

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

**МЕТОДИЧЕСКИЕ ЗАДАНИЯ ДЛЯ  
САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ**  
по дисциплине

**Б1.В.ДВ.1 Фитогельминтология**

Код и направление подготовки	<b>35.06.01 «Сельское хо- зяйство»</b>
Наименование профиля / программы подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре	<b>Защита растений</b>
Квалификация (степень) выпускника	<b>Исследователь. Преподаватель- исследователь</b>
Факультет	<b>Агрохимии и почвоведения, защиты растений</b>
Кафедра – разработчик	<b>Фитопатологии, энтомологии и защиты растений</b>
Ведущий преподаватель	<b>Замотайлов А.С.</b>

**Краснодар 2015**

## **Рекомендации по составлению методических рекомендаций для самостоятельной работы аспирантов**

При создании методических рекомендаций, предназначенных для *самостоятельной работы* аспирантов, необходимо соблюдать определенную последовательность действий:

1. Провести анализ рабочего плана, примерной программы по дисциплине, рабочей учебной программы и календарно-тематического плана.
2. Выбрать тему в соответствии с рабочей учебной программой.
3. Определить цель, задачи, объем, содержание, вид и структуру *самостоятельной работы* по данной теме.
4. Определить виды заданий и время, которое должен затратить аспирант на их выполнение.
5. Разработать систему контроля с критериями оценки предложенных заданий.
6. Составить список основной и дополнительной литературы по изучаемой теме.

### **1 Цель и задачи дисциплины**

**Цель дисциплины** – овладение аспирантами необходимым минимумом знаний в области нематологии и гельминтологии, требующимся для специальности «Защита растений», и практическое знакомство с нематодами – важнейшими вредителями (возбудителями болезней) сельскохозяйственных культур – и методами их выделения из растительного материала.

#### **Задачи дисциплины :**

- научно-исследовательская деятельность в области сельскохозяйственных наук;
- преподавательская деятельность в области сельскохозяйственных наук;
- подробно рассмотреть положение нематод в системе животного мира, особенности их строения, жизненного цикла и биологии;
- изучить видовой состав меры борьбы с фитонематодами;
- показать необходимость глубокого изучения систематики и экологии нематод для правильной организации работ по борьбе с этими вредителями.

Данная дисциплина является дисциплиной по выбору вариативной части ОП.

Для успешного освоения дисциплины необходимы знания по следующим дисциплинам и разделам ОП:

- История науки;
- Философия науки;
- Основы научно-исследовательской деятельности.

Знания, умения и приобретенные компетенции будут использованы при изучении следующих дисциплин и разделов ОП:

— Планирование развития карьеры и личности.

## **2 Требования к формируемым компетенциям**

Процесс изучения дисциплины направлен на формирование следующих компетенций:

### **а) Универсальные (УК):**

– способностью к критическому анализу и оценке современных научных достижений, генерированию новых идей при решении исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях (УК–1);

– способностью проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки (УК–2);

– готовностью участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач (УК–3);

– способностью следовать этическим нормам в профессиональной деятельности (УК–5);

– способностью планировать и решать задачи собственного профессионального и личностного развития (УК–6).

### **б) Общепрофессиональные (ОПК):**

– владением методологией теоретических и экспериментальных исследований в области сельского хозяйства, агрономии, защиты растений, селекции и генетики сельскохозяйственных культур, почвоведения, агрохимии, ландшафтного обустройства территорий, технологий производства сельскохозяйственной продукции (ОПК–1);

– владением культурой научного исследования в области сельского хозяйства, агрономии, защиты растений, селекции и генетики сельскохозяйственных культур, почвоведения, агрохимии, ландшафтного обустройства территорий, технологий производства сельскохозяйственной продукции, в том числе с использованием новейших информационно-коммуникационных технологий (ОПК–2);

– способностью к разработке новых методов исследования и их применению в области сельского хозяйства, агрономии, защиты растений, селекции и генетики сельскохозяйственных культур, почвоведения, агрохимии, ландшафтного обустройства территорий, технологий производства сельскохозяйственной продукции с учетом соблюдения авторских прав (ОПК–3);

– готовностью организовать работу исследовательского коллектива по проблемам сельского хозяйства, агрономии, защиты растений, селекции и генетики сельскохозяйственных культур, почвоведения, агрохимии, ланд-

шафтного обустройства территорий, технологий производства сельскохозяйственной продукции (ОПК–4).

**в) Профессиональные компетенции (ПК):**

– способностью понимать сущность современных проблем защиты растений, научно-технологическую политику в области производства безопасной растениеводческой продукции (ПК–1);

– готовностью использовать современные достижения в защите растений и передовые технологии в научно-исследовательских работах (ПК–6).

### **3. Формы самостоятельной работы**

Формы самостоятельной работы аспирантов определяются содержанием учебной дисциплины. Они могут быть тесно связаны с теоретическими курсами и имеют научно-исследовательский характер. Виды заданий для самостоятельной работы, их содержание и характер могут иметь вариативный и дифференцированный характер, в зависимости от специфики научного исследования.

### **4. Критерии оценки СР**

Для проверки уровня усвоения знаний и умений аспирантов можно использовать такие методы, как опрос (устный и письменный), контрольные задания, доклад (реферат).

Аспирант обязательно должен знать критерии оценки выполняемой работы.

Формой учета самостоятельной работы аспиранта может быть оценка с обязательным оценочным суждением преподавателя.

### **5. Рекомендации по работе с обязательной и дополнительной литературой, интернет-сайтами.**

Необходимо предусмотреть для аспирантов список обязательной и дополнительной литературы, необходимые интернет-сайты.

В рекомендациях преподаватель указывает для аспиранта возможность получения консультации, реальный срок сдачи выполненной работы.

### **Программа самостоятельной работы студентов**

Таблица 1

№ п/п	Форма самостоятельной работы	Форма контроля
1	Реферат по заданной теме научного исследования	Защита реферата
2	Подготовка к контрольным работам по заданным темам на основе пред-	Письменная контрольная работа

№ п/п	Форма самостоятельной работы	Форма контроля
	ложенных вопросов.	
3	Подготовка доклада в форме презентации по заданной теме.	Заслушивание доклада

## 6. Содержание тем и контрольные вопросы

Таблица 2

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
1	<p align="center"><b>Фитогельминтологическая экспертиза</b></p> <p>Для проведения фитогельминтологической экспертизы необходимо иметь оптические приборы, аппаратуру, мелкий вспомогательный инструмент и посуду, а также некоторые реактивы и материалы. В комплект оптических приборов входят биологические микроскопы типа МБИ-1, БИОЛАМ-СП, бинокляры МБС-9, рисовальный аппарат.</p> <p>Из аппаратуры необходимо иметь сушильный шкаф, термостат, центрифугу, прибор Фенуика, шкаф для препаратов, технические весы с набором разновесов и подставки или штатив для воронок. Из мелких инструментов для фитогельминтологических работ нужны обычные и гладкие скальпели, пинцеты и ножницы, бритвы, копыя, препаровальные иглы (обычные и тонкие) сделанные из самых тонких энтомологических булавок № 000,00, кисточки акварельные колонковые №1 и №2, набор металлических почвенных сит с ячейками 0,1; 0,25; 4,0 и 5,0 мм, мельничные шелковые сита с ячейками 0,01; 0, 02; 0, 08; 0,1 и 0,25мм, совок алюминиевый семенной маленький, шпатель деревянный для разборки семян, стекло настольное органическое размером 80х60 или 100х60 см с толщиной 0,5 см, кюветы эмалированные белые размером 24х30 и 30х40 см, штативы для пробирок, зажим Мора, тазы, металлические сетки с ячейками 2-6 мм для воронок.</p> <p>Из лабораторной посуды необходимы пробирки, стеклянные и пластмассовые воронки, чашки Петри, бюксы стеклянные с притёртой крышкой ёмкостью 25 и 50 мл, часовые стёкла диаметром 3,5 – 7,0 см, предметные и покровные стёкла, стеклянные и фарфоровые химические стаканы ёмкостью 0,5 – 1,0 л; мерные цилиндры, пипетки глазные, стеклянные палочки, капельницы, эксикаторы с притёртой крышкой, банки стеклянные широкогорлые ёмкостью 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 л, кегли фарфоровые ёмкостью 0,025-0,25 л, фарфоровые ступки с пестиками, спиртовки стеклянные. Из реактивов и вспомогательных материалов нужны: марганцевокислый калий, кислоты (соляная, уксусная), йод, фенол, глицерин чистый, спирт этиловый, спирт-ректификат и денатурированный, формалин, ацтон, фуксин кислый, метиленовая синь, желатин, агар-агар, парафин, бальзам пихтовый, асфальтовый лак, клей БФ-2, тушь чертёжная черная, вата, фильтры, капроновая или нейлоновая ткань, марля, клеенка (несколько кусков по 1 м<sup>2</sup>), плёнка полиэтиленовая бесцветная, пробки резиновые (№ 2, 4, 6 и 8), резиновые трубки, бумага белая не размокающая в воде (для этикеток), бумага фильтровальная, калька бумажная, перья чертёжные.</p> <p>Вся лабораторная посуда и инструменты перед каждым анализом должны</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>быть совершенно чистыми: стеклянная и эмалированная посуда, резиновые трубки, пипетки, пробирки. Металлические сита и сетки необходимо промыть и затем прокипятить в течение 10 минут, после этого сполоснуть чистой водой и просушить на воздухе или в сушильном шкафу при температуре 500С. Инструменты протирают 96%-ным спиртом или моют в горячей воде.</p> <p>Наиболее распространённым методом выделения червеобразных нематод из надземных частей растений, особенно при слабом заражении, является вороночный. Для этого достаточно иметь стеклянную или эмалированную воронку с надетой на конец резиновой трубкой (длинной 10-15 см), в нижний конец которой вставлена маленькая пробирка соответствующего диаметра для сбора выделенных нематод. Воронку с резиновой трубкой и пробиркой устанавливают в вертикальном положении, лучше всего в деревянном или металлическом штативе с отверстием для воронок. Для задержания расщеплённых частей анализируемых растений в каждую воронку вставляют капроновую сетку с отверстиями 1-3 мм. На сетку помещают предварительно приготовленный материал. После этого в воронку наливают воду, покрывая весь материал, находящийся на сетке. Вода должна быть нагрета приблизительно до +300С, так как при этой температуре подвижность большинства фитонематод возрастает. Необходимо следить за тем, чтобы при доливании воды в воронку в трубке не задерживался воздух, который нужно выжать пальцами. В воронку помещают этикетку с номером экспертизы и названием находящегося в ней материала, написанную простым карандашом. Нематоды, выходящие в воду из анализируемого материала проваливаются в ячейки сетки и опускаются на дно пробирки. Через 6-24 часа пробирку осторожно, чтобы не взболтать находящуюся в ней воду, вынимают из трубки. Верхний слой воды резко стряхивают, а оставшуюся часть (высотой 1,5-2,0 см) переносят при помощи пипетки на предметные или часовые стёкла и просматривают под биноклем на наличие нематод. Вместо пробирки на нижний конец трубки можно надеть зажим Мора. При этом, нематоды, вышедшие в воду из анализируемого материала, опускаются и скапливаются внутри резиновой трубки под зажимом. Через 6-24 часа зажим открывается, часть находящейся под ним воды выпускается в чашку Петри и они просматриваются под биноклем на наличие нематод. Эту воду можно собрать в центрифужную пробирку, центрифугировать 1 минуту, а затем осадок выбрать пипеткой со дна пробирки.</p> <p>Вороночным методом можно извлекать нематод из свежего, не фиксированного растительного материала, а также из сухих растений, предварительно дав им, как следует размокнуть. Он служит для выделения личинок и только тех взрослых нематод, которые способны к активному движению. Выделение нематод из растений можно проводить в различных сосудах. Расщеплённое растение или его отдельные части помещают в сосуд, заливают водой и оставляют на 3-4 часа. Нематоды, выходящие из анализируемого материала, опускаются на дно сосуда. Растения, или его части, исследуют на наличие нематод, последовательно переливая в чашку Петри и просматривая под биноклем небольшие количества жидкости. Если к извлечению нематод, обнаруженных в жидкости, нельзя приступить сразу, то пробирку фиксируют крепким формалином с таким расчётом, чтобы в сосуде получить 4-6%-ный его раствор. На этикетке указывают дату фиксации. При наличии ярко выраженных признаков заболевания, нематод легко обнаружить в пораженных органах. Для этого поражённую часть растений расщепляют под биноклем или</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>лупой препаровальными иглами в воде в чашке Петри. Через 20-30 минут воду просматривают на наличие нематод. Обнаруженных нематод переносят на предметное стекло для определения под микроскопом. Для этого рекомендуется сначала приподнять извлекаемую нематоду тонкой препаровальной иглой со дна сосуда к плёнке поверхностного натяжения воды, затем иглу передвинуть под тело нематоды, быстрым движением перенести её на конце иглы в каплю воды, находящуюся на предметном стекле, и накрыть покровным стеклом.</p> <p>Для выделения червеобразных нематод, обитающих в почве, вокруг корней того или иного растения, из пробы, отобранной для анализа на наличие цистообразных нематод, выделяют 1-10 см<sup>3</sup> почвы и просеивают через сито с ячейками 1-2 мм. после этого почву высыпают в стакан и размешивают в 10-100 мл воды. Сухую почву при этом выдерживают в воде до полного размокания частиц (часа два), после чего её промывают на сите их мельничного газа. Влажную почву можно повергнуть промывке сразу. Осадок, оставшийся на сите после промывки, смывают в чашки Петри и по частям просматривают на наличие нематод под бинокляром. Если нематод из этого осадка почему-либо нельзя выбрать сразу, их надо зафиксировать.</p> <p>Выделять червеобразных нематод из почвы можно и вороночным способом. Чтобы получить осадок, 1-10 см<sup>3</sup> исследуемой почвы, предварительно замоченной в воде, помещают на молочный фильтр или марлевый мешочек и переносят на металлическое сито, осторожно погружая в воронку, предварительно наполненную чистой водой. Через 1-2 суток пробирку вынимают из резиновой трубки и воду из неё просматривают под бинокляром на наличие нематод.</p> <p>Кроме описанных методов, можно применять центрифугирование и пресивание. Выделение червеобразных нематод из прикорневой почвы следует проводить в течение трёх суток с момента отбора образцов. При хранении нематод нельзя допускать высыхания почвы, её необходимо систематически увлажнять, следует применять упаковку, предохраняющую от быстрого испарения влаги (полиэтиленовые мешочки).</p> <p>Для приготовления постоянных тотальных препаратов цисты, из которых необходимо сделать препараты, помещают на часовое стекло, в маленькие пробирки или бюксы со смесью спирта с глицерином (3 части спирта 96%-ного и 1 часть глицерина). После того как спирт испарится (через 6-7 дней или более) и нематоды просветлятся, цисты переносят на предметное стекло в расплавленную каплю глицерин-желатины, которую окружают стеклянными волокнами (из стеклянной ваты) накрывают покровным стеклом и слегка подогревают для равномерного распределения глицерин-желатины. На следующий день счищают глицерин-желатину, вышедшую из под покровного стекла и окантовывают стекло клеем БФ-2 или асфальтовым лаком. Можно помещать нематод сначала в чистый глицерин, а потом в глицерин-желатину. Глицерин-желатину готовят следующим образом: 10 г. желатины в измельченном виде помещают в колбу, заливают 60мл дистиллированной водой и оставляют набухать в течение нескольких часов. Затем подогревают колбу с желатиной, вливают в неё 40 мл. глицерина и полученный состав нагревают на водяной бане до полного растворения желатины, после этого смесь фильтруют через стеклянную вату в термостате и добавляют в неё 1г. карболовой кислоты. Глицерин-желатину разливают по пробиркам или колбочкам, кото-</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>рые закрывают корковыми или резиновыми пробками. При остывании она превращается в студнеобразную массу.</p> <p>Временные тотальные препараты готовят из живых или фиксированных нематод. На предметное стекло с каплей воды или глицерина помещают цисты самок нематод - живых или взятых из формалина или из смеси спирта с глицерином после испарения спирта. Под покровное стекло помещают несколько волокон стеклянной ваты, чтобы не раздавить самок.</p> <p>Для изучения структуры анально-вульварной пластинки отбирают зрелых самок с заключёнными внутри них яйцами в стадии зародыша и отрезают заднюю часть тела. Для этого из препаровальной иглы изготавливают скальпель, затачивают его, нагревают до красна и опускают в растительное масло (во избежание изменений хрупкости). Можно пользоваться тонкими медицинскими иглами для уколов или глазным скальпелем. Самку помещают на предметное стекло в каплю воды, глицерина или лактофенола (1г. карболовой кислоты, 1г. фенола, 0,8 мл. молочной кислоты, 2г. глицерина и 1мл. дистиллированной воды) и под бинокляром отсекают у неё задний конец тела, на котором находятся вульва и анус. Самку при этом придерживают препаровальной иглой. Отрезанную часть очищают от яиц, внутренних органов и помещают на предметное стекло так, чтобы наружная часть кутикулы была обращена к глазу исследователя. После этого срез накрывают покровным стеклом и просматривают при большом увеличении, а также с использованием иммерсионной системы. Если препарат сделан удачно, рисунок очень хорошо виден, и можно проводить определение. Для изготовления постоянных препаратов срезы выдерживают одни сутки в лактофеноле, затем переносят в чистый глицерин на одни сутки и заделывают в расплавленной капле глицерин-желатины. Под покровное стекло по краям помещают волокна стеклянной ваты.</p> <p>Нематод лучше определять в живом состоянии, так как при этом яснее видны детали строения. Для этого изготавливаются временные препараты. Нематод переносят на предметное стекло в каплю воды, и накрывают покровным, положив вокруг капли в нескольких местах 3-4 волокна стеклянной ваты, толщина которых приблизительно равна толщине исследуемых нематод. При высыхании воды её добавляют пипеткой с края покровного стекла.</p> <p>Чтобы иметь возможность измерять нематод, необходимо остановить их движение. Для этого предметное стекло с нематодами осторожно нагревают с нижней стороны над небольшим пламенем спиртовой горелки в течение 5-6 секунд до прекращения движения нематод путем прибавления под покровное стекло одной капли 1% раствора хлоралгидрата. Перед приготовлением временных препаратов из фиксированного материала полезно подогреть его в течение 5 минут на водяной бане с температурой 55°C. Предварительное подогревание материала позволяет несколько ускорить "просветление" нематод. После этого нематод, подлежащих определению, вынимают из фиксирующей жидкости, помещают на предметное стекло в каплю дистиллированной воды, лучше с добавкой глицерина (от 6 до 50%). Далее сверху покрывают теплым покровным стеклом и оставляют в этой смеси, пока вода не испарится, а нематоды не станут достаточно прозрачными и не исчезнет морщинистость кутикулы (1-10 дней). Следует учитывать, что объем раствора глицерина несколько уменьшается за счет испарения воды, поэтому под покровное стекло нужно добавить каплю чистого глицерина. Для окраски нематод в раствор глицерина</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>добавляют немного метиленовой сини. После определения, нематод отмывают от глицерина в воде, и снова помещают в пробирку с фиксирующей жидкостью для хранения.</p> <p>Перед изготовлением постоянных микроскопических препаратов, нематод из фиксирующей жидкости переносят на предметное стекло в каплю дистиллированной воды с глицерином (1 часть глицерина на 16 частей воды) или в каплю смеси из трёх частей 96%-го спирта и 1 части глицерина, где и оставляют на несколько дней при температуре 200С до просветления нематод и полного испарения воды или спирта. После этого на предметное стекло добавляют каплю глицерина, а вокруг нематод кладут волокна стеклянной ваты, такой же толщины, как нематоды, и накрывают тёплым покровным стеклом.</p> <p>Для лучшей сохранности постоянных препаратов их окантовывают по краям покровного стекла канадским или пихтовым бальзамом, асфальтовым лаком или клеем БФ-2. Участки препарата, в которых находятся нематоды, рекомендуется с нижней стороны предметного стекла обвести тушью. По обеим сторонам покровного стекла на предметное стекло клеем наклеивается этикетка, написанная тушью. На одной этикетке указывают латинское название нематоды, количество самок, самцов и личинок в препарате, фамилию специалиста, определившего вид нематоды. На другой этикетке указывают номер протокола экспертизы, название растения и дату экспертизы. Если нематоды выделены из почвы, то на этикетке отмечают тип почвы, растущую на ней культуру, глубину взятия пробы, вид нематоды и количество экземпляров, местность и дату сбора. Все данные можно написать прямо на предметном стекле тушью или специальными чернилами.</p> <p>При определении нематод большое значение имеют размеры частей тела и соотношение между ними. Измерения проводят при помощи окулярного микрометра. Необходимо измерять длину тела от головного конца до кончика хвоста, ширину тела в области вульвы у червеобразных самок и наибольшую ширину тела самцов и самок родов <i>Heterodera</i> и <i>Meloidogyne</i>, длину пищевода от головного конца до основания бульбуса, длину хвоста от ануса до кончика хвоста, расстояние от головного конца до вульвы (оно выражается в процентах от общей длины тела). Этих данных достаточно для вычисления отношений альфы, бета и гамма, предложенных Де Маном. Кроме того необходимо измерять длину стилета спикул (от переднего края головки до их вершины) рулька длину и ширину яиц длину маточного мешка. На основании этих данных и морфологического описания проводят определение нематод.</p> <p style="text-align: center;"><b>Контрольные вопросы:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Что подлежит фитогельминтологической экспертизе?</li> <li>2. Какова методика и методы фитогельминтологической экспертизы и от чего она зависит?</li> <li>3. Какое оборудование и техника необходимы для фитогельминтологического лабораторного анализа?</li> <li>4. Методы измерения червеобразных нематод?</li> <li>5. Способами изготовления микроскопических препаратов из нематод?</li> </ol>
2	<p style="text-align: center;"><b>Строение тела нематод. Выделение сапрозойных нематод из гниющих частей растений, изготовление временных препаратов</b></p> <p>Сапрозойные нематоды развиваются в гниющих частях растений и прилежащей к ней почве. Для выделения необходимо соскрести препаративной</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>иглой содержимое гнилостных очагов и прилежащие частицы почвы в каплю воды, помещенную на предметное стекло или чашку Петри. Образец микро-скопируется, после нахождения объекта его переносят в чистую каплю воды на другое предметное стекло с помощью изогнутой на конце энтомологической булавки № СО. Для уменьшения живых нематод (обездвиживания) стекло с объектом нагревается на пламени спиртовки немного выше температуры тела (степень нагрева контролируется рукой). Ни в коем случае нельзя допускать закипания и испарения воды, что приведёт к потере тургора нематодой. Обездвиженная нематода заливается глицерином; изготавливается временный препарат, который микроскопируется. Необходимо брать пробы на наличие нематод из нескольких очагов загнивания, пока не будет найден объект. После изучения препарат снабжается этикетками и сдаётся на проверку.</p> <p>Тело нематоды в разрезе представляет двойную кожистую трубку (рис.2). Представители отряда нематод характеризуются наличием кольчатой кутикулы, ротовой полостью с колющим приспособлением, называемым копьём (иглой или стилетом). Для нанесения уколов копьё может высовываться наружу. В нём имеется полость, через которую выделяется секрет желёз пищевода, сапрозойные нематоды лишены копя.</p> <p>Ротовая полость переходит в узкий пищевод, в середине которого имеется мускулистое расширение, называемое бульбусом, играющее роль насоса при высасывании сока из растений. Пищевод переходит в кишечник. Граница между пищеводом и кишечником у одних нематод резко выражена, у других слабо заметна (например, у представителей семейства Aphelenohidae).</p> <p>Половой аппарат самцов состоит из парных палочковидных спикул, служащих для расширения вульвы, непарного палочковидного рулька, поддерживающего и направляющего движение спикул и бурсы, расположенной в области клоаки и, повидимому, имеющей значение во время копуляции полов. Рулек и бурса имеются не у всех нематод отряда.</p> <p>Анальное и половое отверстия самца находятся в общей клоаке. Женское половое отверстие – вульва – расположено отдельно от анального отверстия. Вульва может быть отодвинута назад и находиться вблизи анального отверстия, или быть в центре тела на брюшной стороне; у <i>Heterodera</i> вульва находится на кончике тела, а анальное отверстие может быть сдвинуто на спинную сторону.</p> <p style="text-align: center;"><b>Контрольные вопросы:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Выделение живых сапрозойных нематод.</li> <li>2. Перенос нематоды в каплю воды на предметном стекле и обездвиживание.</li> <li>3. Изготовление временных препаратов нематод.</li> <li>4. Строение нематод.</li> </ol>
3	<p style="text-align: center;"><b>Выделение галловых нематод из корней растений и изготовление их препаратов</b></p> <p>Корни растений исследуют на наличие галловой нематоды рода <i>Meloidogyne</i>. Галлы могут быть различных размеров (от миллиметра до нескольких сантиметров в диаметре). Самка галловой нематоды вздутая, колбообразной или грушевидной формы, мутно-белого цвета, с тонкой кутикулой (длина около 1 мм., ширина 0,6 мм.). Она бывает полностью погружена в ткани по-</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>раженного органа. Оплодотворённые самки выделяют через половое отверстие слизь, затвердевающую снаружи в плотную капельку: в которую откладывают яйца, образуя на заднем конце тела яйцевой мешок, окрашенный в коричневый цвет и выступающий на поверхности пораженного органа.</p> <p>При обнаружении на корнях растений галлов нематоды, отрезают один галл и помещают его в воду на предметное стекло. Под биноклем отыскивают яйцевой мешок, двумя препаровальными иглами осторожно разрывают галл со стороны, противоположной яйцевому мешку. При этом стараются не повредить тонкую кутикулу самки. Из расширенного галла в воду выпадает самка, а из разрушенного яйцевого мешка – яйца и личинки. Не следует галлы нематоды путать с клубеньками на корнях бобовых растений, образованных бактериями.</p> <p>Для выделения галловой нематоды клубни картофеля с внешними признаками заболевания разрезают на две части. В зараженном клубне самки находятся в поверхностном слое толщиной 0,5 см. С зараженных участков, имеющих вид светлых точек, делают соскоб и просматривают его под биноклем на наличие самок или яиц галловой нематоды.</p> <p style="text-align: center;"><b>Контрольные вопросы:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Как отделить участок корня огурца с галлом?</li> <li>2. Как извлечь самку или личинку галловой нематоды, перенести её в каплю глицерина на поперечное стекло?</li> <li>3. Как приготовить временный препарат и снабдить его этикетками?</li> <li>4. Каково строение галловой нематоды?</li> <li>5. Внешний вид корневой системы, самки, самца и яйца галловой нематоды?</li> <li>6. Методика выделения галловой нематоды?</li> </ol>
4	<p style="text-align: center;"><b>Анализ почвы и клубней картофеля на выявление картофельной нематоды. Определение цистообразующих нематод.</b></p> <p>Картофельная нематода может быть обнаружена на клубнях картофеля, на которых она паразитирует, а также в почве, приставшей к клубням, луковичкам, корням и прочим подземным частям других растений. В соответствии с этим клубни картофеля подвергаются непосредственному исследованию на картофельную нематоду, а с подземных частей других растений на картофельную нематоду, исследуют лишь приставшую к ним почву.</p> <p>Для выявления цист картофельной нематоды на клубнях картофеля, их поверхность внимательно осматривают с помощью лупы. Все образования, похожие по внешнему виду на цисты картофельной нематоды, снимают препаровальной иглой, смоченной в воде, переносят в каплю воды на предметное стекло и проверяют под биноклем.</p> <p>Для проверки на заражённость картофельной нематодой почву, приставшую к клубням картофеля и подземным частям других растений, составляющим один образец, смывают с них водой. После того как весь образец будет обмыт, смыв почвы небольшими порциями переносят, перемешивая, в чашку Петри и в ней с помощью лупы просматривают на наличие цист. Обнаруженные цисты или похожие на них частицы, извлекают глазной пипеткой, помещают на предметное стекло и просматривают под биноклем.</p> <p>Если материал обмывать нельзя, то почву с него стряхивают или осторожно соскабливают на стекло или на белую бумагу.</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>При небольшом количестве почвы в образце для исследования используют осадок центрифугата, полученные при фитопатологической экспертизе, которая обычно проводится перед фитогельминтологической. Если –почвы немного, из неё выделяют для анализа навеску весом до 100 г.</p> <p>Картофельная нематода– <i>Globodera rostochiensis</i>. Самка шарообразная, с вытянутым головным концом – “Шейкой”, которым она прикрепляется к корешку или клубню картофеля, задний конец округлый (рис. 7). Длина тела колеблется от 0,13 до 1 мм. и более, а ширина от 0,1 до 0,9 мм. Цвет сначала белый, затем золотисто-желтый, а к осени, когда самка превращается в цисту наполненную яйцами, постепенно переходит в бурый до темно-коричневого. В головном конце шейки расположен бульбус, а позади него пищеводные железы. Половые трубки парные, хорошо развиты. Вульва расположена на заднем конце тела, но может быть немного смещена к головному концу, совершенно не выступает. Рядом с вульвой находится анальное отверстие. Взрослые самки набиты яйцами. Яйца овальной формы с притупленными концами; длинна 90-120 мк., ширина 40-61 мк. Личинки, только что вылупившиеся из яйца, имеют длину 0,35-0,52 мм. при ширине 0,018-0, 025 мм. На главном конце расположен стилет со вздутием у основания. Пищевод имеет хорошо развитый бульбус.</p> <p>Тело самца червеобразной формы, длина его 0, 025-0, 030 мм. Имеются спиккулы и рулѐк. Кроме картофельной нематоды, в почве могут быть обнаружены другие цистообразующие нематоды из рода, которых нужно также определять и учитывать при экспертизе. В настоящее время описано более 40 видов паразитов растений. Особое внимание нужно обращать на нематод, по внешнему виду схожих с картофельной нематодой.</p> <p>При определении этих нематод в первую очередь изучают форму цист, которая может быть шарообразной, овальной, лимоновидной. Лимоновидные цисты имеют выступ в области вульвы (у свекловичной нематоды). Этим они отличаются от цист картофельной, табачной и других нематод с округлой формой заднего конца тела. Для определения вида нематод необходимо изготовить временные или постоянные микропрепараты как тотальные, так и с анально-вульварного участка тела.</p> <p>Определение картофельной нематоды – <i>Globodera rostochiensis</i>, и близких ей видов по анально-вульварной пластинке и другим признакам. Цисты картофельной нематоды шарообразные. На вульварной пластинке имеется одно круглое окно (фенестра); губы вульвы тонкие. Во время приготовления срезов губы часто выпадают, а на анально-вульварной пластинке остается лишь круглое отверстие. Анус в виде поры, от которой часто отходят две складки кутикулы, образующие римскую цифру Y. Расстояние от вульвы до ануса равно 4,5 вульвы.</p> <p>Личинка в яйце обычно свёрнута в четыре раза, длинна её 350-520 мк. Светлый (гиалиновый) хвостовой конец личинки по длине почти равен стилету. На наружной поверхности кутикулы имеются поперечные ряды микроскопических точек. Щель вульвы 9-12 мк, губы вульвы длиной 16-18 мк, шириной 6-9 мк.</p> <p>Цисты табачной нематоды – <i>Heterodera tabacum</i> по форме близки к цистам картофельной нематоды; длина их 0,46-0,68 мм, цвет бурый. На анально-вульварной пластинке также имеется одно круглое окно. От других близких видов цисты табачной нематоды отличаются наличием хорошо развитых ко-</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>лец кутикулы на кончике головного конца (шейки) самки. От картофельной нематоды они отличаются и иным отношением расстояния от ануса до ближайшего края вульварного растения к диаметру последнего: оно равно в среднем у картофельной нематоды 4, 6, у табачной нематоды 1,5. Анус небольшой, в виде поры. На поверхности кутикулы табачной нематоды видны зигзагообразные складки и многочисленные шипики. Кутикула вульвы имеет более светлую окраску, на губах вульвы тёмные точки. Длина губ вульвы около 16-20 мк, ширина 8-10 мк, длина щели вульвы 5-8 мк. Длина яйца 100-107 мк, ширина 43,5-50 мк. Длина личинки 410-572 мк, её стилет 22-26 мк, альфа 22-24 мк, то есть почти равен длине стилета. Хвост слегка округлён.</p> <p>Цисты <i>Heterodera leptonepia</i> - имеют светло-коричневый цвет, как у <i>Globodera rostochiensis</i>. Длина цисты 0,52-0,6 мм. Расстояние между вульвой и анусом такое же как у картофельной нематоды. Отверстие вульвы круглое и значительно больше, чем отверстие ануса, который просматривается в виде поры. Личинки очень тонкие (альфа 39), длина их 520-600 мк, а длина стилета около 18 мк. Светлый (гиалиновый) кончик хвоста личинки длиннее, чем стилет. В яйце личинка свернута в 7 раз, тогда как личинка картофельной нематоды свернута только 4 раза, альфа – 22.</p> <p>Цисты пшеничной цистообразующей нематоды – <i>Heterodera punctata</i> мелкие, светло-бурые, часто с землистым оттенком, матовые, удлинённо-овальной формы. Их можно определить по наличию на анально-вульварной пластинке двух округлых окон почти одинакового размера, широко расставленных (на 2-3 диаметра окна): одно из них вульва, другое анус. Кутикула цисты со слабым волнообразным рисунком и рядами точек примерно одинаковой величины. Длина самки 0,52 мм. Длина личинок 25-27 мк. Светлый (гиалиновый) кончик хвоста личинки в 1,5 раза длиннее стилета.</p> <p>Цисты тысячелистниковой нематоды – <i>Heterodera millefolii</i> имеют овальную форму тела с закруглённым задним концом. Цвет кутикулы светло-коричневый; без блеска. Длина тела самки 0,43-0,64 мм. Выделительная пора находится немного впереди середины бульбуса пищевода.</p> <p>Вульварная пластинка округлой формы, диаметр фенестры равен 31,5 мк. Длина полуфенестры около 65 мк. По строению кутикулы и по общей форме тела тысячелистниковая нематода наиболее близка к картофельной, у которой на поверхности кутикулы также имеются поперечные ряды точек. Однако у картофельной нематоды точки значительно крупнее и расположены более правильными рядами. Особенно это заметно, вокруг вульвы. У тысячелистниковой нематоды таких правильных округлых рядов точек нет, а вокруг вульвы точки располагаются короткими правильными рядами. Булле у тысячелистниковой нематоды расположены на некотором расстоянии друг от друга и от фенестры, группами или одиночно. Щель вульвы равна 35 мк, а не 9-12 мк, как у картофельной нематоды, кроме того она имеет другую форму. Длина яиц 122,5-140 мк, ширина 45-52 мк. Отношение длины яиц к ширине 2,69:1, а у картофельной нематоды 2:1. Из других цистообразующих нематод с округлым задним концом тела точечная структура поверхности кутикулы имеется у пшеничной цистообразующей нематоды – <i>Heterodera punctata</i>, но точки у последней отличаются более вытянутой формой. Кроме того, у самок <i>Heterodera punctata</i> две фенестры (анальная и вульварная), что резко отличает её от тысячелистниковой нематоды.</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p style="text-align: center;"><b>Контрольные вопросы:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Как выглядят клубни и корневая систему картофеля, пораженного картофельной нематодой.</li> <li>2. Опишите основные диагностические признаки и методы экспертизы материала на картофельную нематоду.</li> <li>3. Методы определения картофельной нематоды и близких к ней видов по анально-вульварной пластинке?</li> <li>4. Анально-вульварные пластинки цистообразующих нематод, сравнительные признаки?</li> </ol>
5	<p style="text-align: center;"><b>Ознакомление с вороночным и другими методами выделения фитонематод на примере рисового афеленха.</b></p> <p>Рисовый афеленх – стройная, очень тонкая нематода, форма тела у самок и самцов одинаковая. Тело у головного и хвостового концов сужено, покрыто тонко-кольчатой прозрачной кутикулой. Кольчатость кутикулы прерывается по бокам так называемыми боковыми полями – своеобразными утолщениями эпидермиса, идущими вдоль всего тела в виде полос. Голова резко обособлена перетяжкой. Головной рисунок тонкий, с преломляющимися 6-лучевыми строениями. Ротовая капсула снабжена хитинизированным образованием в виде иглы – стилетом, с ясно выраженными вздутиями у основания. Пищевод типично афеленхоидный и не имеет резкого отграничения от кишечника. Кишечник открывается через короткую прямую кишку анусом на брюшной стороне, вблизи заднего конца тела. Вокруг пищевода в его передней железистой части расположено нервное кольцо равное ширине тела. Экскреторная пора расположена позади края бульбуса.</p> <p>Долька пищеводной железы составляет пятикратную ширину тела. Половая система имеет трубчатую форму, яичник относительно короткий, с ооцитами, расположенными в несколько рядов. У самок функционирует только передний кишечник, задний редуцирован. Всего 46656654 имеется мешковидный остаток задней матки (рудиментарная матка). Мужские половые органы тоже не парные.</p> <p>Выводной проток семенника открывается в клоаку. Спикулы серповидно изогнутой формы, типичные для рода <i>Aphelenchoides</i>. Длина спикул (измерение хорды) 14-16,4 мкм. Рулѣк и бурса отсутствуют. Хвост самки и самца со сложным мукро. Хвост конически сужен и заканчивается характерными для его вида четырьмя маленькими шипиками. Форма шипиков напоминает звезду. Хвост самца часто загнут на брюшную сторону. На брюшной стороне за клоакой посередине хвоста и вблизи его кончика расположены три пары сосочков. Нематода развивается яйцами. Самки обладают способностью размножаться партеногенетически. Длина тела самки 0,60-0,88 мм; длина тела самца 0,44-0,77 мм. Яйцо имеет удлинѣнную почковидную форму с тонкой двухконтурной оболочкой. Длина его 88 мкм, ширина 17,6 мкм. Этот паразитический вид относится к группе эктопаразитических фитогельминтов.</p> <p>Продолжительность жизни рисового афелинуса 30-50 дней. За это время самка способна отложить около 1000 яиц. Из них при оптимальных температуре и влажности через 10-13 часов выходят личинки 2 возраста, которые интенсивно питаются, в течение двух суток превращаются в личинок 3-4 возрастов. Последние становятся половозрелыми при питании на растении в течение последующих четырех часов.</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>Рисовый афеленх в процессе питания повреждает целостность клеток растительной ткани риса. При этом создаются условия для проникновения в разрушенные участки ткани возбудителей грибных и бактериальных заболеваний, вызывая так называемые «комплексные» болезни, ускоряющие болезнетворный процесс и нередко гибель самого растения. Например, имеет место вспышки – «комплексной» болезни перикоуляриоза и гельминтоспориоза с «беловершинностью» риса при некачественно проведенном протравливании семян риса перед посевом.</p> <p>Рисовый афеленх, размножаясь на растении в массовом количестве (до 1000 экземпляров на одну метёлку и до 60 экз. нематод на одну зерновку), вызывает интоксикацию, нарушает физиологические процессы в растении, что приводит к отставанию в росте и замедлению его развития, к измельчению метёлок. Признаки «беловершинности» риса: низкорослость растений, истончение и ломкость стеблей, верхушки листьев на 3-5 см, и развивающихся метёлок становятся хлорозными, приобретая белую окраску (бумажная хлорозность). Отсюда происходит и само название болезни – «беловершинность». При сильной степени поражения, побелевшие участки темнеют и становятся коричневыми. Верхушки развивающихся листьев закручиваются в спираль и сморщиваются, постепенно усыхая. Деформация листьев и раскручивание листового влагалища затрудняет высвобождение образующейся метёлки.</p> <p>Характерным признаком этой болезни является мозаичность и скручивание отрастающих листьев. На сильно пораженных растениях наблюдается срастание последнего листа (флага) в виде трубки с перемычкой напоминающей стеблевой узел, над отрастающей метёлкой. В этом случае, сильно деформированная метёлка, прорывает окружающие её оболочки листовой ткани и выходит наружу. Нередко из листовых оболочек выходит только верхняя часть метёлки.</p> <p>В условиях высоких температур воздуха, верхушки листьев пораженных растений сильно восприимчивых сортов приобретают наиболее выраженную хлорозную, белую окраску и становятся хорошо заметными на посевах. Сильно поражённые метёлки содержат до 90% пустых и щуплых зёрен, в связи с этим не проникают вниз. Истончение стеблей заражённых растений приводит к потере прочности соломины и последующему полеганию. В результате повреждения листьев замедляется общий рост растений, укорачиваются метёлки, уменьшается число колосков. У зараженных растений увеличивается процент неоплодотворённых цветков, задерживается созревание метёлки.</p> <p>По внешним признакам больных растений определить поражение рисовым афеленхом можно лишь в немногих случаях. Поэтому в лабораторных условиях необходимо проанализировать образцы больных растений, выделить нематод из них и сравнить их общие морфологические признаки с описанными в литературе. Наиболее простой метод анализа на зараженность рисовым афеленхом – выдерживание измельченных частей растений в воде при температуре 25-30 °С в течение 6-12 часов. В этих условиях активные нематоды покидают растительные ткани и могут быть обнаружены в воде через биноккулярную лупу при увеличении в 40-60 раз. Рисовый афеленх выделяется из стеблей и метёлок (семян) вороночным методом Бермана.</p> <p>Прибор состоит из эмалированной, стеклянной или пластмассовой воронки (диаметр 15 см), с надетой на её конец резиновой трубкой (длинной 10-15</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>см), в нижний конец которой вставляют энтомологическую пробирку соответствующего диаметра для сбора выделенных нематод. В случае отсутствия энтомологической пробирки можно надеть пружинный зажим Мора. Воронку с резиновой трубкой и с пробиркой (зажимом) устанавливают в вертикальном положении, лучше всего в деревянном штативе со специально изготовленными отверстиями для воронок или в штативах Бунзена с кольцами, или пользуются прибором массовой фильтрации ПМФ-10. В воронки помещают мелкоячеистые сита (размер ячеек 1-2 мм), которые фиксируются тремя крючками к верхнему краю воронки. На сито помещают исследуемый материал тонким слоем.</p> <p>Метод анализа метёлок на заражение рисовым афеленхом подбирают в зависимости от степени зрелости зерна. Если большинство зёрен находится в стадии восковой или полной спелости, то их обмолачивают. Наиболее приемлем для этого следующий способ. Под чашку Петри, лежащую вверх дном на столе или листе фанеры, помещают метёлку риса и слегка прижимают её основание краем чашки. Затем метёлку протягивают через щель между столом и краем чашки. При некотором навыке за одну операцию можно обмолотить все зёрна метёлки, которые остаются под чашкой. Обмолоченные зёрна подвергают анализу на заражение афеленхом, одним из приведённых ниже методов. Если для анализа переданы не созревшие метёлки риса, то их нарезают ножницами на небольшие отрезки – 0,5-1,5 см. Не вышедшие полностью из влагалища листа из-за сильного поражения нематодой метёлки нарезают вместе с кроющим листом. Отрезки метёлок тщательно перемешивают и отбирают из них навеску 20 г. При необходимости в зависимости от цели и задачи исследования, метёлки подвергают анализу каждую в отдельности. Выделение нематод из растительной ткани лучше проводить вороночным методом.</p> <p>Для улучшения выхода афеленха из под чешуек риса, семена анализируются в восковой – полной спелости, предварительно обрушенные в фарфоровой ступке. Их слегка растирают пестиком до отделения чешуек, не допуская при этом сильного дробления зерна, так как выдержка будет мутной. Для ускорения этого процесса применяют электромельничку. Для максимального выхода нематод из анализируемого материала, температура воздуха в лаборатории должна быть не ниже 18 °С.</p> <p>В подготовленные воронки на сито осторожно переносят анализируемый материал. После этого в воронку по стенкам наливают воду так, чтобы были покрыты все обрушенные зёрна и чешуйки, находящиеся в сите. Вода должна иметь температуру 25-30 °С, так как при этой температуре подвижность паразита возрастает. В воронку помещают этикетку с номером экспертизы и названием материала, находящегося в ней, написанную простым карандашом.</p> <p>Нематоды, выходящие из семян в воду, проваливаются в ячейку сита и опускаются на дно пробирки. Через 12 часов пробирку снимают с резиновой трубки, жидкость встряхивают и выливают в часовое стекло, анализируют под биноклем МБС-1 или МБС-2. Вместо часовых стёкол можно использовать чашки Петри с разграфлённым стеклогоршком или тушью дном. Для анализа проб более удобно использовать специальные счетные камеры из оргстекла. При использовании зажима Мора жидкость из воронки через узкий конец сливают в чашки Петри объёмом до 10 мл и анализируют на наличие рисового афеленха.</p> <p>Анализ стеблей. Зрелые листья анализу не подлежат, так как не содержат</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>нематод. Стебли анализируемого растения мельчат на куски длиной 1-2 см. Пробу взвешивают. После тщательного перемешивания из пробы отбирают среднюю навеску в 10 г, которую ставят на вытяжку по вышеуказанному методу Бермана. Удобно пользоваться средней пробой с последующим пересчетом обнаруженных особей рисового афеленха на одно растение. Если нет воронок, нематод из растений можно выделить в различных сосудах (банки, стаканы и т.д.). Измельченный стебель (средняя навеска) помещают в сосуд, заливают водой в количестве 200-250 мл и оставляют на 5-6 часов. Нематоды выходят из ткани растения в воду и опускаются, канцентрируясь на дне сосуда. Кусочки растений удаляют в течение 1. Верхний слой её осторожно сливают, а нижний с осадком исследуют под бинокляром по частям. Количество особей рисового афеленха в пробе регистрируется.</p> <p>Если проводится массовый анализ пробы, и просмотреть её в тот же день не успевают, то водную нематодную вытяжку, полученную из стеблей, сливают в пробирки или другую посуду. Эtiquетируют, добавляют продажный 40% -ный формалин до получения раствора 5% -ной концентрации. Если осадок собран в энтомологические пробирки, то в них добавляют по 2-3 капли формалина.</p> <p>Анализ семян. Лабораторному анализу подлежат семена от всех семенных партий (суперэлита, элита и различные репродукции риса), подлежащих высеву на семеноводческих и селекционных полях, а также в различного рода хозяйствах и передаваемых в реализационную базу, независимо от результатов полевого обследования. Перед анализом образец (1кг) высыпают на гладкую поверхность, тщательно перемешивают, разравнивают в виде квадрата толщиной не более 1см, от которого при помощи совочка отбирают для получения средней пробы (100г) выемки в шахматном порядке. Каждая навеска предназначена для анализа, должна составлять 20г (отбирают 5 таких навесок – 100г).</p> <p>Если перед исследователем стоит задача установить только наличие в партии семян рисового афеленха, то при обнаружении его в первой или второй навесках, остальные 3-5 можно не анализировать. При определении же степени заражения афеленхом обследуемой партии семян риса, анализу подлежат все пять навесок, то есть 100г. Выделение нематод из семян проводят вороночным методом, описанным выше, при этом пробы следует заливать водой дважды.</p> <p>Экспрес-метод выделения нематод. Экспрес-метод выделения нематод в семенах риса применяют при массовых анализах семенного материала, что позволяет значительно сократить время на анализ партии. Из средней партии (100г) отбирают 10 навесок зерна по 10 г. Пробы подлежат тщательному анализу, так как при балле 1 55e00***(?, нематоды нередко регистрируются лишь в 8-10 навесках. Навеску помещают в бытовую электрическую кофейную мельницу и обрабатывают при встряхивании 2-4 с. (в случае отсутствия мельницы семена надкалывают в лабораторной ступке). Затем семена высыпают в чашку Петри и заливают 10 см<sup>3</sup> 1-0,5% -ным раствором перекиси водорода, при температуре 18-22 °С (перекись водорода, применяемая вместо чистой воды, ускоряет выход нематод из состояния анабиоза). Пронумерованные чашки Петри закрывают крышками и помещают в термостат при температуре 30 °С, которая способствует активизации нематод. Через – 4ч содержимое чашек просматривают в проходящем свете под биноклярной лупой при увеличении в 40 раз. При подсчёте среднего количества нематод в 10 по-</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>лях зрения бинокля, зерна риса и колосковые чешуйки аккуратно сдвигают к краю с помощью энтомологической иглы.</p> <p style="text-align: center;"><b>Контрольные вопросы:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Составить краткое анатомо-морфологическое описание рисового афеленха, охарактеризовать признаки поражения растений.</li> <li>2. Описать методы выявления рисового афеленха в различных частях растений.</li> <li>3. Используя имеющееся оборудование для выделения нематод из растительного материала, поставить опыт по выявлению рисового афеленха в семенах риса вороночным методом.</li> <li>4. Проанализировать водную нематодную вытяжку, полученную вороночным методом, на наличие рисового афеленха. Изготовить временный препарат рисового афеленха и рассмотреть особенности его строения.</li> </ol>
6.	<p><b>Выделение земляничной нематоды и стеблевой нематоды на землянике и луке, пшеничной нематоды из галлов и изготовление их временных препаратов</b></p> <p>Анализ на выявление земляничной нематоды подвергают только надземные части земляники, в которых локализуется нематода. Их просматривают микроскопически, отыскивая внешние признаки заболевания, которые проявляются только при сильном заражении и бывают очень разнообразны. Для больных растений характерны изменения листовых пластинок – доли пластинки листа становятся более узкими и ассиметричными, черешки листьев утончаются и теряют опушение. Листовая пластинка становится жесткой на ощупь, темно-зеленой, блестящей. Иногда в центре сердечка листа бывают очень мелкими, листовая пластинка у них сильно редуцируется или совсем отсутствует, при этом имеется 1-3 небольших цветоноса.</p> <p>Заболевание земляники, известное под названием «цветная капуста», встречается реже. У больных растений наблюдается сильное укорачивание, утолщение и даже срастание черешков листьев и цветоносов, образование большого количества новых почек и деформация цветков. Листья с ненормально разросшимися прилистниками имеют желтовато-зеленый цвет. Больные растения отстают в росте. Выделение земляничной нематоды, а также стеблевой нематоды на землянике из растительного материала можно проводить вороночным методом, однако почки и розетки листьев, а также части растений с явно выраженными признаками заболевания можно расщеплять в воде в чашке Петри или на часовом стекле. Через 20-30 минут осадок просматривают под биноклем. Если обнаружены нематоды, вышедшие из расщепленных частей растений, их переносят на предметное стекло в каплю воды для определения под микроскопом.</p> <p>Земляничная нематода - <i>Aphelenchoides fragariae</i>. Длина тела самки 450-800 мк, ширина 12-15 мк; альфа 45-60, бета 9-11, гамма 12-22. Вульва удалена от головного конца тела на расстояние равное 64-72% длины тела. Длина тела самца 480-650 мк, ширина 12-15 мк; альфа 46-63, бета 9-11, гамма 16-19.</p> <p>Тело нематоды цилиндрическое, стройное, суженное к обоим концам. Головная капсула высокая, но не выдается за контуры тела. Стилет длинный около 10 мк, тонкий, с ясными не крупными базальными головками. Нервное кольцо расположено позади бульбуса на расстоянии, равном ширине тела. Боковое поле с двумя линиями. Экскреторная пора распо-</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>ложена на уровне нервного кольца. Пищевод афеленхоидный. Яичник один. Задняя матка занимает около 2/3 длины расстояния от вульвы до ануса. Хвост самок удлинённо-конический, с одинарным мукро. Щель вульвы слегка скошена. Самцы имеют один семенник. Спикулы афеленхоидные, с дорсальной стороны длинна 16-20 мк, с вентральной 10 мк. Хвост оканчивается одинарным мукро и несёт три пары напилл.</p> <p>Стелевая нематода на землянике вызывает укорачивание и искривление черешков, гофрировку листьев. Во избежание ошибок, определение земляничной нематоды следует проводить обязательно под микроскопом. Стеблевая нематода отличается от земляничной большей длиной тела (0,9-1,3 мм), теленхоидным строением пищевода. Альфа нематоды 30-35, бета 6-8, гамма 11-17, вульва 78-88%. Головная капсула хорошо выражена. Стиллет длиной 10-12 мк. Боковые поля с четырьмя линиями. Вульва расположена ближе к головному концу тела, чем у земляничной нематоды. Самцы имеют парные спикулы, рклёк и бурсу. Поражение стеблевой нематодой – <i>Ditylenchus dipsaci</i> всходы лука и чеснока утолщены, деформированы, с рыхлыми тканями. Растения, которые поражаются позднее, выглядят изуродованными, с сильно укороченными перьями, отходящими пучком.</p> <p>У дитиленхозных растений лука листья хрупкие и жёсткие, окраска неравномерная, позднее они становятся желтыми. Дитиленхоз ведёт к растрескиванию наружных чешуй в направлении от донца к шейке и к образованию трещин вокруг донца круговой или полулунной формы. Внутренние чешуи луковиц также утолщаются и обнажают нижележащие чешуи, образуя лохмотья в области донца. Во время хранения слабopоpажeнных луковиц внутренние чешуи могут быть разрушены стеблевой нематодой полностью, в то время как наружные сохраняются. Такие пустые луковицы часто встречаются у севка, хранящегося при относительно высокой температуре (выше 3<sup>0</sup>С), имеют рыхлую ткань, на ощупь «пухлые», наружные чешуи неравномерно окрашены и выглядят какбы подкошенными. При наличии достаточной влажности такие луковицы обладают характерным запахом, свойственным растениям, пораженным луковой нематодой.</p> <p>Растения чеснока, пораженные стеблевой нематодой, имеют много общего с дитиленхозными растениями лука. Стеблевая нематода откладывает большое количество яиц в тканях растений, и луковицы распадаются на зубки с основанием лимонно-желтого цвета. Возбудителем дитиленхоза лука и чеснока является луковая расса стеблевой нематоды. Она способна паразитировать в зелёных, наземных частях растений.</p> <p>Луковые дитиленхи – очень стройные нематоды (1-1,6 мм длиной и 40-60 мк шириной). Стиллет со вздутиями, небольшой и тонкий (11-13 мк длиной). Пищевод имеет овальный средний бульбус и отчетливо выраженный задний бульбус. Яичник доходит до высоты основания пищевода. Рудиментарная задняя матка просматривается на половину расстояния вульва-анус и приблизительно равна длине хвоста. На боковом поле имеется четыре линии. Самцы с бурсой, которая начинается перед спикулами и простирается примерно на три четверти длины хвоста. Личинки второго возраста длиной около 0,3 мм. Длина яиц в 2-3 раза больше ширины.</p> <p>Внутри пораженной ткани стеблевые нематоды находятся на различных стадиях развития. Популяции стеблевой нематоды из различных растений-хозяев морфологически неразличимы. Они предпочитают определённые виды</p>

№ темы лекции	Наименование темы, основные положения и контрольные вопросы
	<p>растений-хозяев, в которых дителенхи лучше всего размножаются, вызывая типичные симптомы дителенхоза. Такие популяции называются «расами». Более чем на 25 рас стеблевой нематоды луковая раса наиболее широко распространена на луке и чесноке.</p> <p>В лаборатории дителенхоз лука и чеснока определяются с помощью бинокуляра. Из пораженного органа растения берут кусочек ткани и помещают его в воду на предметное стекло. Под бинокуляром можно легко рассмотреть подвижную стеблевую нематоду. Если лук загнил, в нём могут размножиться сапробиотические нематоды, которых, как и дителенхоз, определяют только под микроскопом.</p> <p>Пшеничная нематода является вредоносной и её следует выявлять при экспертизе семян пшеницы, ячменя, ржи и овса. Предназначенный для экспертизы образец семян, высыпают на стекло и просматривают под лупой на наличие галлов пшеничной нематоды. Галлы пшеничной нематоды легко отличить по форме и величине. Они короче пшеничного зерна, имеют на одном конце заострённые отростки, которые легко обламываются. Цвет галла коричневый или почти чёрный. В отличие от мешочков пыльной головки, легко раздавливаемых между пальцами, галлы пшеничной нематоды твёрдые. Для определения пшеничной нематоды галл нужно разрезать попалам в капле воды, при этом из него должна выйти белая мучнистая масса, состоящая из множества личинок нематоды. Личинки хорошо видны под микроскопом, через несколько часов они начинают активно передвигаться.</p> <p style="text-align: center;"><b>Контрольные вопросы:</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Как провести анализ образцов земляники, лука и чеснока (свежих и консервированных) на наличие земляничной и стеблевой нематод.</li> <li>2. Как провести анализ зерна пшеницы на наличие пшеничной нематоды?</li> <li>3. Как изготовить временные препараты найденных объектов?</li> <li>4. Опишите признаки повреждения растений и морфологию земляничной и стеблевой нематод.</li> </ol>

Перечень учебно-методического обеспечения для самостоятельной работы обучающихся по дисциплине (модулю):

1. Список литературы и источников для обязательного изучения;
2. БД издательства ELSEVIER;
3. Научная электронная библиотека, БД e-library;
4. Полнотекстовая БД диссертаций РГБ;
5. Афонин А.Н. Агрэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения [Интернет-версия 2.0] / А. Н. Афонин, С. Л. Грин, Н. И. Дзюбенко, Я. Н. Фролов // СПб., 2008. – Режим доступа: <http://www.agroatlas.ru>.
6. Бондаренко Н.В., Пегельман С.Г., Гуськова Л.А. Вредные нематоды, клещи, грызуны / Н. В. Бондаренко, С. Г. Пегельман, Л. А. Гуськова // Учебник для студентов сельскохозяйственных институтов по специальности «Защита растений». – М.: Колос, 1993. – 269 с.

7. Бэкер Э. **Введение в акарологию** / Э. Бэкер, Г. Уартон // М.: Изд-во иностр. литературы, 1955. – 476 с.
8. Вайшер Б. Знакомство с нематодами: общая нематология Б. Вайшер, Д. Д. Браун // Учебник для студентов. София-Москва: КМК, 2001. – 206 с.
9. Громов И. М. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны / Ред. А. А. Аристов, Г. И. Баранова // СПб: ЗИН РАН, 1995. – 522 с.
10. Кирьянова Е. С. Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними / Е. С. Кирьянова, Э. Л. Кралль // Т. 1, 2. М.: Наука, 1969, 1971. – 448 + 522 с.
11. Поляков И. Я. Вредные грызуны и борьба с ними / И. Я Поляков // Л.: Колос, 1968. – 255 с.

## **7 Учебно-методическое обеспечение дисциплины**

### **7.1 Нормативная, основная, и дополнительная литература**

#### **Нормативная литература:**

1 Список пестицидов и агрохимикатов, разрешённых к применению на территории РФ / Изд. «Агрорус.–М. (2011–2014 г.г.)

#### **Основная литература:**

1. Фитопаразитические нематоды России / [С. В. Зиновьева, В. Н. Чижов, М. В. Приданников [и др.]; отв. ред. : С. В. Зиновьева, В. Н. Чижов] ; Рос. акад. наук, Ин-т пробл. экологии и эволюции им. А.Н. Северцова, Центр паразитологии. - М. : Т-во науч. изд. КМК, 2012. - 386 с.
2. Бондаренко Н.В. Вредные нематоды, клещи, грызуны / Н. В. Бондаренко, С. Г. Пегельман, Л. А. Гуськова // Учебник для студентов сельскохозяйственных институтов по специальности «Защита растений». М.: Колос, 1993. – 269 с.
3. Бондаренко Н.В. Вредные нематоды, клещи и грызуны. 2-е изд. / Н. В. Бондаренко, И. Я. Поляков, А. А. Стрелков // Ленинград: Колос, 1977. – 264 с.
4. Бондаренко Н.В. Практикум по вредным нематодам, клещам, грызунам / Н. В. Бондаренко, С. Г. Пегельман, А. В. Таттар // Ленинград: Колос, 1980. – 208 с.

#### **Дополнительная литература:**

Афонин А. Н. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения [Интернет-версия 2.0] / А. Н. Афонин, С. Л. Грин, Н. И. Дзюбенко, А. Н. Фролов // СПб., 2008. – Режим доступа: <http://www.agroatlas.ru>.

1. Бэкер Э. Введение в акарологию / Э. Бэкер, Г. Уартон // М.: Изд-во иностр. литературы, 1955. – 476 с.

2. Вайшер Б. Знакомство с нематодами: общая нематология / Б. Вайшер, Д. Браун // Учебник для студентов. София-Москва: КМК, 2001. – 206 с.
3. Вредители сельскохозяйственных культур и лесных насаждений. Т. 1. Вредные нематоды, моллюски, членистоногие / Под. ред. В. П. Васильева // Киев: Урожай, 1973.– 496 с.
4. Громов И. М. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны / Под ред. А. А. Аристова, Г. И. Баранова // СПб: ЗИН РАН, 1995. – 522 с.
5. Деккер Х. Нематоды растений и борьба с ними / Х. Деккер // М: Колос, 1972. – 433 с.
6. Жизнь животных. Беспозвоночные / Под ред. Л. А. Зенкевича // Т. 1. М.: Просвещение, 1968. – 580 с.
7. Кирьянова Е. С. Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними / Е. С. Кирьянова, Э.Л. Кралль // Т. 1, 2. М: Наука, 1969, 1971. – 448 + 522 с.
8. Лившиц И. З. Надсемейство Паутинные клещи – *Tetranychoidae*. Определитель вредных и полезных насекомых и клещей плодовых и ягодных культур в СССР / И. З. Лившиц, В. И. Митрофанов // Л.: Колос, 1984. – 288 с.
9. Митрофанов В. И. Определитель тетраниховых клещей фауны СССР и сопредельных стран (*Tetranychidae, Bryobiidae*) / В. И. Митрофанов, З. И. Стрункова, И. З. Лившиц // Душанбе: Дониш, 1987. – 224 с.
10. Паразитические нематоды растений и насекомых / Под ред. М. Д. Сонина // М.: Наука, 2004. – 320 с.
11. Парамонов А. Л. Основы фитогельминтологии / А. Л. Парамонов // Т. 1, 2, 3.–М.: Изд-во АН СССР, 1962, 1964, 1970. – 480 + 446 + 254 с.
12. Поляков И. Я. Вредные грызуны и борьба с ними / И. Я. Поляков // Л.: Колос, 1968. – 255 с.

**Информационно-телекоммуникационные ресурсы сети «Интернет»:**

1. Пример: Образовательный портал КубГАУ [Электронный ресурс]: Режим доступа: <http://edu.kubsau.local>
2. Официальный сайт Зоологического института РАН;
3. Офонин А.Н., Грин С.л., Дзюбенко Н.И., Фролов А.Н., Агроэкологический атлас России и сопредельных стран; экономически значимые растения, их вредители, болезни сорных растений (интернет - версия 2.0) - С.П., 2008г., режим доступа [www.agroatls.ru](http://www.agroatls.ru)
4. Официальный сайт ВНИИ БЗР., информационно-консультационная система, «Защита растений». Агробиотехнологии, биологический контроль вредных видов. Режим доступа [www.agrocs.ru](http://www.agrocs.ru)
5. [www.zin.ru/](http://www.zin.ru/)

6. [www.syngenta.ru](http://www.syngenta.ru), [sp.krasnodar@syngenta.com](mailto:sp.krasnodar@syngenta.com) официальный сайт фирмы «Сингента»
7. <http://www.syngenta.com/global/corporate/en/Pages/home.aspx> (ассортимент пестицидов )
8. [agro.basf.ru](http://agro.basf.ru), [agroportal...basf...BASFmelody.html](http://agroportal...basf...BASFmelody.html) официальный сайт фирмы «БАСФ» - ассортимент пестицидов и др.
9. [ximagro.ru](http://ximagro.ru) дуирон – официальный сайт фирмы «Дюпон» (ассортимент пестицидов, системы защиты полевых культур)
10. [www.bayercropscience.ru](http://www.bayercropscience.ru) (официальный сайт фирмы «БАЙЕР» (ассортимент пестицидов, системы защиты сельскохозяйственных культур)
11. [agro.basf.ru](http://agro.basf.ru) agroportal/linklisting/ru/262821... Всероссийский НИИ Масличных культур. Информационный сайт.

### 7.2. Перечень информационных технологий

- 1 Пример: Информационно-правовой портал «Гарант» [Электронный ресурс]: Режим доступа: <http://www.garant.ru/>
- 2 Microsoft Office 2007;
- 3 Statistica (data analysis software system), StatSoft Inc., 2001 (версия 6);
- 4 Тестовая программа AST;
- 5 Power-Point из пакета Microsoft Office.

### 7.3. Перечень учебно-методической документации по дисциплине

- 1 Стенин В. И. Методические указания для проведения лабораторно-практических занятий по курсу «Вредные нематоды и клещи» для студентов факультета защиты растений / В. И. Стенин, А. С. Замотайлов, А. М. Девяткин // Краснодар: КубГАУ, 1994. – 54 с.
- 2 Девяткин А. М. Практикум по сельскохозяйственной энтомологии / А. М. Девяткин, А. И. Белый, А. С. Замотайлов // Краснодар: КубГАУ, 2007. 5 220 с.

Разработчики:

К.с.-х.н., доцент

А.И. Белый

\_\_\_\_\_

Д.б.н., профессор

А.С. Замотайлов

\_\_\_\_\_