыщенко. – Москва: Высш. школа, 1986. – 303 с.

38. Штерншис М.В. Микробиологическая борьба с вредителями сельскохозяйственных культур Сибири и Дальнего Востока / М.В. Штерншис. – Москва: Агропромиздат, 1988. – 128 с.

39. Штерншис М.В. Повышение эффективности микробиологической борьбы с вредными насекомыми / М.В. Штерншис. – Новосибирск, 1995. – 194 с.

40. Штерншис М.В. Биопрепараты в защите растений / М.В. Штерншис, Ф.С. Джалилов, И.В. Андреева, О.Г. Томилова. – Новосибирск: Новосиб. гос. аграр. ун-т, 2000. – 128 с.

41. Штерншис М.В. Биологическая защита растений / М.В. Штерншис, Ф.С. Джалилов, И.В. Андреева, О.Г. Томилова. – Москва: Колос, 2004. – 264 с.

42. Штейнхауз Э. Патология насекомых / Э. Штейнхауз. – Москва: Изд-во иностр. лит-ры, 1952. – 826 с.
43. Экологически безопасные и беспестицидные технологии получения растениеводческой продукции // Материалы Всерос. науч.-пр. совещания. – Пушино, 1994. – Ч. I. – 178 с.; Ч. II. – 271 с.
44. Ehlers R.U. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant production. Appl. – Microbiol. Biotechnonol 56: 623633, 2001.
45. Kaya H.K. Entomopathogenic nematodes / H.K. Kaya, R. Gaugler. – Annual Review Entomology 38: (1993)181206.
46. Yoshinori Tanada, Kaya H. Insect pathology. Academic Press Inc. 1992. – 666 p.

ДОДАТКИ

Додаток А

ОСНОВНІ ХВОРОБИ КОМАХ-ФІТОФАГІВ

Українська назва шкідника	Латинська назва шкідника	Стадія, що уражується	Вид хвороби	Збудник хвороби
1	2	3	4	5
Капустянка звичайна	<i>Gryllotalpa gryllotalpa</i> L.	личинка	бактеріоз	<i>Bacteria gryllotalpa</i> Met.
– “ –	– “ –	імаго	гельмінтоз	<i>Thelastoma skrjabini</i> Serg.
Сарана перелітна	<i>Locusta migratoria</i> L.	личинка, імаго	мікоз	<i>Entomophthora grylli</i> Now.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Aspergillus flavus</i> Link.
– “ –	– “ –	– “ –	бактеріоз	<i>Coccobacillus acridiorum</i> D`Her.
– “ –	– “ –	яйце	гельмінтоз	Вид не встановлено
– “ –	– “ –	личинка	протозооноз	<i>Nosema locusta</i> Can.
Сарана мароккська	<i>Dociostaurus maroccanus</i> Thunb.	личинка, імаго	мікоз	<i>Entomophthora grylli</i> Now.
– “ –	– “ –	яйце	гельмінтоз	<i>Aphelenchus</i> sp.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Acrobilloides</i> sp.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Acrobeles</i> sp.
Коник блакитнокрилий	<i>Oedipoda coeruleascens</i> L.	личинка, імаго	мікоз	<i>Entomophthora grylli</i> Now.
Трипс тютюновий	<i>Haplothrips tritici</i> Kurd.	личинка, імаго	мікоз	<i>Entomophthora sphaerosperma</i> Fres.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Fusarium</i> sp.
Цикадка зелена	<i>Cicadella viridis</i> L.	імаго, личинка	мікоз	<i>Entomophthora tenthredinis</i> Fres.
Медяниця яблунева	<i>Psilla mali</i> Schmdbg.	личинка, імаго	мікоз	<i>Entomophthora sphaerosperma</i> Fres.
Попелиця горохова	<i>Acyrtosiphon pisum</i> Harr.	– “ –	– “ –	<i>Entomophthora aphidis</i> Hoffm.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Entomophthora fresenii</i> Now.

1	2	3	4	5
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Entomophthora thaxteriana</i> Petch.
Попелиця картопляна	<i>Aulacorthum solani</i> Kalt.	личинка, імаго	мікоз	<i>Entomophthora thaxteriana</i> Petch.
Попелиця бурякова	<i>Aphis fabae</i> Scop.	– “ –	– “ –	<i>Entomophthora aphidis</i> Hoffm.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Entomophthora sphaerosperma</i> Fres.
Попелиця капустиана	<i>Brevicoryne brassicae</i> L.	– “ –	– “ –	<i>Cladosporium aphidis</i> Thum.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Entomophthora aphidis</i> Hoffm.
Шкідлива черепашка	<i>Eurygaster integriceps</i> Put.	личинка, імаго	мікоз	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Spicaria farinose</i> Fron.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Fusarium</i> sp.
– “ –	– “ –	– “ –	бактеріоз	<i>Bacillus eurygasteris</i> Posp.
Шкідлива черепашка	<i>Eurygaster integriceps</i> Put.	личинка, імаго	бактеріоз	<i>Serratia marcescens</i> Bisio.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Pseudomonas pyocyanea</i> Mig.
– “ –	– “ –	– “ –	чорний бактеріоз	<i>Serratia marcescens</i> Bisio. та <i>Pseudomonas pyocyanea</i> Mig.
– “ –	– “ –	імаго	протозооноз	Вид не встановлено
– “ –	– “ –	– “ –	гельмінтоз	<i>Cephalobus elongates</i> De Man

1	2	3	4	5
Елія гостро-голова	<i>Aelia rostrata</i> Boh.	личинка, імаго	мікоз	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Fusarium</i> sp.
Капустяний клоп	<i>Eurydema ornata</i> L.	– “ –	– “ –	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.
Хлібна жужелиця	<i>Zabrus tenebrioides</i> Goeze.	личинка	мікоз	<i>Entomophthora zabri</i> Rozs.
Західний травневий хрущ	<i>Melolontha melolontha</i> L.	яйце, личинка, імаго	мікоз	<i>Beauveria tenella</i> (Delacr.) Siem. <i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.
– “ –	– “ –	личинка	– “ –	<i>Metarrhizium anisopliae</i> (Metsch.) Sor.
– “ –	– “ –	– “ –	риккетсіоз	<i>Rickettsiella melolonthae</i> (Krieg) Philip.
– “ –	– “ –	– “ –	бактеріоз	<i>Bacillus fribourgensis</i> Wil.
– “ –	– “ –	личинка, імаго	бактеріоз	<i>Pseudomonas septica</i> Berg.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Bacillus thuringiensis</i> Berl.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Bacillus polystictus</i> Kabay et Ettliger
– “ –	– “ –	– “ –	віроз	<i>Moratorvirus lamellicornium</i> Krieg et Huger
– “ –	– “ –	– “ –	протозооноз	<i>Nosema melolonthae</i> (Krieg) Huger
– “ –	– “ –	– “ –	гельмінтоз	<i>Neoapectana melolonthae</i> Weis.
– “ –	– “ –	– “ –	гельмінтоз	<i>Pseudomermis hagmeieri</i> Cout.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Tunicamermis melolonthae</i> Cout.
Східний травневий хрущ	<i>Melolontha hippocastani</i> Fabr.	– “ –	бактеріоз	<i>Bacteria melolonthae</i> Met.
– “ –	– “ –	– “ –	мікоз	<i>Beauveria tenella</i> (Delacr.) Siem.

1	2	3	4	5
– “ –	– “ –	личинка	риккетсіоз	<i>Rickettsiella melolonthae</i> (Krieg) Philip.
– “ –	– “ –	– “ –	гельмінтоз	<i>Psammomermis korsakovi</i> Pol.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Filipievimermis pologenzevi</i> Ipat.
Хлібний жук	<i>Anisoplia austriaca</i> Herbst.	личинка, імаго	мікоз	<i>Metarisium anisoplia</i> (Metsch) Sor.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Penicillium brevicaulis</i> Sacc.
– “ –	– “ –	личинка	протозооноз	Найпростіші із ряду мікроспоридій
– “ –	– “ –	– “ –	гельмінтоз	<i>Leptodera dentate</i> Pol.
Ковалик посівний	<i>Agriotes sputator</i> L.	імаго	мікоз	<i>Entomophthora sphaerosperma</i> Fres
– “ –	– “ –	личинка	– “ –	<i>Metarisium anisoplia</i> (Metsch) Sor.
– “ –	– “ –	імаго	– “ –	<i>Entomophthora carpentieri</i> Giard.
Колорадський жук	<i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say.	личинка, лялечка, імаго	мікоз	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Beauveria globulifera</i> Pic.
– “ –	– “ –	імаго	гельмінтоз	<i>Neoaplectana glasery</i> Beck.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Hexameris cornuta</i> Pol.
Звичайний буряковий довгоносик	<i>Bothynoderes punktiventris</i> Germ.	імаго, личинка, лялечка	мікоз	<i>Metarisium anisoplia</i> (Metsch) Sor.
– “ –	– “ –	личинка	– “ –	<i>Tarichium cleoni</i> Wize.
Звичайний буряковий довгоносик	<i>Bothynoderes punktiventris</i> Germ.	личинка, імаго	мікоз	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Spicaria farinose</i> Fron
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Spicaria fumoso-rosea</i> (Wize) Vassil.
– “ –	– “ –	личинка	– “ –	<i>Sorospora uvella</i> (Krass.) Giard
– “ –	– “ –	– “ –	гельмінтоз	<i>Neoplectana bothynoderi</i> Kir. et Put.
Яблунова плодожерка	<i>Carpocapsa pomonella</i> L.	гусениця	мікоз	<i>Entomophthora</i> sp.

1	2	3	4	5
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Cephalosporium</i> sp.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Aspergillus candidus</i> Link.
– “ –	– “ –	– “ –	бактеріоз	<i>Bacillus cereus</i> Frankl.
– “ –	– “ –	– “ –	протозооноз	<i>Nosema carposapse</i> Pail.
– “ –	– “ –	– “ –	гельмінтоз	<i>Neoaplectana carposapse</i> Weis.
– “ –	– “ –	– “ –	гельмінтоз	<i>Steinernema carposapse</i> Weis.
– “ –	– “ –	– “ –	віроз	Вірус гранульозу <i>Bergoldiavirus</i> sp.
Капустяна міль	<i>Plutella maculipennis</i> Curt.	гусениця	мікоз	<i>Entomophthora sphaerosperma</i> Fres.
Яблунева горностаєва міль	<i>Yponomeuta malinellus</i> Zell.	– “ –	– “ –	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Tarichium</i> sp.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Aspergillus niger</i> Van-Tieg.
– “ –	– “ –	– “ –	віроз	Вірус ядерного поліедрозу <i>Borrelinavirus</i> sp.
– “ –	– “ –	– “ –	гельмінтоз	<i>Hexameris</i> sp.
Лучний метелик	<i>Loxostege sticticalis</i> L.	гусениця, лялечка,	мікоз	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Spicaria fumoso-rosea</i> Vassil.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Sorospora uvella</i> (Krass.) Giard.
– “ –	– “ –	гусениця,	бактеріоз	<i>Serratia marcescens</i> Bizio.
Стебловий (кукурудзяний) метелик	<i>Pyrausta nubilalis</i> Нб.	– “ –	мікоз	<i>Spicaria farinosa</i> Fron.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Aspergillus flaus</i> Link
– “ –	– “ –	гусениця	– “ –	<i>Fusarium moniliforme</i> Sheld.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Cephalosporium</i> sp.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Mycoderma clayi</i> Met., Ell. et Chor.

1	2	3	4	5
– “ –	– “ –	гусениця, лялечка	бактеріоз	<i>Serratia marcescens</i> Vizio.
– “ –	– “ –	гусениця	– “ –	<i>Bacterium pyrenei</i> Met.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>B. casaubon</i> Met.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>B. canadensis</i> Chorin.
– “ –	– “ –	– “ –	віроз	Вірус ядерного поліедрозу <i>Borrelinavirus sp</i>
– “ –	– “ –	усі стадії	протозооноз	<i>Nosema pyrauste</i> (Pail.) Weis.
– “ –	– “ –	гусениця	– “ –	<i>Leptomonas pyrauste</i> Pail.
Білан жил- куватий	<i>Aporia crataegi</i> L.	гусениця	мікоз	<i>Entomophthora sp.</i>
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Spicaria farinosa</i> Fron.
– “ –	– “ –	– “ –	віроз	Вірус ядерного поліедрозу <i>Borrelinavirus aporiae</i> Kr. et Lang.
– “ –	– “ –	– “ –	протозооноз	<i>Nosema aporivora</i> Veber.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Nosema aporiae</i> Lipa.
– “ –	– “ –	усі стадії	– “ –	<i>Nosema polivora</i> Blunck.
– “ –	– “ –	гусениця	– “ –	<i>Plistophora aporiae</i> Veber.
– “ –	– “ –	– “ –	протозооноз	<i>Plistophora schubergi</i> Zwolf.
– “ –	– “ –	– “ –	гельмінтоз	<i>Agamermis decaudata</i> Cobb., Christie et Steiner
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Mermis sp.</i>
Білан капустяний	<i>Pieris brassicae</i> L.	гусениця, лялечка	мікоз	<i>Entomophthora sphaerosperma</i> Fres.
– “ –	– “ –	гусениця	віроз	Вірус гранульозу <i>Bergoldiavirus brassicae</i> Steinh.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Paillotellavirus pieris</i> Steinh.
– “ –	– “ –	– “ –	протозооноз	<i>Nosema polivora</i> Blunck.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Glugea legeri</i> Weis.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Glugea mesnili</i> (Pail) Weis.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Thelohania mesnili</i> Pail.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Glugea pieris</i> (Pail.) Weis.
– “ –	– “ –	– “ –	змішаний тип	<i>Entomophthora sphaero sperma</i> Fres., <i>Thelohania mesnili</i> Pail., <i>Nosema polivora</i> Blunck.
Кільчастий шовкопряд	<i>Malacosoma neustria</i> L.	гусениця	мікоз	<i>Entomophthora aulicae</i> Reich.

1	2	3	4	5
– “–	– “–	– “–	віроз	Вірус ядерного поліедрозу <i>Borrelinavirus sp.</i>
– “–	– “–	– “–	бактеріоз	<i>Bacillus fl uorescens</i> Fl.
– “–	– “–	– “–	протозооноз	<i>Nosema bombycis</i> Nag.
– “–	– “–	– “–	– “–	<i>Plistophora neustriae</i> Gunt.
Непарний шовкопряд	<i>Porthetria dispar</i> L.	– “–	мікоз	<i>Entomophthora aulicae</i> Reich.
– “–	– “–	гусениця, лялечка	– “–	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.
– “–	– “–	– “–	– “–	<i>Spicaria farinosa</i> Fron.
– “–	– “–	яйце, гусениця, лялечка	віроз	Вірус ядерного поліедрозу <i>Borrelinavirus reprimens</i> Holm.
– “–	– “–	– “–	– “–	Вірус цитоплазменної поліедрії (кишкова форма) <i>Smithiavirus sp.</i>
– “–	– “–	яйце,	бактеріоз	<i>Serratia marcenscens</i> Bisio.
– “–	– “–	гусениця	– “–	<i>Streptococcus disparis</i> Glaser.
– “–	– “–	яйце,	протозооноз	<i>Nosema lymantriae</i> Weis.
– “–	– “–	– “–	– “–	<i>Thelohania disparis</i> Tim.
– “–	– “–	– “–	– “–	<i>Thelohania similis</i> Weis.
– “–	– “–	– “–	– “–	<i>Nosema muscularis</i> Weis.
– “–	– “–	гусениця	– “–	<i>Plistophora schubergi</i> Zwolf.
– “–	– “–	– “–	гельмінтоз	<i>Complexormis elegans</i>
– “–	– “–	– “–	– “–	<i>Hexamermis ablicans</i> Sieb.
Озима совка	<i>Scotia segetum</i> Schiff.	гусениця	мікоз	<i>Tarichium megaspermum</i> Cohn
– “–	– “–	гусениця, лялечка,	– “–	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill
– “–	– “–	гусениця	– “–	<i>Sorospora uvella</i> (Krass.) Giard.
– “–	– “–	гусениця	– “–	<i>Spicaria fumoso-rosea</i> (Wize) Vassil.
– “–	– “–	– “–	віроз	Вірус гранульозу <i>Bergoldiavirus sp.</i>
– “–	– “–	– “–	віроз	Вірус ядерного поліедрозу <i>Borrelinavirus sp.</i>

1	2	3	4	5
– “ –	– “ –	– “ –	бактеріз	<i>Serratia marcenscens</i> Bisio.
– “ –	– “ –	– “ –	бактеріз	<i>Bacteria agrotidis typhoides</i> Posp.
– “ –	– “ –	– “ –	бактеріз	<i>Bacteria fl uorescens liquefaciens</i> Fl.
– “ –	– “ –	– “ –	протозооноз	<i>Nosema perezioides</i> Hug.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Thelohania</i> sp.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Plistophora</i> sp.
– “ –	– “ –	– “ –	гельмінтоз	<i>Neoplectana feltiae</i> Filip.
Капустяна совка	<i>Mamestra brassicae</i> L.	гусениця	мікоз	<i>Spicaria farinose</i> Fron.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Entomophthora sphaerosperma</i> Fres.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Eu-Aspergillus ochraceus</i> Wihl.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Tarichium bereschkoveanum</i> Lavr. et Smirn.
– “ –	– “ –	– “ –	віроз	Вірус ядерного поліедрозу <i>Borrelinavirus</i> sp.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	Вірус цитоплазменної поліедрії (кишкова форма) <i>Smithiavirus</i> sp.
– “ –	– “ –	– “ –	протозооноз	<i>Plistophora</i> sp.
– “ –	– “ –	гусениця,	гельмінтоз	<i>Rhabditis</i> sp.
Американський білий метелик	<i>Hyphantria cunea</i> Druri.	гусениця	протозооноз	<i>Thelohania hyphantriae</i> Weis.
– “ –	– “ –	– “ –	– “ –	<i>Nosema minor</i> Weis.
– “ –	– “ –	– “ –	віроз	Вірус ядерного поліедрозу <i>Borrelinavirus</i> sp.
– “ –	– “ –	– “ –	віроз	Вірус гранульозу <i>Bergoldiavirus Kovatsche-vichi</i> Schm. et Phil.
– “ –	– “ –	– “ –	віроз	Вірус цитоплазменної поліедрії (кишкова форма) <i>Smithiavirus hyphantria</i> Vago et Vasil.
– “ –	– “ –	– “ –	мікоз	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill
– “ –	– “ –	– “ –	мікоз	<i>Metarisium anisoplia</i> (Metsch)

Навчальне видання

**Білик Микола Олексійович
Станкевич Сергій Володимирович
Забродіна Інна Вікторівна**

ПАТОЛОГІЯ КОМАХ-ФІТОФАГІВ

Навчальний посібник

За редакцією авторів
Дизайн обкладинки С.В. Станкевича
Комп'ютерний набір і верстка С.В. Станкевича

Підп. до друку 04.07.2017. Формат 60 × 84 1/16. Гарнітура Таймс.
Друк офсетний. Обсяг: 10,7 ум.-друк. арк.; 12,9 обл.-вид. арк. Тираж 300.
Замовлення

Видавець та виготовлювач ФОП Бровін О.В.
61022, м. Харків, вул. Тринклера, 2, корп. 1, к. 19.
Т. (057) 758-01-08, (066) 822-71-30.

Свідоцтво про внесення суб'єкта до Державного реєстру видавців та
виготовників видавничої продукції серія ДК 3587 від 23.09.09 р.