

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ КАРТОПЛЯРСТВА
ДЕРЖАВНА СЛУЖБА УКРАЇНИ З ПИТАНЬ БЕЗПЕЧНОСТІ ХАРЧОВИХ
ПРОДУКТІВ ТА ЗАХИСТУ СПОЖИВАЧІВ**

**МЕТОДИКА
ВИЗНАЧЕННЯ ПОСІВНИХ ЯКОСТЕЙ ТА
ПІСЛЯЗБИРАЛЬНОГО ОЦІНЮВАННЯ ПРЯМОГО
ПОТОМСТВА НАСІННЄВОЇ КАРТОПЛІ**

Вінниця
ТВОРИ
2024

М 54 Методика визначення посівних якостей та післязбирального оцінювання прямого потомства насіннєвої картоплі. Вінниця : ТВОРИ, 2024. 112 с., іл.

ISBN 978-617-552-648-4

В Методиці наведено основні методи визначення посівних якостей (бульбового аналізу) та післязбирального оцінювання прямого потомства насіннєвої картоплі, терміни та визначення понять, описи симптомів хвороб, лабораторні методи визначення латентної вірусної, віроїдної та бактеріальної інфекції.

Нормативні допуски для післязбирального оцінювання прямого потомства та бульбового аналізу насіннєвої картоплі наведено згідно з «Методичними вимогами у сфері насінництва щодо збереження сортових та посівних якостей насіннєвої картоплі», затвердженими наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України від 12 липня 2019 року № 384, зареєстрованим в Міністерстві юстиції України 29 липня 2019 р. за № 829/33800 та «Методикою визначення сортових та посівних якостей насіннєвої картоплі», затвердженою наказом Міністерства розвитку економіки торгівлі та сільського господарства України від 19 січня 2021 року № 91, зареєстрованим в Міністерстві юстиції України 09 березня 2021 р. за № 300/35922.

Методику розроблено з урахуванням положень Виконавчої директиви Комісії 2014/20/ЄС від 6 лютого 2014 року про визначення класів базової та сертифікованої насіннєвої картоплі, умов та позначень, які застосовують до цих класів, Виконавчої директиви Комісії 2014/21/ЄС від 6 лютого 2014 року про визначення умов мінімальності та класів Союзу доbazової насіннєвої картоплі та Директиви Ради 2002/56/ЄС від 13 червня 2002 року про торгівлю насіннєвою картоплею.

Видання розраховане на аудиторів із сертифікації (агрономів-інспекторів), фітосанітарних інспекторів, спеціалістів сільського господарства та насінництва, захисту та карантину рослин, вчених, студентів, аспірантів, магістрів аграрних та біологічних навчальних закладів.

УДК 635.21:631.53

© Інститут картоплярства НААН, 2024

© ТОВ «ТВОРИ», 2024

ISBN 978-617-552-648-4

*Затверджено і рекомендовано до друку
Науково-методичною радою Державної служби України з питань безпеки харчових
продуктів та захисту 29 грудня 2021р. (протокол № 2)
Розглянуто та схвалено Вченою радою
Інституту картоплярства НААН
(протокол № 4 від 29 квітня 2021 року)*

Рецензенти:

Р.О. Мялковський – доктор сільськогосподарських наук, професор кафедри рослинництва, селекції та насінництва Подільського ДАТУ;
В.В. Бородай – доктор сільськогосподарських наук, доцент кафедри екобіотехнології та біорізноманіття Національного університету біоресурсів і природокористування України;
Р.В. Ільчук – доктор сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник, завідувач сектору картоплярства ІСГКР НААН

У розробці Методики брали участь науковці та фахівці:

Інституту картоплярства НААН

М.М. Фурдига – кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник, директор;
О.В. Вишневецька – кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник, завідувач відділу базового, базового насінництва і діагностики;
Т.М. Олійник – кандидат сільськогосподарських наук, доцент, заступник директора з наукової роботи;
Н.А. Захарчук – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, учений секретар;
О.В. Самойліченко – кандидат технічних наук, доцент, завідувач лабораторії інструментальної діагностики;
В.П. Дмитренко – завідувач Калинівського опорного пункту первинного насінництва;
С.А. Шмунь – завідувач відділу науково-інформаційного забезпечення та інтелектуальної власності;
М.В. Рязанцев – завідувач лабораторії первинного насінництва

Інституту мікробіології та агропромислового виробництва НААН

І.В. Демчук – кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник лабораторії вірусології

Національної академії аграрних наук України

Н.В. Гуляк – кандидат сільськогосподарських наук, старший науковий співробітник, провідний науковий співробітник Відділення рослинництва

Державної служби України з питань безпеки харчових продуктів та захисту споживачів

В.М. Чайковський – заступник директора Департаменту – начальник управління контролю в сфері насінництва, розсадництва та якості зерна Департаменту фітосанітарної безпеки, контролю в сфері насінництва, розсадництва та якості зерна;
А.Ф. Челомбітко – кандидат сільськогосподарських наук, Директор департаменту фіто санітарної безпеки та контролю в рослинництві;
В.А. Рубель – головний спеціаліст відділу контролю в насінництві та розсадництві управління контролю в сфері насінництва, розсадництва та якості зерна Департаменту фітосанітарної безпеки, контролю в сфері насінництва, розсадництва та якості зерна;
А.М. Яненко – головний спеціаліст відділу контролю у сфері охорони прав на сорти рослин управління контролю в сфері насінництва, розсадництва та якості зерна Департаменту фітосанітарної безпеки, контролю в сфері насінництва, розсадництва та якості зерна

Української асоціації виробників картоплі

С.В. Рибалко – доктор економічних наук, голова ФГ «Аделаїда»;
М.П. Гордійчук – директор ТОВ «АГРІКО УКРАЇНА»

4
ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
1. ТЕРМІНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ПОНЯТЬ.....	7
2. КЛАСИФІКАЦІЯ НАСІННЄВОЇ КАРТОПЛІ.....	8
3. ВИМОГИ ДО ПОСІВНИХ ЯКОСТЕЙ НАСІННЄВОЇ КАРТОПЛІ.....	10
4. ПІСЛЯЗБИРАЛЬНИЙ КОНТРОЛЬ.....	13
5. МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ БУЛЬБОВОГО АНАЛІЗУ (ПОСІВНІ ЯКОСТІ НАСІННЄВОЇ КАРТОПЛІ).....	14
6. ПІСЛЯЗБИРАЛЬНЕ ОЦІНЮВАННЯ ПРЯМОГО ПОТОМСТВА НАСІННЄВОЇ КАРТОПЛІ, ВІДБІР ПРОБ, МЕТОДИ ОЦІНЮВАННЯ.....	18
7. СИМПТОМИ ПРОЯВУ ХВОРОБ КАРТОПЛІ, ЯКІ СПРИЧИНЯЮТЬ ФІТОПАТОГЕННІ ВІРУСИ, ВІРОЇДИ, ФІТОПЛАЗМИ ТА БАКТЕРІЇ.....	22
8. ВИЗНАЧЕННЯ ВІРУСНИХ ТА БАКТЕРІАЛЬНИХ ХВОРОБ У НАСІННИЦТВІ КАРТОПЛІ ЕКСПРЕС-МЕТОДАМИ.....	36
9. ЛАБОРАТОРНІ МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАРАЖЕНОСТІ НАСІННЄВОЇ КАРТОПЛІ РЕГУЛЬОВАНИМИ ШКІДЛИВИМИ ОРГАНІЗМАМИ.....	39
Додаток 1.....	66
Додаток 2.....	66
Додаток 3.....	67
Додаток 4.....	68
Додаток 5.....	70
Додаток 6.....	72
Додаток 7.....	73
Додаток 8.....	74
Додаток 9.....	75
Додаток 10.....	77
Додаток 11.....	79
Додаток 12.....	95
ЛІТЕРАТУРА.....	107

ВСТУП

Підписання Угоди про асоціацію між Європейським Союзом і Україною обумовило проведення всебічної адаптації українського законодавства до норм ЄС з метою створення єдиних норм якості продукції та формування ринку насінневої картоплі з можливістю експорту до інших країн. Головним критерієм взаємовідносин між виробниками і споживачами насіння є відповідність якості насінневої картоплі вимогам нормативно-правових актів. Імплементация до нормативного регулювання України норм Директив ЄС по насінневій картоплі обумовлює необхідність удосконалення системи контролю якості і сертифікації насіннєвого матеріалу картоплі різних категорій та класів.

Нормативно-правове та законодавче забезпечення системи сертифікації насіння викладено в Законі України «Про насіння і садивний матеріал» та інших нормативно-правових актах.

Найбільш високу ефективність сертифікації насіннєвої картоплі забезпечує поєднання польового оцінювання з визначенням посівних якостей партії (бульбового аналізу) та післязбирального оцінювання прямого потомства насіннєвої картоплі з встановленням ступеню зараження партії вірусними і бактеріальними інфекціями у прихованій формі.

У цій Методиці висвітлено сучасні методи післязбирального контролю добазової, базової, сертифікованої насіннєвої картоплі.

У Методиці вживаються скорочення, що мають такі значення:

АВК – А-вірус картоплі (PVA);

БН – базова насіннева картопля;

ВМ – вихідний матеріал, добазова насіннева картопля, отримана у штучних умовах (мікророслини, мікробульби, мінібульби) (клас РВТС);

ВВБК – віроїд веретеноподібності бульб картоплі;

ВСЛК – вірус скручування листків картоплі (PLRV);

ДН – добазова насіннева картопля;

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота;

Е – клас еліти, базова насіннева картопля (клас Е);

ІСЕМ – імуносорбентна електронна мікроскопія;

ІФА – імуноферментний аналіз;

ІФ – імунофлуоресцентний метод;

МВК – М-вірус картоплі (PVM);

ОЩ – оптична щільність продукту ферментативної реакції;

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція;

ПП1, ПП2 – добазова насіннева картопля першого або другого польового покоління, отримана від вихідного матеріалу (мікророслин, мікробульб, мінібульб) (клас РВ);

РНК – рибонуклеїнова кислота;

СЕ – клас супереліти, базова насіннева картопля (клас SE);

СН – сертифікована насіннева картопля;

СН1 – сертифікована насіннева картопля, перше покоління після еліти (клас А);

СН2 – сертифікована насіннева картопля, друге покоління після еліти (клас В);

ССЕ – клас супер-супереліти, базова насіннева картопля (клас S);

ҮВК – Y-вірус картоплі (PVY);

ХВК – X-вірус картоплі (PVX);

SBK – S-вірус картоплі (PVS).

1. ТЕРМІНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ПОНЯТЬ

Аналізування об'єднаної проби бульб насіннєвої картоплі – встановлення ступеню ураження бульб хворобами та шкідниками, наявності бульб з механічними пошкодженнями, дефектами, встановлення відповідності за розмірами, наявності землі та сторонніх домішок;

відстеження походження – система документації, яка дозволяє відстежувати походження і характеристики партії картоплі в процесі класифікації;

гниль – це процес розкладання тканин за дії патогенних організмів, як правило, бактерій та грибів. Гниль може виникати також внаслідок екологічних факторів, зокрема температури. Гниль може бути класифікована як мокра (або м'яка) або суха залежно від її зовнішнього і внутрішнього вигляду;

гниль мокра – розм'якшення тканин бульби, що супроводжується рідкими виділеннями. Виникає внаслідок ураження бактеріями або грибами;

гниль суха – процес сухого розкладання тканин бульб без рідких виділень. Некротичні пошкодження можуть лишатись локалізованим, або розширюватись зморшками, охоплюючи всю бульбу. Джерелом сухої гнилі в основному є гриби;

зовнішні дефекти – будь-які дефекти бульб, які можуть бути виявлені зовні;

зразок прямого потомства насіннєвої картоплі – однорідний зразок картоплі, відібраний у полі або сховищі, або вирощений в умовах закритого ґрунту, для оцінювання сортової типовості, чистоти сорту, ступеню ураження вірусними і бактеріальними хворобами та тестування на зараженість збудниками вірусних хвороб у прихованому (латентному) стані лабораторними методами;

інспекція – візуальний огляд уповноваженою особою рослин, бульб, тари, обладнання або виробничих об'єктів на предмет встановлення їх відповідності вимогам нормативно-правових актів;

контроль якості – контроль за процесом виробництва та збуту насіннєвої картоплі відповідно «Методичних вимог у сфері насінництва щодо збереження сортових та посівних якостей насіннєвої картоплі», наказ Міністерства аграрної політики та продовольства України від 12 липня 2019 року № 384 та інших нормативно-правових актів, який здійснює орган сертифікації;

лабораторне тестування – використання одного або більше лабораторних методів для визначення ураження рослин збудниками хвороб, або для визначення приналежності наданих рослин до певного сорту;

неуражена (проба, партія) – та, що не містить кількості або концентрації яких-небудь шкідливих організмів, які можуть бути виявлені відповідними процедурами взяття проб, перевірки і тестування;

об'єднана проба – проба, сформована із усіх відібраних точкових проб, висипаних по черзі на чисту гладку поверхню (брезент, плівку, фанеру та інше), не допускаючи втрат землі та інших сторонніх домішок;

однорідний – однаковий за складом і за зовнішнім виглядом;

партія насіннєвої картоплі – кількість підготовленої для реалізації насіннєвої картоплі одного і того самого сорту, категорії, класу, розміру, походження;

післязбиральне оцінювання прямого потомства (індексация) – підтвердження сортової типовості та чистоти різних класів насіннєвої картоплі та ураження збудниками вірусних і бактеріальних хвороб у післязбиральний період. Проводиться методом висаджування індексів у закритий ґрунт для оцінювання та визначення приналежності партії до певного класу відповідно до чинних вимог законодавства;

сертифікація насіння і садивного матеріалу – комплекс заходів, спрямованих на визначення сортових і посівних якостей насіння та сортових і товарних якостей садивного матеріалу з метою документального підтвердження відповідності вимогам законодавства у сфері насінництва та розсадництва;

симптоми – зміни фенотипу рослини за дії збудника хвороби;

точкова проба – кількість насіннєвої картоплі, яку відбирають від однієї партії або певної її частини, за один раз в одному місці і яка призначена для формування об'єднаної проби;

хвороба – процес, що розвивається в рослині внаслідок дії біотичних або абіотичних факторів і супроводжується розвитком симптомів;

якість – сукупність усіх властивостей, що визначають прийнятність насіннєвої картоплі у відповідності з нормами нормативно-правових актів.

2. КЛАСИФІКАЦІЯ НАСІННЄВОЇ КАРТОПЛІ

Відповідно до Закону України «Про насіння і садивний матеріал» в Україні сформовано основні положення щодо поділу насіння сільськогосподарських культур на три категорії: добазове, базове, сертифіковане. Поділ насіннєвої картоплі на категорії та класи здійснюють на основі принципу їх відповідності нормативним вимогам (допускам) «Методичних вимог у сфері насінництва щодо збереження сортових та посівних якостей насіннєвої картоплі», затверджених наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України від 12 липня 2019 року № 384, зареєстрованим в Міністерстві юстиції України 29 липня 2019 р. за № 829/33800 (далі – Методичні вимоги, наказ Мінагрополітики від 12.07.2019 № 384) [1] та відповідно до «Методики визначення сортових та посівних якостей насіннєвої картоплі», затверджених наказом Міністерства розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України від 19 січня 2021 року № 91, зареєстрованим в Міністерстві юстиції України 09 березня 2021 р. за № 300/35922 (далі – Методика визначення сортових та посівних якостей, наказ Мінекономіки від 19.01.2021 № 91) [2] за основними якісними характеристиками (сортова чистота, ураженість хворобами, дефекти, розмір бульб та ін.). Ці Методичні вимоги та Методика визначення сортових та посівних якостей розроблено з урахуванням положень Виконавчої директиви Комісії 2014/20/ЄС від 6 лютого 2014 року про визначення класів базової та сертифікованої насіннєвої картоплі, умов та позначень, які застосовуються до цих класів, Виконавчої директиви Комісії 2014/21/ЄС від 6 лютого 2014 року про

визначення умов мінімальності та класів Союзу добазової насінневої картоплі та Директиви Ради 2002/56/ЄС від 13 червня 2002 року про торгівлю насінневою картоплею.

Система класифікації насінневої картоплі, затверджена наказом Мінагрополітики № 384 від 12.07.2019 [1] представлена у табл. 2.1.

Таблиця 2.1

Класифікація насінневої картоплі в Україні

Категорії насінневої картоплі/етапи насінництва	Класи насінневої картоплі (покоління)
Добазова насіннева картопля (ДН)	Мікророслини, мікробульби від рослин <i>in vitro</i> , мінібульби (у штучних умовах) – ВМ (клас РВСТ)
	Перше польове покоління від рослин та мікробульб <i>in vitro</i> , від розсади <i>in vitro</i> та мінібульб ПП-1-2 (клас РВ) Базові клони
Базова насіннева картопля (БН)	Супер-супереліта ССЕ (клас S)
	Супереліта СЕ (клас SE)
	Еліта Е (клас E)
Сертифікована насіннева картопля (СН)	Перше покоління еліти СН-1 (клас А)
	Друге покоління еліти СН-2 (клас В)

Враховуючи специфіку вегетативного способу розмноження картоплі, основні визначення категорій, затверджені Законом України «Про насіння і садивний матеріал», можуть бути доповнені деякими положеннями.

Категорії та класи насінневої картоплі

Категорія добазової насінневої картоплі – включає вихідний матеріал (клас РВСТ): мікророслини, мікробульби, мінібульби, отримані в штучних умовах та клас першого та другого польового покоління від вихідного матеріалу – ПП-1-2 (клас РВ), які вироблені оригіном сорту або уповноваженою особою (для сортів, що охороняються патентом) відповідно до Методичних вимог, наказ Мінагрополітики від 12.07.2019 № 384 (табл. 2.1).

Класи насінневого матеріалу, які відносяться до категорії добазової насінневої картоплі – це базові клони, відібрані у полі, або матеріал, отриманий на основі тканинної (меристемної) культури та мінібульб, які вирощені в умовах вегетаційних споруд (теплиці, гідропонні установки та ін.), які є сортотипovими та вільними від вірусних, віроїдних, бактеріальних, грибних та інших фітопатогенів та матеріал 1-го, 2-го польового покоління від мінібульб або клонового матеріалу (залежно від схеми базового насінництва), які за якістю відповідають Методичним вимогам, наказ Мінагрополітики від 12.07.2019 № 384.

Категорія базової насінневої картоплі – насіннева картопля, отримана від послідовного розмноження добазової насінневої картоплі, яка відповідає Методичним вимогам, наказ Мінагрополітики від 12.07.2019 № 384.

До категорій базової насінневої картоплі відносяться класи: супер-супереліта ССЕ (клас S), супереліта СЕ (клас SE), еліта Е (клас E).

Категорія сертифікованої насіннєвої картоплі – насіннєва картопля наступних після еліти поколінь, а саме класи: перше покоління еліти СН-1 (клас А), друге покоління еліти СН-2 (клас В).

3. ВИМОГИ ДО ПОСІВНИХ ЯКОСТЕЙ НАСІННЄВОЇ КАРТОПЛІ

Насіннєва картопля за посівними якостями повинна відповідати Методичним вимогам, наказ Мінагрополітики від 12.07.2019 № 384 [1], Методиці визначення сортових та посівних якостей, наказ Мінекономіки від 19.01.2021 № 91 [2] та ДСТУ 4013-2001 Технічні умови. Сортів та посівні якості картоплі насіннєвої. В даній Методиці розглядаються вимоги [1] та [2].

Сертифікація насіннєвої картоплі здійснюється відповідно до постанови Кабінету Міністрів України від 17.11.2023 № 1210 «Про затвердження Порядку проведення сертифікації, видачі та скасування сертифікатів на насіння та/або садивний матеріал та форм сертифікатів на насіння та/або садивний матеріал» [3], маркування та пакування партій насіння картоплі – відповідно до наказу Мінагрополітики від 10.07.17 р. № 348 «Про маркування та пакування партій насіння і форми етикетки», зареєстрованим в Міністерстві юстиції України 18 вересня 2017 р. за № 1142/31010 [4] та інших нормативно-правових актів.

Вимоги до партій насіннєвої картоплі. Бульби насіннєвої картоплі мають бути здоровими, цілими, зі зміцнілою шкіркою та за формою і забарвленням, типовими для відповідного ботанічного сорту; сухі, непророслі (під час весняної реалізації допускається наявність бульб з паростками довжиною не більше ніж 5 мм), до яких відносять бульби без поверхневої вологи, крім вологи від природного випаровування здорових бульб. Конденсат на бульбах, який утворюється внаслідок різниці температур, не вважають зайвою зовнішньою вологою.

У насіннєвій картоплі не допускається:

– наявність карантинних шкідливих організмів: шкідників, хвороб, насіння бур'янів та ураження регульованими некарантинними організмами відповідно до Переліку регульованих шкідливих організмів, затвердженого наказом Міністерства аграрної політики України від 29 листопада 2006 року № 716, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 11 грудня 2006 року за № 1300/13174 (зі змінами) [5];

– наявність бульб із ознаками «задухи», підморожених, з опіками, потворних, із вторинним ростом, із наростами, що легко обламуються, розриваних, розчавлених, з обдертою шкіркою більше ніж на 1/4 поверхні бульби.

Насіннєва картопля не повинна бути ураженою:

- картопляною нематою (*Globodera rostochiensis*);
- раком картоплі (*Synchytrium endobioticum*);
- кільцевою гниллю (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*);
- бурою бактеріальною гниллю (*Ralstonia solanacearum*).

Основні показники посівних якостей та дозвільні норми для різних категорій і класів насіннєвої картоплі, які передбачені Методичними вимогами, наказ Мінагрополітики від 12.07.2019 № 384 наведено у табл. 3.1–3.3.

**Вимоги
до посівних якостей бульб доbazової та базової насіннєвої картоплі**

Найменування показника	Норми якості партій насіннєвої картоплі				
	ДН		БН		
	ВМ РВТС	ПП1-2 РВ	CCE S	CE SE	E E
1	2	3	4	5	6
Розмір бульб за найбільшим поперечним діаметром, мм:					
для сортів з видовженою формою бульб	—	28–55	28–55	28–55	28–55
для сортів з округло-овальною формою бульб	—	30–60	30–60	30–60	30–60
для мінібульб: з видовженою формою бульб	—	7–55	7–55	7–55	7–55
з округло-овальною формою бульб	—	9–60	9–60	9–60	9–60
Наявність бульб, що не відповідають вимогам щодо розміру, % за масою, не більше	—	3,0	3,0	3,0	3,0
Наявність бульб інших ботанічних сортів, % за масою, не більше	—	Не допускається	Не допускається	Не допускається	Не допускається
Наявність бульб, уражених мокрими гнилями, в % за масою, не більше	—	—	0,2	0,2	0,2
Сухими гнилями (фітофтороз, фомоз, фузаріоз, антракноз, гумова гниль), в % за масою, не більше	—	0,2	0,5	1,0	1,0
Чорною ніжкою	—	Не допускається	Не допускається	Не допускається	Не допускається
Стебловою нематодою	—	Не допускається	Не допускається	Не допускається	Не допускається
Ризоктоніозом, за ураження більше 10 % поверхні бульби, % за масою, не більше	—	1,0	5,0	5,0	5,0
Паршею звичайною (ураження більш 1/3 поверхні бульб), % за масою, не більше	—	5,0	5,0	5,0	5,0
Паршею порошистою за ураження більше 10 % поверхні бульби	—	1,0	3,0	3,0	3,0
Зморщені бульби через надмірну дегідратацію або зневоднення, у т.ч. в результаті зараження паршею сріблястою, % за масою, не більше	—	0,5	1,0	1,0	1,0

1	2	3	4	5	6
Деформовані, пошкоджені механічно та шкідниками бульби, % за масою, не більше	–	3,0	5,0	5,0	5,0
Наявність землі і сторонніх домішок, % від маси бульб	–	1,0	1,0	1,0	1,0
Сума допусків* не повинна перевищувати, % за масою, не більше	–	6,0	7,0	7,0	7,0

*сума допусків включає: ступінь ураження партії мокрою гниллю, сухими гнилями, ризоктоніозом, паршею звичайною, паршею порошистою, наявність зморщених бульб, деформованих бульб, пошкоджених механічно та шкідниками.

Таблиця 3.2

**Вимоги
до посівних якостей бульб сертифікованої насіннєвої картоплі**

Найменування показника	Норми якості партій насіннєвої картоплі	
	СН1 (клас А)	СН2 (клас В)
1	2	3
Розмір бульб за найбільшим поперечним діаметром:	28–60	28–60
– для сортів з видовженою формою	28–55	28–55
– для сортів з округло-овальною формою бульб	30–60	30–60
Наявність бульб, що не відповідають вимогам за розміром, % від загальної кількості у пробі, не більше	3,0	3,0
Наявність бульб інших ботанічних сортів, % за масою	Не допускається	0,5
Наявність бульб, уражених хворобами, % за масою, не більше: микрою гниллю, в тому числі, % за масою	0,2	0,2
Сухими гнилями (фітофтороз, фомоз, фузаріоз, антракноз, гумова гниль), в % за масою, не більше	1,0	1,0
Стебловою нематодою	Не допускається	0,5
Ризоктоніозом, за ураження більше 10 % поверхні бульби, % за масою	5,0	5,0
Паршею звичайною (ураження більш 1/3 поверхні бульб), % за масою	5,0	5,0
Паршею порошистою за ураження більше 10 % поверхні бульб, % за масою	3,0	3,0
Зморщені бульби через надмірну дегідратацію або зневоднення, у т.ч. в результаті зараження паршею сріблястою, % за масою	1,0	1,0
Деформовані бульби, пошкоджені механічно та шкідниками, % за масою	7,0	7,0
Наявність землі і сторонніх домішок, % від маси бульб	2,0	2,0
Сума допусків* не повинна перевищувати, % за масою	10	10

*сума допусків включає: ступінь ураження партії мокрою гниллю, сухими гнилями, ризоктоніозом, паршею звичайною, паршею порошистою, наявність зморщених бульб, деформованих бульб, пошкоджених механічно та шкідниками.

**Вимоги до посівних якостей
базової та сертифікованої насінневої картоплі, призначеної
для експортно-імпортного постачання***

Найменування показника	БН, СН1,СН2
1	2
Наявність бульб, уражених хворобами, у % за масою, не більше: – мокрими та сухими гнилями, якщо вони не викликані <i>Synchytrium endobioticum</i> , <i>Clavibacter michiganensis</i> , <i>Ralstonia solanacearum</i> ;	1,0
– паршею звичайною з ураженням більше 1/3 поверхні бульб	5,0
Наявність бульб із зовнішніми пошкодженнями (деформовані, пошкоджені механічно та шкідниками бульби), у % за масою	3,0
Наявність землі та сторонніх домішок не повинні перевищувати, у % за масою	2,0
Сума допусків по пунктах 1–3 не повинна перевищувати, % за масою	6,0

* максимальні відхилення розміру бульб в одній партії мають бути такими, щоб різниця між розмірами двох квадратних отворів не перевищувала 25 мм. У випадку наявності бульб, завеликих для того, щоб проходити у квадратні отвори розміром 35 x 35 мм, найбільший та найменший допустимий розмір повинен бути кратним п'яти.

4. ПІСЛЯЗБИРАЛЬНИЙ КОНТРОЛЬ

Післязбиральний контроль включає визначення посівних якостей насінневої картоплі (бульбовий аналіз) та оцінювання прямого потомства різних класів партії насінневої картоплі на відповідність сорту і типу та ступінь її ураження вірусними та бактеріальними хворобами (за проявом візуальних симптомів та наявністю інфекції у латентному стані).

Контроль посівних якостей або бульбовий аналіз добазової, базової та сертифікованої насінневої картоплі здійснюють шляхом відбору проб насінневої картоплі від партії насіння та аналізу їх у відповідності до Методики визначення сортових та посівних якостей, наказ Мінекономіки від 19.01.2021 № 91 [2] з послідовним встановленням відповідності даної партії певному класу насіння згідно норм Методичних вимог, наказ Мінагрополітики від 12.07.2019 № 384 [1].

4.1. **Правила приймання партій насінневої картоплі.** Бульби насінневої картоплі приймають партіями, на кожну з яких видається документ, який засвідчує її сортові та посівні якості.

4.2. **Відбір проб для бульбового аналізу (визначення посівних якостей насінневої картоплі).** Об'єм об'єднаної проби для бульбового аналізу та число точкових проб для формування об'єднаної проби визначають залежно від маси або обсягу партії насінневої картоплі та виду пакування відповідно до норм пунктів 2, 3 розділу III Методичних вимог, наказ Мінагрополітики від 12.07.2019 № 384 [1] та Методики визначення сортових та посівних якостей [2].

Для аналізування партій насінневої картоплі, упакованої в мішки, ящики, контейнери, що вентилуються (дерев'яні, металеві, пластикові), а також поліетиленові м'які контейнери великої вантажопідйомності, що мають стропи,

з різних місць партії проводять вибірку пакувальних одиниць від партій насінневої картоплі обсягом відповідно Додатків 1 та 2, для аналізування партій неупакованої насінневої картоплі – відповідно Додатку 3 цієї Методики.

4.3. У кожній точковій пробі має бути не менше 25 бульб. Точкові проби об'єднують в об'єднану пробу, об'єм якої повинен бути не менше 250 бульб.

Для відбору точкових проб бульби насінневої картоплі з відібраних для перевірки пакувальних одиниць висипають на чисту гладку поверхню – брезент або поліетиленову плівку і відбирають точкові проби за всією довжиною, шириною і висотою насипу з різних місць і шарів (верхнього, середнього і нижнього) через рівні відстані, не допускаючи втрат землі і сторонніх домішок.

4.4. На кожну аналізовану партію насінневої картоплі оформлюють акт відбору насінневої картоплі за формою згідно з додатком 4 до цієї Методики.

4.5. Відбір проби від поставленої насінневої картоплі для контрольної (арбітражної) перевірки якості проводять відповідно до пунктів 2, 3 розділу III Методичних вимог, наказ Мінагрополітики від 12.07.2019 № 384.

Пробу від насінневої картоплі, поставленої неупакованою, відбирають з транспортного засобу, та із кожного, якщо партія картоплі надійшла в декількох транспортних засобах.

Відбір проби насінневої картоплі для контрольного (арбітражного) бульбового аналізу та її аналіз проводять уповноважені аудитори із сертифікації (агрономи-інспектори) в присутності представників власників партії, постачальника та/або розповсюджувача.

5. МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ БУЛЬБОВОГО АНАЛІЗУ (ПОСІВНІ ЯКОСТІ НАСІННЕВОЇ КАРТОПЛІ)

5.1. Бульбовий аналіз насінневої картоплі проводять у випробувальних лабораторіях в наступній послідовності з визначенням:

- наявності землі і сторонніх домішок;
- розміру бульб;
- бульб інших ботанічних сортів;
- бульб із зовнішніми і внутрішніми ознаками ураження хворобами, пошкодженнями і дефектами.

5.2. Перелік засобів вимірювального та допоміжного обладнання, матеріалів для проведення бульбового аналізу наведено у Додатку 8 цієї Методики.

5.3. Наявність землі та сторонніх домішок визначають у наступній послідовності:

- земля, що обсіпалася з бульб та сторонні домішки;
- земля, що прилипла до поверхні бульб;
- земля і сторонні домішки, що залишилися в транспортному засобі після вивантаження картоплі.

5.4. Об'єднану пробу, що надійшла до лабораторії на тестування висипають на брезент або поліетиленову плівку, підраховують кількість бульб в об'єднаній пробі, збирають з брезенту або поліетиленової плівки і зважують. Те,

що залишилось на брезенті або поліетиленовій плівці (землю і домішки) теж зважують. Наявність землі, що осипалася і сторонніх домішок обраховують у відсотках до маси об'єднаної проби.

5.5. Об'єднану пробу (після видалення землі, що обсипалася і сторонніх домішок) зважують і відмивають від землі, що прилипла до поверхні бульб, водою. Відмиті бульби поміщають на деко з гладким або сітчастим дном чи кошик і витримують дві-три хвилини, щоб з поверхні бульб стекла вода. Потім чисті бульби зважують. Для визначення маси відмитих бульб від загальної маси віднімають масу води, що залишилася на поверхні бульб, прийняту за 1 % маси відмитої картоплі.

Кількість землі, що прилипла до поверхні бульб, визначають за різницею зважувань проби до і після відмивання і обраховують у відсотках до маси об'єднаної проби.

5.6. Землю і сторонні домішки, що залишилися в транспортному засобі після вивантаження картоплі, збирають і зважують. Наявність землі і сторонніх домішок обчислюють у відсотках до маси партії насінневої картоплі.

5.7. Зважування згідно пункту 5.4 проводять з точністю до $\pm 0,01$ кг.

5.8. Загальну кількість землі і сторонніх домішок у відсотках обраховують, підсумовуючи результати, отримані в 5.4–5.6.

5.9. Визначення розміру бульб. Розмір бульб об'єднаної проби вимірюють за найбільшим поперечним діаметром із застосуванням калібрувальних шаблонів або інших вимірювальних засобів і ділять на фракції:

- стандартна фракція – бульби картоплі, розмір яких відповідає нормам табл. 2, 3, 4;
- нестандартна фракція – бульби картоплі, розмір яких не відповідає нормам табл. 2, 3, 4.

Бульби нестандартної фракції підраховують та визначають їх кількість у відсотках до кількості бульб об'єднаної проби.

5.10. Визначення наявності бульб інших ботанічних сортів. Наявність бульб інших ботанічних сортів визначають і підраховують, відбираючи окремо бульби з нетиповою формою, забарвленням шкірки і м'якоті, одночасно з визначенням зовнішніх дефектів, а також бульб із внутрішніми ураженнями хворобами згідно пункту 5.11.

5.11. Визначення наявності бульб за зовнішніми і внутрішніми ознаками ураження хворобами, пошкодженнями і дефектами.

5.11.1. В об'єднаній пробі, після відділення землі і сторонніх домішок, за зовнішнім виглядом виділяють бульби з ознаками: задухи, підмороження, опіків, деформації, потворності (з наростами, паростками, які легко обламуються), механічними пошкодженнями (розрізані, здавлені), пошкоджені шкідниками, гризунами та бульби, уражені хворобами.

5.11.2. Прояв симптомів зовнішніх і внутрішніх ознак ураження бульб хворобами, пошкоджень і дефектів визначають за додатками 10, 11, 12 цієї методики та методиками, розробленими міжнародними організаціями (Методичним посібником ЄЕК ООН S-1 щодо хвороб, шкідників та дефектів

насіннової картоплі [7], стандартом ЄЕК ООН S-1, який стосується збуту насінневої картоплі [8]).

5.11.3. Бульбу вважають ураженою хворобою, якщо площа ураженої поверхні дорівнює та перевищує:

- паршею звичайною – 33,3 %;
- паршею сітчастою – 33,3 %;
- паршею порошистою – 10 %;
- ризоктоніозом – 10 %.

За визначення ураження бульб паршею сріблястою враховують тільки бульби, що втратили тургор, зморщені, а також бульби, що мають пошкодження вічок.

Бульби із залізистою плямистістю вважають ураженими, якщо площа ураження перевищує 1/4 поздовжнього розрізу м'якоті.

Ключі для визначення площі ураження поверхні бульби наведені у Додатку 11 до цієї Методики.

5.11.4. Глибину механічних пошкоджень бульб насінневої картоплі, пошкоджень шкідниками і гризунами визначають методом послідовного зрізання пошкодженої м'якоті бульби картопляним ножом (ніж з висотою ріжучої частини 1,5 мм). Довжину механічних пошкоджень вимірюють лінійкою з точністю до 1 мм. Бульби вважають пошкодженими, якщо глибина пошкодження становить 5 мм і більше і довжиною більше 10 мм.

5.11.5. Для визначення наявності бульб з внутрішнім ураженням хворобами (чорна ніжка, кільцева гниль, стеблова нематода, заліzysta плямистість та інші) від об'єднаної проби з різних місць відбирають 100 бульб. Бульби розрізають ножом уздовж поздовжньої осі через столон і оглядають м'якоть бульби на розрізі.

Бульби, уражені мокрою гниллю, чорною ніжкою, кільцевою гниллю, з ознаками задухи, підморожені вважають хворими за будь-якого ступеня прояву симптомів.

Для визначення стеблової нематоди зрізують тонкий шар покривної тканини з пуповинної частини бульби і виявляють уражені ділянки під шкіркою. Крім того, сочевички, ураження паршею, інші дефекти шкірки можуть стати місцем проникнення нематод, тому додатково досліджуються плями свинцевого кольору зі шкіркою, що відстає, на інших місцях бульби. Шар шкірки, що зрізали, поміщають у чашку Петрі, заливають водою на 15–20 хв. та досліджують при 7–14-кратному збільшенні. Стеблові нематоди, які виходять з уражених тканин у воду, стають добре помітними.

Площа пошкоджень та уражень хворобами згідно пункту 5.11.3 цієї Методики визначається візуально.

5.11.6. За результатами бульбового аналізу визначають показник величини суми допусків ураження: мокрою та сухою гнилями, ризоктоніозом, паршею звичайною, порошистою; наявності зморщених бульб внаслідок дегідратації та ураження паршею сріблястою; деформованих бульб, пошкоджених механічно та шкідниками.

5.11.7. Партії насінневої картоплі після визначення наявності бульб за зовнішніми і внутрішніми ознаками ураження хворобами, пошкодженнями і дефектами відносяться до певного класу згідно Методичних вимог, наказ Мінagroполітики від 12.07.2019 № 384.

5.11.8. Обробка результатів бульбового аналізу. Бульби з наявністю пошкоджень шкідниками, а також уражень хворобами підраховують за кожним видом ураження хворобами і пошкодження.

Наявність хворих і пошкоджених бульб обраховують у відсотках за масою до аналізованої маси бульб об'єднаної проби по кожному виду ураження хворобами і пошкодженням.

Результат обрахування подають із точністю до першого десяткового знака.

Обраховуючи наявність бульб із дефектами, на які є допуски, на одній бульбі враховують тільки один вид ураження або пошкодження залежно від його шкодочинності та розподіляють у такій послідовності: кільцева гниль, чорна ніжка, мокра гниль, сухі гнилі, стеблова нематода, ризоктоніоз, парша (звичайна, сітчаста, порошиста, срібляста), пошкодження сільськогосподарськими шкідниками або гризунами, механічні пошкодження.

Під час підрахунку наявності бульб, уражених чорною ніжкою, кільцевою гниллю, стебловою нематодою (хвороби, що мають зовнішню і приховану форми прояву) вміст хворих бульб у відсотках за масою підсумовують за кожною хворобою.

На кожен аналізовану партію насінневої картоплі оформлюють протокол лабораторних досліджень з визначення посівних якостей насінневої картоплі згідно з додатком 5 цієї Методики та акт бульбового аналізу насінневої картоплі за формою згідно з додатком 9 цієї Методики.

Проведення бульбового аналізу категорії ССЕ, СЕ, Е, СН здійснює уповноважений акредитованою лабораторією персонал перед реалізацією і висаджуванням насінневої картоплі, а перед закладанням на зберігання насінневої картоплі – за зверненням заявника.

Бульбовий аналіз вихідного насінневого матеріалу ВМ, ПП1, ПП2 проводиться внутрішньогосподарчою комісією в складі спеціалістів науково-дослідних установ, селекціонерів, власників або підтримувачів сортів, кваліфікованих спеціалістів суб'єкта насінництва.

5.12. Обстеження партій насінневої картоплі всіх категорій розмноження на виявлення регульованих шкідливих організмів згідно Переліку [5], затвердженого наказом Міністерства аграрної політики України від 29 листопада 2006 року № 716 (зі змінами) здійснюють фітосанітарні лабораторії відповідно до інструкцій з виявлення, локалізації та ліквідації бурої бактеріальної гнилі картоплі, раку картоплі, картопляних цистоутворюючих нематод, кільцевої гнилі картоплі, затверджених наказом Міністерства розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України від 13.04.2021 № 750 [6] та методів, заявлених у сфері акредитації.

6. ПІСЛЯЗБИРАЛЬНЕ ОЦІНЮВАННЯ ПРЯМОГО ПОТОМСТВА НАСІННЕВОЇ КАРТОПЛІ, ВІДБІР ПРОБ, МЕТОДИ ОЦІНЮВАННЯ

6.1. Післязбиральне оцінювання прямого потомства різних класів насінневої картоплі для визначення сортової типовості та чистоти, встановлення ступеня ураження рослин вірусними хворобами та зараження вірусною інфекцією у прихованому стані проводять у післязбиральний період на рослинах, вирощених у культивацийній споруді у відповідності до Методики визначення сортових та посівних якостей, наказ Мінекономіки від 19.01.2021 № 91 [2] з наступним встановленням відповідності даної партії певному класу насіння згідно норм Методичних вимог, наказ Мінагрополітики від 12.07.2019 № 384 [1].

6.2. Пряме потомство насінневої картоплі за сортовою типовістю, сортовою чистотою, ураженням рослин вірусними хворобами та ступенем ураження прихованою вірусною інфекцією має відповідати вимогам, встановленим чинними нормативними документами (табл. 6.1, 6.2, 6.3).

Таблиця 6.1

Вимоги до сортових якостей насаджень добазової та базової насінневої картоплі

Показники	Норми якості насаджень насінневої картоплі				
	ДН		БН		
	ВМ (РВТС)	ПП1, ПП2 (РВ)	ССЕ (S)	СЕ (SE)	Е (E)
Наявність рослин, що не відповідають певному типу та сорту, %, не більше	не допускається	0,01	0,1	0,1	0,1
Наявність рослин, уражених чорною ніжкою, %, не більше	не допускається	0	0	0	0,5
У прямому потомстві кількість рослин, заражених вірусною інфекцією, %, не більше	не допускається	0,5	1,0	2,0	4,0
Наявність рослин, уражених тяжкими вірусними хворобами, мозаїками та скручуванням листків картоплі (за зовнішніми ознаками), %, не більше	не допускається	0,1	0,2	0,5	0,8
Наявність рослин, уражених легкими вірусними хворобами, %, не більше	не допускається	0,2	0,4	1,0	3,0
Наявність бактеріальної інфекції чорної ніжки <i>Dickeya</i> / <i>Pectobacterium</i> spp. та кільцевої гнилі <i>Clavibacter michiganensis</i>	не допускається	0	0	0	0
Дозволена кількість польових поколінь, включаючи кількість добазових польових поколінь	–	до двох*	до трьох*	до чотирьох*	до п'яти*
Якщо на офіційній етикетці не зазначено номер покоління картоплі, її слід вважати картоплею покоління		–	третього	четвертого	п'ятого

* зменшення допуску кількості польових поколінь.

**Вимоги до сортових якостей
насаджень сертифікованої насіннєвої картоплі**

Показники	Норми якості насаджень насіннєвої картоплі	
	СН1 (клас А)	СН2 (клас В)
Наявність рослин, що не відповідають даному типу та сорту, %, не більше	0,2	0,5
Наявність рослин, уражених чорною ніжною, %, не більше	1,0	1,0
У прямому потомстві кількість рослин, заражених будь-якою вірусною інфекцією, %, не більше *	8,0	–
Наявність рослин, уражених важкими вірусними хворобами, мозаїками та скручуванням листків картоплі (за зовнішніми ознаками), %, не більше	2,0	6,0

* якість насаджень насіннєвої картоплі класу СН2 встановлюється за наявністю рослин, уражених важкими вірусними хворобами, мозаїками та скручуванням листків картоплі (за зовнішніми ознаками), кількість таких рослин має становити не більше 10 %. У разі сумніву агронома-інспектора щодо симптомів прояву вірусних хвороб на насадженнях насіннєвої картоплі класу СН2 може проводитися лабораторне тестування.

Таблиця 6.3

**Вимоги до сортових якостей насаджень базової та сертифікованої
насіннєвої картоплі, призначеної для експортно-імпортного постачання**

Показники	БН	СН1, СН2
У прямому потомстві рослин іншого типу, %, не більше	0,25	0,5
У прямому потомстві рослин іншого сорту, %, не більше	0,1	0,2
У прямому потомстві рослин із симптомами тяжкої та легкої вірусної інфекції, %, не більше	4,0	10,0*
Наявність рослин, уражених чорною ніжною, %, не більше	2,0	4,0

* лише тяжкі вірусні інфекції.

6.3. Післязбиральне оцінювання прямого потомства насіннєвої картоплі проводять на рослинах, отриманих з індексів або пророслих бульбах від бульбових проб, відібраних на насадженнях або у сховищах. Післязбиральне оцінювання здійснюють від партій доbazової насіннєвої картоплі: ПП1-2, базової насіннєвої картоплі ССЕ, СЕ, Е, сертифікованої насіннєвої картоплі СН-1 наступними методами:

- сортова ідентифікація відповідно до Методики проведення експертизи сортів рослин групи овочевих, картоплі та грибів на відмінність, однорідність та стабільність [9];

- візуальний огляд рослин картоплі з метою виявлення їх ураження вірусними, віроїдними та бактеріальними хворобами за симптомами їх прояву. Результати візуального оцінювання підтверджують даними лабораторного тестування;

- лабораторні методи ІФА, ПЛР, ІФ, які застосовують для визначення прихованого зараження вірусами ХВК, СВК, МВК, УВК, АВК, ВСЛК і бактеріями (збудниками кільцевої гнилі та чорної ніжки картоплі), ВВБК у

мікророслинах *in vitro*, рослинах насаджень доbazової насінневої картоплі класів ПП1, ПП2, базової насінневої картоплі – ССЕ, СЕ, Е та сертифікованої насінневої картоплі – СН-1, описані у розділі 10 цієї Методики.

6.4. Лабораторне тестування на приховане зараження бактеріальними інфекціями, проводять шляхом тестування бульб з використанням методів ІФА, ПЛР та/або методу ІФ та методів, які дозволяють отримувати додаткове підтвердження (посів, біологічна проба). Для рослинних проб на приховане зараження збудниками бактеріозів картоплі (чорна ніжка, кільцева гниль) використовують бульби (конуси провідної тканини, вирізаної зі столонного сліду), відрізки стебел на рівні кореневої шийки довжиною 5–10 см, а також рослини з індексів, або стебла і листки вегетуючих рослин. Для аналізування краще підходить свіжий матеріал, але можливе використання також відрізків стебел на рівні кореневої шийки, які відбирають під час збирання картоплі. Окрім того, можливий варіант відтермінування аналізу, для чого відібрані стебла або листки добре промивають водопровідною водою, споліскують дистильованою водою, підсушують та зберігають в сухому місці не більше трьох місяців до випробування.

6.5. Перелік обладнання, необхідного для проведення ІФА, визначено додатком 7 цієї Методики.

ІФА, ІФ або ПЛР-аналізи проводять згідно з інструкціями сертифікованих комерційних комплектів поставки ІФА, ІФ та ПЛР-реагентів та стандартами Європейської та Середземноморської організації захисту рослин [10–12].

6.6. Для визначення віроїду веретеноподібності бульб картоплі (ВВБК) застосовують метод ПЛР та метод рослин-індикаторів відповідно до стандарту Європейської та Середземноморської організації захисту рослин [13].

6.7. Відбір проб для післязбирального оцінювання та лабораторного тестування на зараженість вірусною та/або бактеріальною інфекцією від сформованої партії у сховищі проводять згідно вимог, встановлених пунктами 2, 3 розділу III – Методичних вимог наказ Мінагрополітики від 12.07.2019 № 384, що наведені у розділі 2, пункті 2.2 цієї методики.

6.8. Відбір бульбової проби для лабораторного тестування оформлюють актом відбору проб для визначення посівних якостей насінневої картоплі, за формою згідно з додатком 4 (далі – акт відбору проб).

6.9. Норми відбору проб для лабораторного тестування встановлено Додатком 6 до цієї методики.

6.10. Відбір бульбових проб у полі для лабораторного тестування проводиться перед збиранням врожаю відразу після видалення картоплиння протягом серпня-вересня місяця.

Найкращим варіантом є відбір бульбових проб у полі після десикації картоплиння у серпні-вересні. Під час відбору зразка відбирають по одній бульбі з десяти рослин підряд. Таку операцію повторюють 10–20 разів, перетинаючи поле по діагоналі. За розміром відібрані бульби не повинні бути меншими ніж 35 мм за найбільшим поперечним діаметром.

Під час відбору проб у сховищі зразок у кількості 110 бульб відбирають довільно (репрезентативно) з різних місць насипу, мішків або контейнерів. Перед

відправкою до лабораторії зразки повинні бути опломбовані та промарковані із зазначенням виробника, сорту, класу та ідентифікаційного номера партії.

6.11. Для післязбирального оцінювання прямого потомства зразок насінневої картоплі після відбору повинен зберігатися щонайменше один тиждень за температури 18–22 °С, а ті сорти, які довго проростають – щонайменше 2 тижні. Підвищити достовірність результатів можливо під час аналізування бульби після двомісячного природного зберігання з настанням природнього припинення стану спокою [14, 15].

6.12. Найбільш достовірні результати аналізування отримують за оцінювання рослин, які виростили з індексів (вирізаних вічок із м'якоттю). Для цього за допомогою спеціальної машини або вручну вирізають вічко бульби діаметром 2,5 см. Стан спокою бульб (індексів) переривають обробкою їх розчином гіберелінової кислоти. Концентрація розчину становить 1 міліграм гіберелінової кислоти на 1 л дистильованої води. До рочинення гіберелінової кислоти у воді її необхідно попередньо розчинити у 1–2 краплях етилового спирту. Кожного дня необхідно готувати новий розчин. Для обробки 1000 індексів бульб потрібно витратити 7,5 л розчину.

Необхідно якомога швидше помістити вирізаний індекс в розчин гіберелінової кислоти. В такому розчині індекси витримують 10–15 хвилин. Після цієї обробки їх необхідно просушити впродовж не менше 12 годин за кімнатної температури для опробковіння зрізу.

Після цього індекси висаджують у вологий ґрунтовий субстрат, який має гомогенний склад, оптимальний вміст поживних речовин, тонку структуру, низьку питому вагу та добру водопоглинальну здатність. Вирощують пагони у горщиках (діаметр 7–8 см), в площках (40–60 см), на грядках.

Для запобігання загибелі індексів від ризоктоніозу *Rizoktonia solani* одночасно із замочуванням зразка у розчині гібереліну індекси можна обробити протигрибними препаратами з діючою речовиною беноміл (типу фундазол). Індекси висаджують у зволожений субстрат так, щоб вічко знаходилося збоку (зліва або праворуч). Зверху насипають 1–2 см субстрату таким чином, щоб вічко мало з ним добрий контакт.

Відразу після висадки індексів субстрат потрібно ретельно зволожити та підтримувати високу вологість ґрунту впродовж двох тижнів (сухий ґрунт затримує проростання індексів). Сходи можуть з'явитися через 8–12 днів. Від садіння до появи сходів температуру в культивацийному приміщенні підтримують в межах 18–20 °С, після появи сходів вдень температура має бути 17–20, вночі – 15–17 °С. Оскільки звичайно індексацію проводять у осінньо-зимовий період або рано навесні, для активного росту рослинам необхідно забезпечити 16-годинний фотоперіод.

Зазвичай за дотримання технологічних параметрів рослини з індексів розвиваються впродовж 21–28 днів. Рослини для аналізування повинні мати повністю розвинені та розгорнуті листки.

7. СИМПТОМИ ПРОЯВУ ХВОРОБ КАРТОПЛІ, ЯКІ СПРИЧИНЯЮТЬ ФІТОПАТОГЕННІ ВІРУСИ, ВІРОЇДИ, ФІТОПЛАЗМИ ТА БАКТЕРІЇ

Симптомами будь-яких хвороб на рослинах є зміни їх фенотипу, що відбуваються в рослині за дії фітопатогенного організму. Так, симптоми вірусного ураження картоплі описуються специфічними усталеними термінами і можуть бути поділені на 5 груп: мозаїки, хлорози, некрози, деформації і системні порушення росту (рис. 7.1).

СИМПТОМИ ВІРУСНИХ ХВОРОБ КАРТОПЛІ				
МОЗАЇКИ	ХЛОРОЗИ	НЕКРОЗИ	ДЕФОРМАЦІЇ	ПОРУШЕННЯ РОСТУ
звичайна, або крапчаста:	загальний	системний, або розсіяний	зморшкуватість	карликовість
- «м'яка»	міжжилковий	місцевий	хвилястість	відьмові мітли
- «гостра»	крайовий	верхівковий	ниткоподібність	повітряні бульбочки
зморшкувата	верхівковий	внутрішній	веретеноподібність	
смугаста		судинний	щіткоподібність	
мрамурова		кільцевий	зрослість	
міжжилкова			проліферації	
по жилкам			скручування, закручування	

Рисунок 7.1. Класифікація симптомів вірусних хвороб картоплі

7.1 Тяжкі вірусні хвороби та їх збудники

7.1.1 Зморшкувата мозаїка. Збудники – вірус картоплі Y (PVY), різні штами і варіанти, іноді в поєднанні з іншими мозаїчними вірусами (PVA, PVM, PVX, PVS).

Пригнічення росту й здрібніння листків, внаслідок чого значно зменшується висота куща, а пагони набувають пальмоподібного вигляду, нижні листки відмирають і повисають на стеблі. Зелені листки деформуються через гальмування росту жилок у довжину, виникає зморщування та горбкуватість поверхні листка, краї листової пластинки загинаються донизу (рис.7.2).



Рисунок 7.2. Ознаки зморшкуватої мозаїки на картоплі

7.1.2 Смуґаста мозаїка (некротиз жилок). Збудник – вірус картоплі Y (PVY), різні штами, в тому числі некротичні.

Темні некротиз жилок з нижнього боку листків й на стеблах, некротичні плями на листках. Нижні листки буріють, засихають і повисають вздовж стебла, часто відмирають повністю. Верхівкові листки залишаються зеленими. Нерідко ознаки смуґастої й зморшкуватої мозаїки поєднуються на одній рослині (рис.7.3).



Рисунок 7.3 Ознаки смуґастої мозаїки на листках та стеблах картоплі



Рисунок 7.4. Ознаки гострої крапчастості на листках картоплі

7.1.3 Звичайна, або крапчаста, мозаїка (гостра). Збудник – вірус картоплі Y (PVY), усі групи штамів, часом в поєднанні з іншими мозаїчними вірусами (PVA, PVM, PVS).

Нерівномірність забарвлення листків у вигляді світліших плям, які не обмежуються жилками. Іноді світле забарвлення може займати більшу частину площі листка, часто супроводжується деформацією листкової пластинки. Симптоми у вигляді розпливчастих ясно-зелених або жовтуватих плям краще проглядаються в похмуру погоду або за створення тіні (рис. 7.4).

7.1.4 Мозайчне закручування листків. Збудник – вірус картоплі M (PVM).

Краї листових пластинок загнуті нагору або листок складений уздовж середньої жилки. Часто спостерігається скривлення й хвилястість країв листків, особливо верхніх. У другій половині вегетації ознаки хвороб послабляються або, якщо були слабкими, можуть зникати зовсім (рис. 7.5).



Рисунок 7.5 Мозаїчне закручування листків картоплі

7.1.5 Скручування листків. Збудник – вірус скручування листків картоплі (ВСЛК), *Potato Leaf roll virus* (PLRV).

У разі первинного зараження – посвітління й незначне скручування верхніх листків; у наступному поколінні (вторинне ураження) – помітне зменшення розмірів кущів, а також скручування нижніх листків. Листкові частки змінюють колір до зеленкувато-коричневого, скручуються у вигляді жолоба або в трубку, загинаючись краями догори, стають сухими, твердими та легко ламаються з відчутним хрустом навіть при слабкому стисканні (рис.7.6).



Рисунок 7.6. Симптоми скручування листків на картоплі

7.2 Легкі вірусні хвороби та їх збудники

7.2.1 Звичайна, або крапчаста, мозаїка (недеформуюча, м'яка). Збудник – вірус картоплі Х (PVX), може поєднуватись з іншими мозаїчними вірусами, наприклад, вірусом картоплі S (PVS), або віруси групи штамів PVY^N.

Нерівномірність забарвлення листків у вигляді світліших плям і розпливчастих крапочок, не супроводжується деформацією листкової пластинки. Симптоми не помітні у сонячну погоду, у другий половині вегетації можуть зникати.

7.2.2 Щіткоподібність верхівки картоплі. Збудник – вірус щіткоподібності верхівки картоплі (Potato mop-top virus, PMTV), що переноситься спорами грибка *Spongospora subterranea* sp. *subterranea*, збудника порошистої парші картоплі.

Залежно від сорту і умов вирощування на рослинах можуть проявлятися три групи симптомів: щіткоподібність верхівки пагонів через значно укорочені верхівкові міжвузля; яскраво-жовті плями, іноді у вигляді дуг або шевронів на листках, особливо на нижніх; хлоротичний малюнок у вигляді ялинки на верхніх листках. На бульбах тріщини вздовж некротичних бурих смуг, внаслідок чого вони потворної форми. Некротичні смуги продовжуються у м'якоті і їх чітко видно на розрізі.

7.2.3 Строкатостебельність картоплі. Збудник – раттл вірус (Tobacco rattle virus, TRV), що переноситься ґрунтовими нематодами родів *Trichodorus* і *Paratrichodorus*.

На рослинах проявляється різними формами мозаїчності та плямистістю, яка пізніше некротизується. Найбільш типовим симптомом на листках є яскраво-жовті або некротичні шеврони. На бульбах некрози тканин у вигляді смуг, дуг або хвилястих ліній, або некротичних пробкових плям, які пов'язані або не пов'язані з поверхневими некрозами.

7.2.2 Каліко, або вірус мозаїки люцерни. Збудник – вірус мозаїки люцерни (ВМЛ) на картоплі (Alfalfa mosaic virus, AMV).

Одним із симптомів на листках картоплі є «симптом бязі», який складається з яскраво-жовтих, світло- та темно-зелених плям та смуг. Іноді цілі листки або їх половини можуть бути жовтого кольору (рис.7.7). Можливі також деформації листків. На бульбах можлива мармуровість (некроз) м'якоті у вигляді сітчастого некрозу або розсіяних кіркових зон. Уражені бульби часто не проростають.



Рисунок 7.7. Симптоми «бязі» при ураженні картоплі ВМЛ

7.2.5 Аукуба мозаїка. Збудник – вірус аукуби мозаїки картоплі, або F-вірус картоплі (Potato aucuba mosaic virus, PAMV).

Симптоми на листках схожі на такі, що викликає вірус мозаїки люцерни, але плями дрібніші. У м'якоті уражених вірусом бульб впродовж зберігання утворюються некрози у вигляді чітких дуг, краплень та плям.

7.3 Фітоплазмові хвороби

Фітоплазми – це внутрішньоклітинні паразити рослин округлої форми розміром 300–1000 нм, без клітинної стінки, але з тришаровою мембраною. Переносяться здебільшого цикадками. Локалізуються у зрілих клітинах флоєми.

Ураження рослин фітоплазмами призводять до системних хлорозів, карликовості, стовбуру (недорозвинутість верхівки), «відьминих мітел» (надмірний розвиток додаткових бічних бруньок та пагонів). Ці симптоми можуть варіювати і поєднуватись залежно від виду і сорту рослин, часу ураження, умов культивування тощо [16].

На сьогодні виділяють дві основні групи фітоплазм картоплі:

- фітоплазми, що призводять до хвороб **пожовтіння** (фітоплазми стовбуру (*Stolbur phytoplasma*) та пожовтіння айстр (*Aster yellows phytoplasma*);
- фітоплазми, що призводять до хвороб типу **відьминої мітли** (*Potato witches' broom phytoplasma*).

Фітоплазма стовбура для розповсюдження потребує рослин-резерваторів, таких як повітиця, томат, баклажан, блекота, беладона, дурман, берізка польова, які є джерелами інокулята. Листки картоплі стають хлоротичними та піднімаються, краї часток закручуються доверху, рослина набуває готичної форми, верхівка зупиняється у рості (рис.7.8) [16, 17]. В прохолодну і вологу погоду хвороба розвивається повільно. У суху погоду рослини в'януть і гинуть. Ймовірність поширення бульбами низька.



Рисунок 7.8. Фітоплазма пожовтіння айстр на картоплі призводить до симптому пурпуровості верхівки [17]



Рисунок 7.9. Картопля, уражена фітоплазмою відьминої мітли [18]

Розвиток фітоплазм в основному є наслідком поєднання джерел інфекції з присутністю інших рослин-господарів поблизу, а також присутності цикадок-переносників (спекотне та посушливе літо сприяє як розвитку, так і міграції цикадок).

7.4 Віроїдні хвороби

Веретеноподібність бульб картоплі, готика. Збудник – віроїд веретеноподібності бульб картоплі, ВВБК (Potato spindle tuber viroid, PSTVd). Належить до переліку регульованих шкідливих організмів, які не допускаються у насінневу матеріалі картоплі.

Легко передається контактним шляхом і, отже, може механічно поширюватися від рослини до рослини обладнанням, інструментами, шкірою чи одягом під час польових робіт. Прояв симптомів на рослинах залежить від групи штамів PSTVd (сильно- або слабо-патогенних), концентрації інфекції, часу ураження рослини.

Рослини картоплі, уражені сильнопатогенним штамом PSTVd, є вертикальними, низькорослими та набагато тоншими, ніж звичайні рослини. Листки менші, відходять від стебла під дуже гострим кутом, зміненої форми і можуть бути темно-зеленими або блідо-жовтими (рис.7.10). Більш легкі інфекції PSTVd можуть мати латентний перебіг.

Бульби інфікованих рослин видовжені, з перетяжками, або грушоподібні, зі збільшеною кількістю вічок, іноді з тріщинами. Навколо вічок утворюються виступи й бульби стають горбкуватими (рис.7.11). Уражені бульби навесні проростають повільно, часто одним верхівковим вічком, паростки слабкі, ниткоподібні. Нерідко замість пагонів утворюються молоді бульбочки.



Рисунок 7.10. Рослини картоплі з ознаками ураження ВВБК



Рисунок 7.11. Бульби картоплі з ознаками ураження ВВБК

7.5 Бактеріальні хвороби

На вегетуючих рослинах бактеріальні збудники призводять до подібних ознак, головною є в'янення внаслідок закупорки або руйнування судинної системи. Ознаки різних бактеріальних інфекцій на бульбах наводяться у табл. 7.1, а також у спеціалізованих довідниках, наприклад, Керівництві ЄЕК ООН з інспекції партій насінневої картоплі [19].

7.5.1 Бура гниль картоплі. Збудник – *Ralstonia solanacearum* (карантинний організм, відсутній в Україні (A1)). Наявність у партіях картоплі будь-якого призначення не допускається.

7.5.2 Кільцева гниль картоплі. Збудник – *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (регульований некарантинний організм). Наявність у партіях насінневої картоплі не допускається.

Симптоми судинного в'янення на уражених рослинах звичайно проявляються наприкінці сезону. Стебло набуває маслянисто-зеленого кольору (але не чорного), знизу розм'якшується. Як правило, уражуються нижні листки, що іноді супроводжується їх скручуванням. На листках спостерігається міжжилковий хлороз, а краї некротизуються. Симптоми слід уточнювати лабораторними методами.

7.5.3 Чорна ніжка та м'яка гниль. Збудники – *Pectobacterium* spp., *Dickeya* spp. Наявність у партіях насінневої картоплі категорій добазового і базового насінневого матеріалу до класу супереліта включно не допускається, в елітній насінневі картоплі допускається наявність 0,5% уражених рослин, а у сертифікованій – 1,5% [1, 2].

Чорна ніжка – загальнозживана назва бактеріальної хвороби картоплі, збудниками якої є кілька видів *Pectobacterium* та *Dickeya* на рослинах картоплі у полі. На уражених цими ж збудниками бульбах хвороба носить назву **м'якої гнилі**. Встановлено, що бактерії роду *Dickeya* відрізняються від видів роду *Pectobacterium* підвищеною агресивністю, здатністю переноситись з куща на куш за допомогою сисних та листогризувачих комах, швидко розповсюджуватись

у судинній системі рослини і тривалий час зберігатись у латентному стані. На відміну від збудника кільцевої гнилі, види *Pectobacterium* та *Dickeya* здатні виживати в ґрунті, на поживних рештках та у рослинах-господарях. Раннім проявом хвороби є загнивання материнської бульби, зрідження сходів та затримка росту рослин, хлоротичність (рис.7.12). В умовах прохолодної погоди симптоми можуть не проявлятись, проте, за підвищення температури уражене стебло раптово темніє від землі до верхніх листків і в'яне (рис.7.13). Через столони бактерії проникають у бульби, що призводить до різного ступеню їх інфікування.



Рисунок 7.12. Кущі картоплі, уражені чорною ніжною



Рисунок 7.13. Стебло картоплі із швидким перебігом хвороби; помітно уражені черешки листків. Колір уражених ділянок майже чорний

Таблиця 7.1

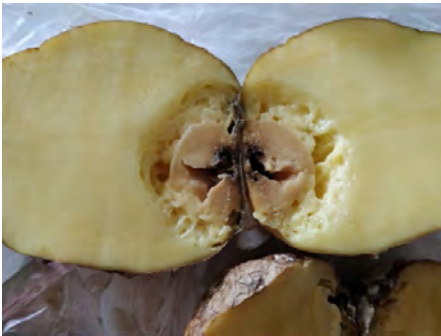
Ознаки бактеріальних хвороб на бульбах картоплі

Назва хвороби, збудник	Ознаки на бульбах	
	цілих	розрізаних
<p>Бура гниль картоплі. Збудник – <i>Ralstonia solanacearum</i> (карантинний організм, відсутній в Україні (A1) Наявність у партіях картоплі будь-якого призначення не допускається.</p>	<p>Бульба тверда, виглядає цілою. За значного розвитку хвороби спостерігається виділення сірого бактеріального слизу через вічка та столонний слід уражених бульб, де налипають частинки ґрунту. Це специфічний симптом ураження бульб бурою гниллю.</p>	<p>Побуріння та розм'якшення судинного кільця. При значному розвитку хвороби виділення із уражених судин сіруватого в'язкого бактеріального ексудату (слизу). З часом все судинне кільце набуває бурого кольору, трухне. Корковий шар довго лишається цілим, як товста шкаралупа</p>
<p>Кільцева гниль картоплі. Збудник – <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i> (регульований некарантинний організм). Наявність у партіях насінневої картоплі не допускається.</p>	<p>Системне ураження (через рослини і дочірні бульби)</p>	
	<p>Бульба виглядає цілою, може мати збільшені сочевички</p>	<p>Судинне кільце розм'якшується. Виділяється світло-жовтий неслизький мацерат, що містить бактеріальну масу і залишки клітин. З часом судинне кільце згниває. Згодом згниває й серцевина, перетворюючись у в'язку масу з непріємним запахом. Корковий шар довго лишається цілим (рис.7.14)</p>
	<p>Вторинне ураження (через сочевички або механічні пошкодження)</p>	
	<p>Бульба під цілою шкіркою має ямки, які виглядають як округлі плями кремового або світло-жовтого кольору. В місцях плям м'якоть вигниває з утворенням ямок, або бульба згниває повністю.</p>	<p>Ямки під шкіркою містять світло-жовтий неслизький мацерат. З подальшим розвитком інфекційного процесу зони ураження сягають судинного кільця – симптоми, як у першому випадку. Бульба може згнити цілком.</p>
<p>Чорна ніжка та м'яка гниль. Збудники – <i>Pectobacterium</i> spp., <i>Dickeya</i> spp. Наявність у партіях насінневої картоплі нормується.</p>	<p>Первинне ураження (через рослини і дочірні бульби)</p>	
	<p>Зі столонного кінця розм'якшення тканин, може утворитись дупло. При значному розвитку хвороби бульба стає м'якою і втрачає форму. Можуть бути здуті сочевички.</p>	<p>Почорніння, розм'якшення і загнивання м'якоті зі столонного кінця бульби. Інфікована та здорова зона відділяються чітко темною смугою. Може вигнивати дуплом. Запах специфічний винний. Корковий шар згниває пізніше.</p>
	<p>Вторинне ураження (через сочевички та механічні пошкодження)</p>	
	<p>Симптоми, як у м'якої змішаної гнилі</p>	

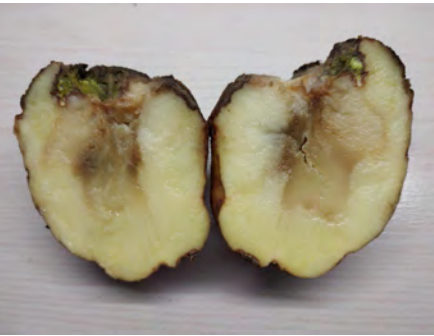
Окремо потрібно виділити **м'яку ранову змішану гниль**. Ця хвороба проявляється у післязбиральний період. Збудниками можуть бути як бактерії (*Pseudomonas* spp., *Pectobacterium* spp.), так і гриби (наприклад, *Colletotrichum atramentarium* або *Phyium* spp), так і всі разом (тому «змішана»). Збудники проникають у м'якоть бульб через механічні пошкодження, де й починається загнивання. Шкірка мокріє, м'якоть провалюється. Бульби розкладаються і перетворюються в сіру кашоподібну або слизьку масу з неприємним запахом.



Рисунок 7.14. Кільцева гниль – руйнування бактеріями судинного кільця



а



б

Рисунок 7.15. Ураження бульб збудниками чорної ніжки – *Dickeya* spp. (а), *Pectobacterium* spp. (б). На бульбах це м'яка, або мокра бактеріальна гниль

7.6 Функціональні хвороби

Часто симптоми інфекційних хвороб (спричинених вірусами, бактеріями, віроїдами або фітоплазмами) помилково плутають з функціональними (неінфекційними) хворобами картоплі, які є фізіологічними відповідями рослини на несприятливі умови середовища і незбалансованого живлення (табл.7.2). Проте, несприятливі умови середовища і живлення можуть значно підсилювати перебіг інфекційних хвороб, призводячи до важких форм виродження.

7.6.1 Бронзовість листків виникає у випадку недостатнього надходження калію в рослини. Листки вкриваються дрібними плямами відмерлої (некротизованої) тканини, стають зморшкуватими і набувають кольору окисленої бронзи, в подальшому розвивається крайовий некроз.

7.6.2 Коричнева плямистість стебел і бульб. Причина виникнення – надмірне надходження в рослину заліза і алюмінію. На стеблі, зазвичай в нижній його частині, з'являються коричневі плями відмерлої тканини. Рослина відстає в рості. На розрізі уражених бульб – плями червонувато-коричневого кольору, що не мають виходу до периферії.

7.6.3 Потемніння м'якоті бульб – це результат перегріву бульб, нестачі кисню під час зберігання. Нестача калію або надлишок азоту під час формування бульб також може призводити до утворення темних плям у м'якоті. Плями від ударів звичайно утворюються безпосередньо під шкіркою.

7.6.4 Деформації бульб. Деформовані бульби можуть мати різну форму, відмінну від характеристик сорту. До деформацій призводять погодні фактори, коли за тривалим посушливим періодом йде період дощів, важкі ґрунти, нерівномірність зволоження ґрунту, а також неправильне застосування гербіцидів. До деформацій відносяться бульби з ознаками вторинного росту (горбкуваті, грушоподібні, гантелеподібні), вигнуті (V-подібні з двома верхівками, зрослі, серпоподібні), а також з ростовими тріщинами. Ростові тріщини найчастіше виникають вздовж бульби у напрямку до бруньки і загоюються без загнивання.

7.6.5 Дуплистість бульб. Є внутрішнім дефектом, характерним для великих бульб, який виникає внаслідок відставання росту внутрішніх тканин від зовнішніх. Усередині бульби утворюються пустоти.

7.6.6 Удушення бульб. За високої вологості ґрунту і недостатньої кількості кисню на поверхні бульб сильно розростаються сочевички, вони мають вигляд білих, ніжних наростів. У випадку тривалого знаходження бульб в таких умовах їх м'якоть набуває пухкої кашоподібної консистенції зі спиртовим запахом. До удушення бульб може призвести зберігання картоплі у високому насипу без достатнього доступу повітря.

7.6.7 Підморожування бульб. Шкірка темніє і розм'якшується, сочевички і вічка відмирають. Шкірка легко відділяється від м'якоті, яка на повітрі швидко червоніє, а потім чорніє.

**Відмінності симптоматики
у випадках вірусних та неінфекційних хвороб картоплі**

Симптоми	Відмінності симптоматики у випадках	
	вірусних хвороб	неінфекційних та грибних хвороб
Хлороз	<u>PLRV</u> : загальний хлороз або світло-зелене забарвлення листків, човноподібне скручування, жорсткість листків <u>AMV</u> : сітчастий і дифузний хлороз верхівкових листків	<u>Нестача азоту</u> : хлороз нижніх листків, блідо-зелене забарвлення листків середнього ярусу, огрубіння листків немає; <u>Нестача магнію</u> : міжжилковий хлороз, що переходить в некрози; <u>Отруєння хлором</u> : загальний хлороз, скручування листків (м'яке, без огрубіння), іноді зниження тургору.
Системний (розсіяний) некроз надземної частини	<u>Смугаста мозаїка (PVY)</u> : чорні та темно-бурі смуги некрозів різних розмірів, некроз жилок, відмирання листків нижнього ярусу	<u>Дефіцит марганцю</u> : крапчасті та дрібноплямисті бурі та сірувато-бурі некрози на листках, які іноді зливаються; <u>Дефіцит бору</u> : темно-бурі міжжилкові та крайові некрози листків; <u>Дефіцит калію</u> : дрібні некрози жилок біля країв часток листків, епінастія листків (викривлення донизу), некроз верхівки
Деформація листків	<u>Закручування листків (PVM)</u> : закручування країв листків верхнього ярусу <u>Кучерявість листків (PVA, PVM, PVS)</u> : кучерявість (складчастість та хвилястість) листків, особливо верхнього ярусу, пригнічення росту	<u>Слабкий дефіцит бору</u> : м'яке скручування верхніх листків <u>Ушкодження гербіцидами</u> : різноманітні деформації листків – відсутність листової пластинки, неправильне жилкування, розростання і фасціація жилок, редукція часток листків
Скручування листя	<u>(PLRV)</u> : жорстке скручування листків човником з огрубінням всієї рослини, частіше нижнього ярусу	<u>Отруєння хлором</u> : скручування листків (сильніше верхнього), без огрубіння <u>Ушкодження високою температурою</u> : м'яке скручування і прив'ядання листків; <u>Ризоктоніоз</u> : скручування і прив'ядання листків верхнього ярусу
Пригнічення росту	<u>PSTVd</u> : карликовість, здрибнення і видовження листків	<u>Дефіцит фосфору</u> : карликовість без істотних деформацій
Внутрішній некроз бульб	<u>TRV, AMV, PLRV, PAMV, PMTV</u> : бурі плями та дуги в м'якоті; зерна крохмалю в некротизованих клітинах зберігаються	<u>Іржаві плямистість (іржавість)</u> : бурі плями і крапки на розрізі бульби, особливо посередині; зерна крохмалю в некротизованих клітинах руйнуються

Детальний опис функціональних дефектів бульб та грибних хвороб надано у Додатку 10 до цієї Методики.

8. ВИЗНАЧЕННЯ ВІРУСНИХ ТА БАКТЕРІАЛЬНИХ ХВОРОБ У НАСІННИЦТВІ КАРТОПЛІ ЕКСПРЕС-МЕТОДАМИ

8.1 Візуальна діагностика та облік. Візуальне оцінювання зовнішніх симптомів прояву вірусних хвороб широко використовується в практиці насінницької та селекційної роботи, під час сортовипробування та проведення моніторингу фітосанітарного стану сільськогосподарських угідь. У насінництві візуальний облік симптомів інфекційних хвороб картоплі поєднується з фітосанітарними прочищеннями, які проводять у три строки відповідно до діючих «Методичних рекомендацій з польового оцінювання насаджень насінневої картоплі» [15, 20].

Перше прочищення проводять, коли рослини досягнуть висоти 15–20 см, що дає змогу оцінити та видалити кущі з симптомами карликовості, хлорозів (жовтух) та тяжких форм зморшкуватої мозаїки.

Друге прочищення проводять на початку квітання сорту. В цей період оцінюють та видаляють рослини з ознаками усіх вірусних хвороб, а також можливі сортові домішки. Також необхідно звертати увагу на початкові симптоми чорної ніжки та кільцевої гнилі.

Третє прочищення проводять переважно в господарствах, які вирощують еліту, а за необхідності також в інших випадках, до початку відмирання картоплиння, краще відразу після фази цвітіння. Видаляють пропущені під час попереднього прочищення кущі з ознаками вірусних та бактеріальних хвороб.

Після кожного прочищення складають акт, де вказують кількість виявлених і видалених хворих кущів у відсотках. Метою фітосанітарних прочищень є доведення стану насадження до меж вимог, що регулюються відповідною нормативною документацією для насаджень цієї категорії (табл. 5, 6, 7 цієї Методики).

Візуально вірусні хвороби оцінюють за ознаками ураження картоплиння. Симптоми вірусних хвороб наведені у розділі 7 цієї Методики, а також додатків до стандарту СЕК-ООН S-1 (Керівництво з польової інспекції насінневої картоплі: практика, що рекомендується та Посібника СЕК-ООН щодо хвороб шкідників та дефектів насінневої картоплі) [21, 7].

Характер прояву зовнішніх ознак вірусних хвороб на картоплі у значній мірі визначається умовами вирощування і залежить від фази розвитку рослин та особливостей сорту. За сприятливих умов мінерального живлення, оптимальної температури і вологозабезпечення симптоми вірусних хвороб можуть маскуватися аж до повного їх зникання. Ознаки деяких хвороб, наприклад, скручування листків, зморшкуватої та смугастої мозаїки посилюються зі збільшенням віку рослини, а ознаки закручування листків, навпаки, послаблюються.

Для попереднього оцінювання стану насаджень перед фітопрочищенням, або проведення моніторингових досліджень, або інспекційного огляду насінницьких ділянок аудитором з сертифікації користуються методом огляду проб, які розподіляють по східчастій діагоналі поля. Проба – це кількість кущів в рядку піряд, без вибору, які ретельно оглядають, а результати нотують. Для

супер-супереліти пробою є 100 рослин, для супереліти та еліти – 50, для сертифікованої картоплі пробою є 20 кущів. Кількість проб залежить від площі поля і класу картоплі та розраховується згідно Методичних рекомендацій з польового оцінювання насаджень насінневої картоплі [19] (табл.8.1).

Таблиця 8.1

Розрахунок кількості проб залежно від класу і площі ділянки

Клас	Об'єм проби, кущів	Кількість проб, якщо площа поля, га			
		до 5	5–10	10–20	більше 20
Супер-супереліта	100	10	15	-	-
Супереліта та еліта	50	10	10	20	+2 на кожні додаткові 10 га
Сертифікована картопля	20	25	25	25	+2 на кожні додаткові 10 га

Достовірне польове оцінювання фітосанітарного стану насаджень насінневої картоплі за зовнішніми ознаками хвороб можливе лише за наступних умов:

- оцінку проводить кваліфікований фахівець (агроном-інспектор, або аудитор із сертифікації, фахівець фітосанітарної лабораторії, фахівець із селекційної роботи, науковий співробітник), який розуміє відмінності симптоматики первинного і вторинного інфікування та сортоспецифічність симптомів;
- агротехніка вирощування насінневого матеріалу картоплі, який оцінюється, має бути оптимальною для даної зони, оскільки занадто високий чи низький фон мінерального живлення, відхилення в строках садіння й інші фактори можуть призвести до помилок в оцінюванні;
- оцінку насаджень слід проводити у строки, зазначені у нормативній документації. Слід враховувати, що симптоми вірусних та інших хвороб краще помітні у похмуру погоду або по заході сонця. Яскраве сонячне світло, мерехтіння освітлених і затінених листків під впливом вітру маскують ознаки будь-яких хвороб на насадженнях картоплі, тому сонце, за можливості, повинно залишатись за спиною інспектора;
- результатом польового оцінювання є документально зафіксований показник розповсюдження хвороб за їх видами, особливо тими, що нормуються.

Для визначення типу хвороби або дефекту, інспектор повинен не тільки оглядати, але й часом детально досліджувати окремі підозрілі рослини. Наприклад, за ураження PLRV нижні листки у рослини скручуються човником, мають світліший колір, втрачають м'якість та відчутно хрупають при стисканні. За ураження чорною ніжкою листки також можуть скручуватись та виглядати світлішими, але вони лишаються м'якими. Крім того, посвітління листків може статися внаслідок інших причин. Тому, інспектор має викопати кілька рослин, щоб знайти інші симптоми і таким чином визначити причину хвороби.

Під час візуального оцінювання фітосанітарного стану насінневої картоплі в нагоді стане розуміння відмінностей симптоматики у випадках вірусних (інфекційних) та неінфекційних хвороб картоплі (табл. 7.2).

Ознаки хвороб картоплі, збудниками яких є бактерії, проявляються як в'янення або гnilі та іноді можуть бути схожі з симптомами ураження рослин грибами, зокрема *Rhizoctonia solani* (ризоктоніоз) або, в іншому випадку, *Verticillium albo-atrum*, *V. dachlae*, *Fusarium spp.* (трахеомікозне в'янення). Проте, у хвороб бактеріального походження є характерні особливості: це водянистість і маслянистість уражених тканин.

Результати польових обстежень (інспекцій) звичайно базуються на візуальному оцінюванні стану культури. Проте, в деяких випадках для уточнення або підтвердження збудника хвороб інспектори можуть проводити експрес-тестування в польових умовах або відбирати зразки для лабораторної діагностики.

8.2 Експрес-діагностика в польових умовах.

8.2.1 Імунохроматографічні експрес-тести. Для уточнення збудника хвороби на сьогодні доступним є достатньо широкий спектр імунохроматографічних експрес-тестів на віруси, бактерії та гриби відомих європейських виробників діагностичних тест-систем. Так, німецька фірма LOEWE® пропонує серію швидких тестів LOEWE®FAST для визначення збудників бактеріальних і вірусних хвороб у польових та лабораторних умовах. Для картоплі пропонуються швидкі тести на віруси PVY, PVX, AMV та на бактерії *Dickeya chrisanthemi*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Ralstonia solanacearum*. Швейцарська фірма BIOREBA також пропонує швидкі тести на основі імунохроматографії AgriStrip (lateral flow) на віруси картоплі PVY, PVX, PVM, PVA, PVS, бактерію *Ralstonia solanacearum* та гриб *Spongospora subterranea*.

Набори, що пропонуються, є дуже зручними у використанні: проба готується з 0,5 см² рослинної тканини, яка береться на межі здорової і ураженої зони, гомогенізується у наданому буфері і закапується у спеціальний отвір корпусу одноразового тесту, а у іншому отворі через 10–15 хвилин утворюються червоні смужки (дві у разі позитивного результату, одна – у разі негативного).

8.2.2 Швидкий специфічний тест на буру гnilь картоплі. За даними НОКЗР (2018), бура гnilь картоплі вперше виявлена в Україні у 2016 році (Житомирська область, 70 га). Тому актуальним буде обізнаність фахівців з насінництва картоплі щодо специфічного швидкого польового тесту на *R. solanacearum* у стеблах картоплі, томату або пасльону. Стебло з ознаками в'янення зрізується біля поверхні ґрунту та вміщується у скляну пробірку з водою. Якщо в'янення спричинено саме *R. solanacearum*, за кілька хвилин у воді можна спостерігати характерне витікання ниткоподібного бактеріального ексудату зі зрізу судин ураженого стебла. Ураження картоплі, томату або пасльону іншими збудниками бактеріальних гnilей не створює такого ефекту.

8.3 Відбір зразків для лабораторного тестування. Для встановлення і підтвердження причини хвороби, а також більш детального вивчення збудників застосовують методи лабораторної діагностики. Найбільш поширеними лабораторними тестами для масової діагностики вірусних хвороб картоплі є імуноферментний аналіз (ІФА), бактеріальних – імунофлуоресцентний (ІФ). Для коректного лабораторного тестування необхідно правильно відібрати зразки для лабораторії.

Для аналізів на вірусні хвороби відбирають проби з повністю розкритих листків (їх кінцеві частки) верхнього ярусу, 3–4 частки з одного куща в окремий пакет або комірку пробозбірника, оптимально 100 проб з ділянки ПП-1–2 (добазова насіннева картопля). В розсадниках базової або сертифікованої картоплі для забезпечення контролю якості в процесі насінництва за заявою виробника, відбирають по одній частці з десяти рослин підряд (1 проба), повторюючи не менше, ніж в десяти місцях по діагоналі поля (10 проб) [15].

Для післязбирального контролю бульбових проб відбір зразків бульб можна здійснювати до, під час або після збирання урожаю. Залежно від класу розмір об'єднаної проби становить 100–200 бульб. Процедура відбору бульбових проб детально описана у розділі 6 цієї Методики.

Відбір зразків у випадку встановлення збудників бактеріальних хвороб відбувається за іншим принципом [16]. Насамперед описуються всі візуальні симптоми (зміна кольору, в'янення, гнилі, деформації, специфічні виділення, особливі ознаки ураження). В пробу беруть рослини з найтипівішими ознаками ураження, причому формують її так, щоб до складу увійшли рослини на різних етапах ураження, а також візуально здорова рослина для контролю. Відібрані проби мають бути сухі та запаковані в окремі пакунки з надписами. При запакуванні цілої рослини важливо, щоб її корені були щільно загорнуті вологим папером або плівкою і перев'язані на початку стебла. Проби відправляються із супровідними документами в лабораторію якомога швидше. Допустиме кількогодинне тримання запакованих проб в холодильнику при +4°C.

9. ЛАБОРАТОРНІ МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАРАЖЕНОСТІ НАСІННЕВОЇ КАРТОПЛІ РЕГУЛЬОВАНИМИ ШКІДЛИВИМИ ОРГАНІЗМАМИ

Залежно від виду оцінювання насінневої картоплі застосовують різні методи тестування. Під час польового оцінювання насаджень картоплі або фітосанітарного моніторингу користуються візуальним методом та ІФА, післязбиральне оцінювання вимагає додаткових методів, наприклад, таких, як тестування на рослинах-індикаторах, а фітосанітарна служба користується усім спектром сучасних методів досліджень регульованих шкідливих організмів у партіях картоплі, що перетинають кордони або перевозяться у межах країни (табл.9.1).

Методи, які застосовуються для тестування насіннєвої картоплі

	Методи	Сфера застосування		
		Насінництво картоплі		Дослідницькі роботи і фітосанітарія
		польове оцінювання	післязбиральне оцінювання	
1	Візуальний огляд	В, Б, Ф, Вд, Г, Н	В, Б, Ф, Вд, Г, Н	В, Б, Ф, Вд, Г, К, Н
2	ІФА	В, Б	В, Б	В, Б
3	Імунохроматографія	В, Б	В, Б	В, Б
4	Імунофлюоресцентний тест		Б	Б
5	Тест на рослинах-індикаторах		В, Б, Ф, Вд	В, Б, Ф, Вд
6	Анатомічний тест Ігеля-Ланге		В	
7	Бактеріальний посів			Б
8	Тести на патогенність		Б	В, Б, Ф, Вд
9	Електронна мікроскопія			В
10	ПЛР			В, Б, Ф, Вд, Н

Примітка: Віруси – В; Бактерії – Б; Фітоплазми – Ф; Віроїди – Вд; Гриби – Г; Комахи – К; Н – нематоди.

З 1994 року Україна є членом Європейської та Середземноморської організації із захисту рослин (ЄОЗР) – міждержавної організації, згідно з умовами Міжнародної конвенції із захисту рослин (ІРРС) відповідальної за міжнародне співробітництво у сфері карантину і захисту рослин в Європейському і Середземноморському регіоні. Тому Урядом країни періодично оновлюється та затверджується Перелік регульованих шкідливих організмів (РШО) [5], що складається з трьох частин: карантинні організми, відсутні на території України; карантинні організми, обмежено поширені на території України та регульовані некарантинні організми. Діючим є Наказ Міністерства аграрної політики України № 716 від 29 листопада 2006 року (у редакції наказу Міністерства аграрної політики та продовольства України від 16 липня 2019 року № 397) [6].

Відповідно до Переліку держава через фітосанітарну службу контролює і регулює шкідливі об'єкти у партіях імпортованої та власної насіннєвої картоплі. Фітосанітарні експертизи з метою виявлення карантинних організмів з переліків А-1 та А-2 (картопляних довгоносиків (*Premnotrypes latithorax*, *Premnotrypes suturicallus*, *Premnotrypes vorax*), картопляної молі (*Tecia solanivora* та *Phthorimaea operculella*), чорного опіку (*Phoma andigena*), сажки (*Thecaphora solani*) та раку (*Synchytrium endobioticum*) картоплі, бурої гнилі картоплі (*Ralstonia solanacearum*), андійських вірусів картоплі (*Potato Andean mottle comovirus*, *Potato black ringspot nepovirus*, *Potato yellow dwarf nucleorhabdovirus*,

Potato yellow vein crinivirus), карантинних нематод (*Meloidogyne chitwoodi*, *Globodera pallida*)), а також переліку некарантинних шкідливих організмів (кільцева гниль картоплі (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum*), віроїд веретеноподібності бульб картоплі (*Potato spindle tuber pospiviroid*), нематоди стеблові (*Ditylenchus destructor*, *Ditylenchus dipsaci*) та цистоутворювальні (*Globodera rostochiensis*) – це компетенція і відповідальність акредитованих фітосанітарних лабораторій. Фітосанітарні експертизи (аналізи) здійснюють в лабораторних умовах на предмет наявності або відсутності шкідливих організмів згідно діагностичних протоколів ЄОЗР серії РМ/7 та державних стандартів на мікологічну [22], бактеріологічну [23], ентомологічну та фітогельмінтологічну [24] експертизи, а також відповідно рекомендацій виробників тест-систем, або методик, описаних у відповідних наукових статтях, або інших оцінених методик, заявлених у сферу акредитації.

Лабораторні методи тестування насінневої картоплі для цілей сертифікації описані для всіх етапів схеми відтворення класів насінневого матеріалу картоплі у додатках до стандарту ЄОЗР РМ 4/28 [25].

Нормативні допуски ураження класів насінневої картоплі за аналізування вегетуючих рослин і для післязбирального вічкового тесту по бульбах (згідно з Методичними вимогами, наказ Мінагрополітики від 12.07.2019 № 384) наведені у таблиці 9.2, а обсяги відбору листкових проб – у таблиці 8.1.

Таблиця 9.2

**Нормативні допуски ступеня
зараження прямого потомства вірусною інфекцією**

Клас/допуск	ВМ (PBTC)	ПП1-2 (PB)	CCE (S)	CE (SE)	E (E)	CH1 (A)	CH2 (B)
У прямому потомстві кількість рослин, заражених вірусною інфекцією, %, не більше	не допускається	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0	за візуальними симптомами *

* для експортно-імпортного постачання у прямому потомстві кількість рослин, заражених тяжкою вірусною інфекцією (PLRV та YBK), не повинна перевищувати 10 %.

9.1. Тестування листкових проб на наявність-відсутність вірусної інфекції методом імуноферментного аналізу (ІФА)

Варіанти ІФА, їх особливості та порядок проведення докладно описані у міжнародному діагностичному протоколі ЄОЗР РМ 7/125 (1) ELISA tests for viruses [10]. Окрім того, кожна з фірм-виробників сертифікованих тест-систем надає детальну інструкцію щодо застосування компонентів набору і порядку проведення реакції. Набори реагентів для тестування всіх вірусів картоплі (карантинних та економічно значимих, як PVY, PVA, PVM, PVS, PVX, PLRV) виробляють кілька відомих фірм-виробників, таких як LOEWE® Biochemica GmbH (Німеччина), BIOREBA AG (Швейцарія), DSMZ (Німеччина), SEDIAG

SAS (Франція), SASA (Шотландія), Neogen Europe Ltd. (Шотландія), Agdia, Inc. (США).

Перелік обладнання, який використовується під час проведення ІФА, наведено у додатку 6 до цієї Методики.

Найбільше поширення у тестуванні прихованих вірусних інфекцій у насінництві картоплі отримав «сандвіч»-варіант твердофазного ІФА, або DAS-ELISA (double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay). Кращі результати отримують при тестуванні соку свіжих проб листків, відібраних під час польових обстежень або осінньо-зимової індексації бульб, але, за дотримання певних умов, для аналізу також можливе використання соку з паростків бульб або з тканин пробіркових рослин. Принцип даної модифікації полягає в послідовній взаємодії тестованого вірусу з фіксованими на твердій фазі й міченими ферментом антитілами з наступним виявленням субстратом фермент-маркера (Рис.9.1). В лунці мікропланшета із зразком, інфікованим вірусом, розвивається кольорова реакція. Оптична густина продукту ферментативної реакції пропорційна концентрації вірусу, який тестується, що дає змогу зчитувати результати інструментально і візуально.

Оскільки існує кілька варіантів постановки ІФА (DAS ELISA, TAS ELISA, РТА-ELISA), а також кожен виробник сертифікованої тест-системи надає власну інструкцію до набору, наведемо лише загальні важливі моменти, без дотримання яких затратний в плані часу і матеріалів аналіз може бути зіпсованим.

По-перше, полістиролові мікропланшети ІФА для фітопатогенних вірусів мають бути марки F з плоским дном та найвищою сорбційною здатністю, що буде зазначено на них як «MaxiSorp». Це одноразовий розхідний матеріал, використовувати повторно не можна!

По-друге, головними компонентами набору є антитіла (Antibody IG) та кон'югат (Antibody-AP-conjugate), їх потрібно розводити 1:200 у відповідних буферах, щоб приготувати робочі розчини для розкапування мікропланшет.

По-третє, сік рослини, що аналізують, має бути свіжим і розведеним 1:20 (деякі методики дають розведення соку 1:10). У практиці масових аналізів найкращим способом є такий: листки кожної проби подрібнюють за допомогою приладу або вручну молотком у пакеті для проб, надрізають куточок і вичавлюють сік у підписану пробірку еппендорф, куди завчасно внесено буфер для проб. Співвідношення 1:1 легко досягти, якщо у мікропробіріці було, наприклад, 300 мкл буфера, доведенням її вмісту соком до 600 мкл. Цей удвічі розбавлений сік може зберігатись кілька годин при +4°C, а потім він буде вдруге розбавлений ще в 10 разів під час внесення зразків в лунки, чим досягнеться кінцеве розведення 1:20. Так, при об'ємах реакції 100 мкл на лунку це буде 90 мкл буфера плюс 10 мкл зразка або при об'ємах реакції 200 мкл – 180 мкл буфера плюс 20 мкл зразка.

По-четверте, під час масових аналізів з метою раціонального використання реагентів реакцію ІФА можна проводити в об'ємах не по 200 мкл, як рекомендує виробник, а по 100 мкл на лунку мікропланшета, для чого слід відповідно перерахувати кількість робочих розчинів так, щоб концентрація реагентів лишалася такою, як рекомендує виробник.



Рисунок 9.1 Схема лабораторного тестування листкових проб методом ІФА у варіанті «подвійний сендвіч» (DAS ELISA)

Також слід чітко дотримуватись рекомендацій виробника щодо умов і термінів зберігання компонентів наборів: розчини антитіл і кон'югатів зберігають при $+4^{\circ}\text{C}$, а пігулки субстрату – при -20°C . Готові буферні розчини також зберігаються замороженими.

Розглянемо перебіг аналізу DAS-ELISA за його етапами (рис. 9.1).

1. *Підготовчі роботи.* Готують мікропланшети. Їх слід підписати відповідними назвами вірусів, наприклад, «М», «Y», «S». Якщо зразків більше, то додається цифра (наприклад, М-1, М-2, М-3). Також готують схему розміщення тестованих зразків на цих планшетах (проводять так званий «дизайн плашок»).

2. *Внесення та інкубація антитіл.* Згідно інструкції розводять антитіла до кожного вірусу і вносять у всі лунки відповідних мікропланшет. Верх планшет заклеюють плівками або закривають кришечками і ставлять на інкубацію для адсорбції внесених антитіл на денцях і стінках лунок. Інкують в термостаті або спеціальному приладі-інкубаторі при $+37^{\circ}\text{C}$ впродовж 4 годин або в холодильнику при $+4^{\circ}\text{C}$ впродовж ночі. Цей процес ще називають сенсibilізацією мікропланшет.

Сенсibilізацію мікропланшет можна проводити завчасно, що скорочує час проведення аналізу. Підписані, промиті й просушені мікропланшети зберігають закритими за температури -20°C до трьох місяців. За використання ліофільного сушіння термін зберігання можна подовжити до одного року.

3. *Промивання.* Після закінчення терміну інкубації сенсibilізовані

планшети промивають промивним буфером, що входить у склад набору або готується за прописом, наданим в методиці, для видалення надлишку антитіл. Цикл промивання повторюють чотири рази як за використання приладу (промивач мікропланшет), так і вручну. Промиті вручну планшети підсушують «вибиванням» різкими рухами об чистий рушник, а на приладі застосовують функцію аерації.

4. *Внесення зразків.* Вимиті і підсушені планшети готові для внесення зразків. Зразки вносять так, як описано вище, або так, як прийнято в лабораторії, але з дотриманням рекомендованої концентрації. Сік з листків зелених рослин має бути свіжим і розведеним 1:20. За використання тканин мікророслин, або вічок чи паростків бульб сік розводять в межах 1:5–1:10, оскільки в таких тканинах вірусу менше і ІФА його може не виявити. Одним і тим самим накінецьником один зразок вносять в кожен планшет (на кожний вірус), зв'язуючись зі схемою. Для іншого зразка накінецьник міняють. Після закінчення процесу внесення зразків вносять контролю з наборів або перевірені власні контролю, кожний своїм накінецьником.

Мікропланшети заклеюють захисною плівкою і ставлять на ніч в холодильник. Метою цього етапу є утворення комплексу антитіло-антиген, тобто вірусний білок має міцно зв'язатися із білком сироватки до цього вірусу (антитілом) в лунках тих зразків, де цей вірус є. Якщо в екстракті зразка немає вірусних часток, комплекс з антитілом утворитись не зможе.

5. *Промивання.* Після інкубування мікропланшети промивають, як зазначено вище.

6. *Внесення та інкубація кон'югату.* В промиті і обсушені планшети вносять розчин кон'югату, який готується і вноситься так само, як і розчин антитіл. У випадку передозування кон'югату та збільшення його концентрації можливі неспецифічні реакції. Мікропланшети знову заклеюють захисною плівкою і ставлять на інкубацію в термостат при +37°C на 4 години, після чого останній раз промивають.

7. *Промивання.* Як зазначено вище.

8. *Внесення субстрату і зчитування результатів.* У промиті мікропланшети вносять завчасно підготований згідно інструкції розчин субстрату в субстратному буфері. Якщо в тестованому зразку вірус присутній, то комплекс антитіло-антиген-антитіло-фермент у ферментативній реакції з субстратом дасть характерне жовте забарвлення розчину в лунці. Реакція проявляється за кімнатної температури через 20–30 хв. після внесення субстрату. Для фіксування слабких вірусних концентрацій результат зчитують повторно через 45–60 хв. від моменту внесення субстрату. Ферментативну реакцію зупиняють внесенням в лунки 5 мкл 3М NaOH (або не зупиняють, і тоді за кілька годин мікропланшет буде повністю жовтий і непридатний для подальшої інтерпретації).

9. *Аналізування та інтерпретація результатів ІФА.* Перше, на що звертають увагу – це стан контрольних лунок. За коректно поставленої реакції ІФА лунки з негативним контролем (сік здорових рослин) мають бути прозорими, а в лунках з позитивним контролем рідина набуває жовтого

кольору. Лунки із зразками, що тестуються, можуть мати жовте забарвлення різної інтенсивності, але в дублях кожного зразка оптична густина (ОГ) повинна бути приблизно однаковою. Результат ІФА можна зчитувати візуально або за допомогою приладу (фотометр для мікропланшет, або «рідер») за довжини хвилі 405 нм.

Результат ІФА **негативний** (вірусів не виявлено), коли забарвлення лунок зразків таке, як і в лунках негативного контролю. За наявності рідера результат вважається негативним, якщо величина ОГ в обох повтореннях кожного зразка є меншою, ніж 0,1 або менше, ніж подвоєний результат ОГ негативного контролю екстракту здорової рослини. Результат ІФА **позитивний** (сік зразка містить віруси), коли забарвлення лунок зразків візуально відрізняється від негативного контролю і наближається або є таким, як у позитивному контролі. За наявності рідера позитивним вважається результат ІФА, коли величина ОГ кожного із двох лунок зразка більше, ніж у три рази перевищує ОГ негативного контролю з екстракту здорової рослини.

Результат ІФА **невизначений**, коли значення оптичної густини зразка лежить на межі граничного рівня оптичної густини для цієї плашки (ГЗ ОГ). В такому разі рекомендується провести аналіз іншим методом чи взяти інший вид антитіл. ГЗ ОГ (або Cut Off), вираховується за формулою: ОГ негативного контролю помножити на 3 та додати квадратичне відхилення повторень цього контролю. ГЗ ОГ вираховується для кожної мікропланшети окремо.

10. *Можливі проблеми.* Проблеми, які найчастіше виникають при проведенні ІФА, зібрані у таблиці нижче (табл. 9.3).

Таблиця 9.3

Проблеми, які можуть виникати при проведенні ІФА

Проблема	Можливі причини	Способи усунення проблем
1	2	3
Високий фон у всіх лунках мікропланшета	Забруднений промивач	Почистити головку промивача голкою та промити його 30%-м розчином етилового спирту, потім дистильованою водою
	Зіпсувався промивний буфер	Використовувати тільки свіжоприготований буферний розчин
	Низька якість або забруднення води	Провести технічне обслуговування дистиллятора та використовувати для аналізу лише свіжий дистиллят
	Зіпсувались буферні розчини, або один з них за неправильного зберігання	Дотримуватись умов зберігання буферних розчинів, в тому числі промивного буфера. Будь-які розчини, що помутніли, непридатні для ІФА
	Брудний посуд	Використовувати для реагентів окремий посуд, відразу після використання промивати його дистильованою водою, періодично – хромовою сумішшю або детергентами

Закінчення таблиці 9.3

	Наявність хлору на робочому місці	Не використовувати на робочому місці і не зберігати поблизу дезрозчини з хлором Дотримуватися режиму інкубації згідно з інструкцією
	Збільшено час інкубації або змінено температурний режим	Уважно вносити субстратний розчин, не допускаючи пропусків або подвійних внесень
Високий фон в окремих рядах	Помилка внесення субстратного розчину	1. Прочистити піпетку і набирати рідину обережно, щоб не було "підсосу" розчину. 2. Для кон'югату виділити (і підписати) окремі піпетки
	Забруднення конусу автоматичної піпетки розчином кон'югату	Почистити канал промивача, промити промивач 30%-м розчином етилового спирту, потім дистильованою водою
	Забруднений один із каналів промивача	Почистити головку промивача голкою та промити його 30%-м розчином етилового спирту, потім дистильованою водою
Не відтворюються дублі	Забруднений промивач	Повторно провести ІФА, звернути увагу на приготування всіх реагентів і ретельне дотримання інструкції
Відсутнє забарвлення всього планшету	Помилка у приготуванні або не внесений один із реагентів	Неправильне зберігання субстрату, взяти свіжі пігулки
	Зіпсувався субстрат	Якщо результати у зразках читаються, зчитати їх. Для наступної реакції переробити розчини контролів; Якщо результати сумнівні – повторно провести ІФА, звернути увагу на дотримання всіх вимог інструкції
Відсутнє забарвлення контролів	Зіпсувались робочі розчини контролів	Повторно провести ІФА, звернути увагу на приготування цих реагентів
Слабкі результати (позитивні контролі нижче вимог інструкції)	Неправильно приготовані розчини реагентів (найчастіше це кон'югат або субстратний розчин)	

У випадку виявлення будь-яких відхилень аналіз необхідно повторити із урахуванням та усуненням виявлених недоліків. Аналіз також вважається недостатнім і тест потрібно повторити, якщо результати одного і того ж зразка у двох суміжних лунках (дублях) різняться між собою більше ніж на 50 %.

Якщо під час масових аналізів насіннєвого матеріалу методом ІФА достатньо відповіді так-ні (позитивний результат, тобто вірус є, або негативний результат, тобто вірусу немає), то у селекційній або дослідницькій роботі

бувають випадки, коли необхідним завданням є кількісні оцінювання концентрації вірусів в окремих рослинах або пробах. Рішення можливе лише за використання фотометра (рідера) та додаткового спеціального аналізу (на кожен вірус) з різними розведеннями вірусного розчину відомої концентрації, з метою отримання калібрувальної кривої, яка відображує кореляцію оптичної густини продукту ферментативної реакції зі зміною концентрації вірусів. Подальшу кількісну оцінку вмісту вірусних часток у досліджуваному матеріалі проводять на основі отриманої калібрувальної кривої.

9.2. Імунохроматографічний швидкий тест

Імунохроматографічні експрес-тести на віруси, бактерії та гриби, які зараз доступні на ринку, є простими пристроями, що працюють за принципами латерального проточного імуноаналізу, та призначені для однокрокового виявлення присутності цільового організму (або речовини, зокрема ферментів або токсинів) в рідкому зразку без необхідності використання спеціалізованого і дорогого устаткування (рис.9.2). Ці тести пропонуються у двох варіантах виконання: мембранні тест-смужки без захисного корпусу, які можна використовувати як документи (AgriStrip, BIOREBA, ImmunoStrip, Agdia) та мембранні тест-смужки у захисному корпусі, так звані «пocket-тести» (LOEWE®FAST, LOEWE®, PocketTest Sediag). До набору входять буфер для зразка, пакет для проби, піпетка та власне пристрій (тест-смужка).



Рисунок 9.2 Схема будови тест-смужки для латерального проточного імуноаналізу (імунохроматографічний швидкий тест)

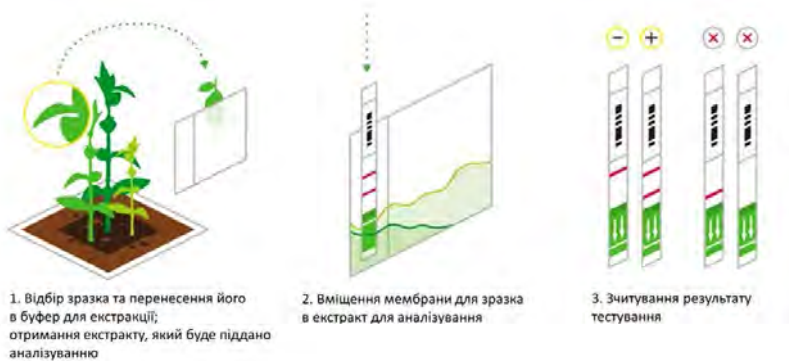


Рисунок 9.3 Порядок дій із швидким тестом ImmunoStrip, Agdia. Інтерпретація результату (3): наявні контрольна і тестова смужки – результат позитивний, контрольна без тестової – негативний, тестова без контрольної або відсутність обох смужок – помилка тестування або непридатність тесту

Імунохроматографічні експрес-тести дуже прості у використанні, тому вони мають бути присутні як у сумці інспектора з сертифікації під час польового оцінювання насаджень насінневої картоплі, так і в лабораторії для швидкого визначення або уточнення збудника, у випадках, коли масові аналізи робити недоцільно.

9.3. Визначення ураження картоплі вірусами за допомогою рослин-індикаторів

9.3.1 Механічна інокуляція дослідних рослин (рослин-індикаторів) є одним з найдавніших діагностичних методів, що використовуються у вірусології рослин [25–27]. В основі методу лежить здатність деяких видів рослин реагувати на зараження вірусами, віроїдом веретеноподібності бульб і фітоплазмами.

Цей метод може використовуватися для виявлення та характеристики вірусів рослин і віроїдів. Саме цей метод забезпечує широкий скринінг на віруси рослин без попереднього знання тих збудників, які можуть бути присутніми у досліджуваному матеріалі, включаючи неочікувані віруси і віруси, які є новими для науки. Крім того, інокуляція тест-рослин дає можливість для отримання і накопичення ізолятів вірусу, для підтримки та виготовлення довідкового (референтного) матеріалу, в якому присутній лише цільовий вірус. У випадку змішаних інфекцій, добір специфічних індикаторів може бути використаний для отримання чистих ізолятів.

З огляду на всі позитивні сторони цього випробуваного часом методу у 2022 році було прийнято і затверджено міжнародний стандарт для роботи з рослинами-індикаторами (PM 7/153 (1) Mechanical inoculation of test plants) [28].

За реакцією на ураження вірусами рослини-індикатори поділяються на дві групи: ті, що реагують місцевою некротичною реакцією та ті, які реагують

системним ураженням [26]. У рослин-індикаторів першої групи може використовуватись кожен листок на рослині або зірваний з неї. З другої групи рослин-індикаторів використовують цілі молоді рослини. Перша група більш придатна для серійної діагностики. Друга група більш чутлива, але робота з нею займає більше часу і ресурсів.

Вибір рослин-індикаторів залежить від поставлених цілей і вірусів, наявність або відсутність яких потрібно підтвердити. Найпоширеніми у щоденній роботі з картоплею є *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana benthamiana*, *N. glutinosa*, *N. tabacum* (сорт «Білий Берлей») та *Phaseolus vulgari* (сорт «Принц»). Можна також використовувати інші рослини або поєднання рослин, щоб якомога повніше виявити віруси в досліджуваних рослинах. Наприклад, було показано, що комбінація *Chenopodium quinoa*, *Nicotiana occidentalis* P1 і *N. occidentalis* subsp. *hesperis*-67A (раніше: *Nicotiana hesperis*-67A) виявляє всі вірусні інфекції картоплі. Рекомендується вибрати тестові рослини на основі оцінки вірусів, які можна очікувати та включати принаймні один вид рослин з того ж сімейства, що й досліджуваний зразок.

Основні рослини-індикатори відповідно [27] подані в табл. 9.4. Найбільш поширений спосіб механічної інокуляції – це втирання соку рослини, що впробовується, в листок рослини-індикатора.

Таблиця 9.4

**Основні рослини-індикатори та ознаки реакції
на їх зараження вірусами**

Рослина-індикатор	Збудник	Симптоми ураження на рослинах-індикаторах	Метод зараження
1	2	3	4
<i>Gomphrena globosa</i> L. Гомфрена головчаста	ХВК	Сіро-коричневі або жовтуваті з червоною облямівкою некрози на 8–10 або, за сприятливої температури – на 5–6 добу	Інокуляція листків на рослині або на зрізаних листках
<i>Datura stramonium</i> L. Дурман звичайний	ХВК	Мозаїка (іноді з некротичними плямами на листках, що розташовані вище тих, які піддавалися ураженню або летальна некротична реакція). Проявлення на 19–23 добу	Інокуляція листків на рослині
<i>Nicotiana tabacum</i> L. Тютюн справжній (Самсун)	УВК	Сильне посвітління жилок на молодих листках (у подальшому зникає), обламання більш старих листків. Поширення на всіх листках. Проявлення на 17–24 добу. За температури повітря 22–25 °С на 10–12 добу з'являється сітка на жилках. На 90 добу інтенсивна темно-зелена мозаїка	Інокуляція листків на рослині

1	2	3	4
TE-I і TE-2 (різновиди <i>S. chacoense</i>)	УВК	Чорна некротична кільцева плямистість на всі штами	На зрізаних частках листка аналогічно А-6, але можливо і за звичайних кімнатних умов, за більш пізнього проявлення симптомів
<i>Physalis aequata</i> Rydb. Фізалис звичайний	УВК	Сильний некроз жилок листків. У випадку інокуляції Y ^o ознаки ураження не проявляються. У випадку інокуляції Y ^N на верхіткових листках світло-жовта мозаїка, що супроводжується некрозами	Інокуляція листків на рослині
<i>Lycopersicon pimpinellifolium</i> (juvl.) Томат смородино- листий	АВК	Некроз на нижніх листках через 7 діб, згодом поширюється по всій рослині; через 2 тижні спостерігається загибель рослини	Інокуляція листків на рослині
<i>Solanum rostratum dunal</i> Паслін дзьобатий	SBK	Некротичний червонуватий некроз, спочатку (через 28 діб) локальний, а згодом (через 35–42 діб) системний. Інфекція до квітнування призводить до загального відмирання листків, які залишаються звисати на стеблах	Інокуляція листків на рослині
<i>Nicotiana debneyi</i> Domin Тютюн Дебнея	SBK	Явно виражене загальне (системне) просвітління жилок і мозаїчність через 20–25–28 діб	Інокуляція листків на рослині
<i>Gomphrena globosa</i> Гомфрена головчаста	МВК	Локальні некрози не раніше, ніж через 10 діб після зараження, у яких червона зовнішня зона менш чітко обмежена, ніж у випадку інфекції вірусом ХВК і переходять в зелену тканину	Зірвані листки в чашках Петрі за температури 10–25 °С й освітленні 4–6 тис. люкс, можлива інокуляція листків і на рослині
<i>Nicotiana glutinosa</i> Тютюн клейкий	FBK	Характерна яскрава мозаїка	Інокуляція листків на рослині
<i>Capsicum annuum</i> Перець однорічний	FBK	Локальний некроз, просвітління жилок системна мозаїка та опадання листків.	Інокуляція листків на рослині
<i>Physalis aequata</i> Фізалис звичайний	ВСЛК	Сильне гальмування росту; хлороз, скручування листків, некрози флоєми; симптоми через 15–30 діб; за температури 24 °С початкові симптоми вже на 6–8 добу	Зараження молодих рослин за допомогою вірофорної попелиці <i>Myzodes persicae</i> .

1	2	3	3
<i>Lycopersicon esculentum</i> Помідор їстівний (сорт томатів Pogrupe)	ВВБК	Зниження висоти рослин, гальмування росту бокових пагонів, світло-зелене забарвлення і зморщування листків верхнього ярусу, які зменшуються за розміром, некрози, з'явлення симптомів через два-три тижні і більше, залежно від температури.	Після зараження щепленням або легким втиранням, або хльостанням рослин томатів картоплинним
<i>Scopolia sinensis</i> Скополія китайська	ВВБК	Через 7–10 або 10–15 діб (залежно від штаму) після інокуляції на листках прояв локальних некрозів	Після зараження щепленням або легким втиранням, або хльостанням рослин картоплинним

Насіння індикаторних рослин висівають за 1–1,5 місяця до початку процедури їх інокуляції (зараження). Для того, щоб до часу випробування всі рослини-індикатори були майже одного віку, їх висівають в різний час – з урахуванням особливостей розвитку кожного з них. Насіння *G. globosa* і *N. tabacum*, у яких сходи з'являються пізніше, висівають на 7–10 днів раніше строку посіву насіння перцю, а насіння дурману і *S. demissum*, які швидко розвиваються – на 15–20 днів пізніше посіву насіння томату. Для того, щоб постійно мати для нових випробувань молоді рослини-індикатори, посів насіння повторюють з проміжками біля двох тижнів. У теплиці підтримують температуру не нижче 18–20°С. Щоб у теплиці не було комах, вікна і двері затягують сіткою й систематично, через кожні три-п'ять днів рослини оброблюють інсектицидами.

Рослини-індикатори пікірують в невеликі (5–20 см) горщики. Заражують молоді рослини при утворенні 2–4 справжніх листків. Для рослин картоплі, які випробовують, беруть не менше 2–3 рослин кожного виду індикатора. За два-три дні до інокуляції рослини-індикатори виносять в прохолодне (12–15 °С) і напівтемне приміщення, де й проводять процедуру. Для цього кілька листків рослини картоплі, що випробовують, ретельно розтирають у порцеляновій ступці. Розтерту масу поміщають у марлю, складену в 2–3 шари, і через неї віджимають сік у склянку. Віджатий сік розбавляють дистильованою водою (1:1), після чого приступають до зараження.

Під час діагностики нестійких вірусів, в яких швидко знижується інфекційність у віджатому соку (АВК), додають стабілізуючу речовину типу 0,1 %-ного розчину гіпосульфїту або сульфїту натрію в співвідношенні 1:1.

Під час інокуляції *N. debneyi* Domin SBK листки рослин, що випробовуються, гомогенізують у порцеляновій ступці з додаванням фосфатного буферу рН 8,0 у співвідношенні 1:1 з метою стабілізації інфекційності. Інокульовані рослини затіняють на добу, потім витримують на розсіяному світлі за температури 18–25 °С.

У випадку інфікування рослин TE-1 і *Physalis aegata* вірусом картоплі Y

кращі результати одержують при застосуванні фосфатного буферу рН 7,0.

Інокуляцію проводять таким чином: верхню поверхню двох-трьох листків рослини-індикатора злегка присипають карборундовою пудрою для полегшення проникнення соку в тканину під час втирання. Можна використовувати також корунд (окис алюмінію). Скляним шпателем беруть краплю соку зі склянки і обережно, без натискання, круговими рухами втирають сік у верхню поверхню листків. Листок з нижньої сторони підтримують пальцем, щоб відчувати силу тертя і не допустити надмірного ушкодження поверхні листка. Ще краще втирати сік у листки за допомогою шматочків поролонової губки, змоченої інфекційним соком, або вушною палички. Після втирання залишки карборунда і соку змивають з листків водою за допомогою пульверизатора. У листки контрольних рослин замість інфекційного соку втирають дистильовану воду.

Застосовують також безпосереднє нагирання листків індикатора зрізом рослин, які випробовуються.

Інокульовані рослини-індикатори впродовж доби залишають у напівтемному приміщенні, потім переносять у звичайні теплиці. Слідкують, щоб рослини-індикатори стояли, не торкаючись інших. У спекотливі години дня рослини затіняють від яскравого сонячного світла. Через чотири-п'ять днів після зараження починають систематичний огляд рослин з метою своєчасного виявлення симптомів, які з'являються.

9.3.2 Використання окремих листків. У разі випробування на індикаторах, які порівняно швидко реагують на інфекцію локальними некрозами (гомфрена), зручно використовувати окремі листки, зірвані з рослини-індикатора. В цьому випадку листки поміщають на змочений фільтрувальний папір у чашки Петрі або в емальовані лотки, які накривають склом, за температури приблизно 24 °С, освітленості 4000–6000 люкс і відносній вологості повітря біля 100 %. За природного освітлення строк прояву симптомів хвороби збільшується. Таким методом проводять випробування на листках *S. demissum* для визначення АВК, на листках *Comphrena globosa* для визначення ХВК, на частках листка клону А-6 і ТЕ-1 і ТЕ-2 для визначення УВК і АВК. У випадку використання А-6 оптимальний вік рослин для використання листків – три-п'ять тижнів.

Сучасна схема тестування насінневої картоплі на рослинах-індикаторах наводиться у міжнародному стандарті, що стосується схем сертифікації (РМ 4/28(2) [25]) (табл.9.5).

Рослини-індикатори для тестування вірусів картоплі

Види вірусів	Рослини-індикатори					
	<i>Chenopodium quinoa</i>	<i>Nicotiana benthamiana</i>	<i>N. glutinosa</i>	<i>Nicotiana occidentalis</i> cv. P1	<i>N. tabacum</i> cv. White burley	<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. The prince
<i>Potato virus A (PVA)</i>				✓	✓	
<i>Potato virus M (PVM)</i>				✓		✓
<i>Potato virus S (PVS)</i>	✓			✓		
<i>Potato virus X (PVX)</i>		✓	✓	✓	✓	
<i>Potato virus Y (PVY)</i>		✓		✓	✓	
<i>Potato leafroll virus (PLRV)</i>						
<i>Alfalfa mosaic virus (AMV)</i>	✓			✓		✓
<i>Beet ringspot virus (BRSV)</i>			✓			
<i>Cucumber mosaic virus (CMV)</i>	✓					
<i>Potato aucuba mosaic virus (PAMV)</i>			✓	✓		
<i>Potato mop-top virus (PMTV)</i>	✓	✓				
<i>Potato virus V (PVV)</i>		✓		✓		
<i>Tobacco mosaic virus (TMV)</i>			✓	✓		
<i>Tobacco necrosis virus D (TNV-D)</i>	✓			✓		✓
<i>Tobacco rattle virus (TRV)</i>	✓					✓
<i>Tomato black ring virus (TBRV)</i>	✓			✓	✓	
<i>Tomato mosaic virus (ToMV)</i>			✓	✓	✓	
<i>Tomato spotted wilt virus (TSWV)</i>		✓	✓	✓	✓	

Примітка: *Chenopodium quinoa* відрізняється своєю чутливістю до ізолятів PVS і не виявляє деяких. Тоді як *C. murale* виявить усі ізоляти. ІФА також виявляє всі ізоляти PVS.

9.3.3 Визначення вірусу скручування листків. На відміну від мозаїчних вірусів, вірус скручування листків переноситься лише шляхом щеплення або периковою попелицею *Myzodes persicae* Sulz.

Метод щеплення полягає у прищепленні пагонів досліджуваної рослини на здорові рослини дуже чутливого на цей вірус сорту картоплі. Пагони, які утворюються нижче місця прищеплення, через три тижні мають виразні симптоми скручування.

Більш надійним, але й більш затратним способом визначити наявність ВСЛК у досліджуваних рослинах є зараження за допомогою попелиць. Для цього, окрім теплиці з рослинами-індикаторами, потрібен фахівець-ентомолог, перикова попелиця та спеціальне обладнання. Перикову попелицю, вільну від вірусів, розмножують в умовах ізоляції на рослинах ріпаку, ріпи, кормової брукви або китайської капусти. Можна використовувати звичайну капусту.

Потім листки кормової культури разом з безкрилою попелицею поміщають на спеціальні полицки в холодильнику на 2 години за температури мінус 5–7 °С. Після цього полицки ставлять у камеру і підсвічують 4 год. Попелиця з проморожених листків під дією світла через спеціальні отвори в камері

збирається в скляні трубочки діаметром 8–12 мм і більше. В кожну трубочку збирають 10 і більше попелиць. Один кінець її закрито капроною сіткою, інший після збору попелиць закривають пробкою.

Під час випробування пробку знімають і трубочку з попелицею, вільною від вірусів, надавають на листок рослини картоплі, що випробовується, і залишають на ньому, а через 7–10 днів трубочку з попелицями переносять на рослину-індикатор. Попелицю, вільну від вірусів, можна переносити на рослину картоплі, що випробовується, і на рослину-індикатор за допомогою зволоженої щітки або пензлика.

Попелиця на рослині індикаторі живиться впродовж 3 днів. Після цього рослини обприскують афіцидами для знищення попелиць.

В умовах теплиць перші симптоми скручування па листках *Physalis floridana* з'являються через 8–12 діб після зараження. Період між зараженням і проявом повної картини симптомів в усіх заражених рослинах – від 18 діб (в червні-липні) до 30–35 у березні і вересні.

Оптимальний строк випробування в теплицях на рослинах *Ph. floridana* березень-жовтень, за додаткового освітлення – впродовж усього року.

Під час випробувань на вірус скручування листків в бульбах попелиці підсаджують на паростки бульб, а потім пересаджують на сіянці *Ph. floridana* висотою 1,5 см. Вірус скручування листків спричиняє зупинку росту цих рослин. Якщо вже є паростки на бульбах, для випробування необхідно всього 14 днів.

9.3.4 Визначення віроїду веретеноподібності бульб картоплі.

Визначення ураження рослин картоплі ВВБК за використання рослин-індикаторів описано у міжнародних протоколах (PM 7/138 (1) та IPPC (2015) ISPM 27 DP7) [13, 29]. Рекомендують проводити тестування на рослинах томату сорту Rutgers, Moneymaker, Sheyenne або інших сортів відповідної чутливості.

Для інокуляції молодих рослин томату готують суспензію із 200–500 мг тканини листків, кореня або бульби досліджуваної рослини у 0,1 М фосфатному інокуляційному буфері (рекомендовано розведення вага/об'єм 1:1), який містить карборунд (400 меш). Фосфатний буфер (рН 7,4) готується змішуванням 80,2 мл 1 М K_2HPO_4 з 19,8 мл 1 М KH_2PO_4 та доведенням об'єму дистилатом до 1 л.

Молоді рослини томатів з одним або двома повністю розкритими листками інокують за допомогою пальця в рукавичці, або ватної палички, яку занурюють у підготовану інокуляційну суспензію та обережно протирають поверхню листків інокулятом, після чого листок відразу промивають водою до видалення карборунду.

Оскільки на концентрацію віроїду впливають температура та рівень освітлення, інокульовані рослини слід вирощувати в контрольованих умовах, за добових коливань температури 24–39°C і фотоперіодом 14 годин, з додатковим підсвічуванням натрієвою лампою приблизно в 650 $\mu E/m^2/s$ (Grassmick & Slack, 1985, IPPC, 2015). Нижчі температури та слабке освітлення можуть знизити чутливість тесту. Рослини оглядають щотижня для виявлення симптомів впродовж 6 тижнів після інокуляції (рис.9.4). Симптоми інфікування тест-рослин віроїдом також будуть залежати від патогенності штаму віроїду та його

концентрації в соці досліджуваних рослин картоплі.

Характерними симптомами віроїдної інфекції на помідорах будуть: карликовість, епінастія, зморшкуватість листків, скручування молодих листків з країв, хлороз листків, почервоніння, крихкість та некроз.



Рисунок 9.4. Симптоми ураження томатів віроїдом: а – зупинка росту, деформація і закручування молодих листків донизу (рослина праворуч); б – слабка міжжилкова мозаїка

Для науково-дослідницьких цілей з метою встановлення штаму ВВБК з соком індикатора можна провести подальші дослідження сучасними методами: ЗТ-ПЛР та подальше секвенування продукту реакції.

9.3.5 Визначення ураження картоплі фітоплазмами. Фітоплазми не передаються механічним способом. Для їх діагностування на індикаторах використовують щеплення або введення інокулюму шприцем (ін'єктування). Для прищепи можна використати верхівку головного стебла або його гілки, або черешок листка досліджуваної рослини. У такому випадку зростання під час щеплення не обов'язкове. Достатньо, щоб прищепка була живою впродовж доби, для чого місце щеплення треба захистити від висихання. Через певний проміжок часу, залежно від виду індикатора, спостерігають за проявом симптомів. Характерними симптомами, пов'язаними з інфекцією фітоплазми, є: віресценція (розвиток зелених квіток та втрата нормальних квіткових пігментів); флодія (розвиток квіткових частин у листові структури); відьмина мігла (розростання допоміжних або пазухових пагонів) та інше аномальне розростання пагонів і коріння; пожовтіння, почервоніння та інші зміни кольору листків; деформації і зменшення розміру листків і плодів; некроз флоєми; загальна затримка росту [30].

Для іншого варіанту, яким користуються у науково-дослідних установах [16], потрібна 6-добова чиста культура виділених фітоплазм у рідкому поживному середовищі СМ ІМВ-72 та здорові рослини картоплі.

Інокулюють молоді рослини шприцом за методом Клемента, щоб не спричиняти руйнівних пошкоджень рослинних тканин. Зазвичай на 14–21 добу фіксують появу характерних симптомів (табл. 9.6).

Таблиця 9.6

Симптоми ураження картоплі фітоплазмами

Хвороба (збудник)	Симптоми
Відьмині міглі картоплі (Potato witches broom phytoplasma)	Затримка росту, зменшені розміри листків, хлороз, утворення численних тонких пагонів з редукованими листками
Стовбур (Potato stolbur phytoplasma)	Хлоротичність і редукція листків, позеленіння квітів, в'янення і загибель рослини
Круглолистість листків картоплі (Potato round leaves phytoplasma)	Значна затримка росту, вкорочення міжвузлів, утворення додаткових пагонів, більш або менш виражена дрібнолистість
Пурпурне закручування верхівки (Aster yellows phytoplasma)	Здрібніння верхніх листків з виразним закручуванням країв і антоціановим забарвленням

9.4. Визначення ураження картоплі бактеріями за допомогою рослин-індикаторів (біотестування і тест на патогенність)

9.4.1 Біотестування. Рослини-індикатори також використовують для визначення ураження картоплі бактеріальними патогенами, зокрема, *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* (*C.m.s.*) (збудник кільцевої гнилі картоплі) та *Ralstonia solanacearum* (збудник бурої гнилі картоплі). За міжнародними діагностичними протоколами РМ 7/59(2) [31] та РМ 7/21(3) [32] цей тест є обов'язковим для підтвердження наявності та патогенності *C.m.s.* та *R. solanacearum* у пробі, а, відтак, у зразку картоплі.

Для тестування на *C.m.s.* рекомендується баклажан (*Solanum melongena*) сорту Black Beauty, але можливо використовувати інші сорти з подібною чутливістю.

Для виявлення *R. solanacearum* перевагу віддають розсаді томатів (*Lycopersicon esculentum*), зокрема, сорту Moneymaker.

Умови вирощування повинні бути оптимальними, щоб звести ризик хибно-негативних результатів до мінімуму.

Висівають насіння баклажанів і томатів рекомендованих сортів у пастеризований ґрунт для теплиць. Через 10–14 днів, коли повністю розвинуться сім'ядолі, розсаду пікують у пастеризований ґрунт для квітів та вирощують до фази 2 справжніх листків у теплиці або культивацийній кімнаті, дотримуючись таких умов:

- температура денна – 21–24 °С;
- температура вночі – 14–18 °С;
- період штучного освітлення – 14 годин або природне освітлення в разі, коли світловий день довший, ніж 14 годин.

За дві доби перед інокуляцією розсаду не поливають, аби зменшити тургор.

Інокуляцію тест-рослин можна проводити одним з двох методів: інжекткуванням або шляхом надрізу. Звичайно на зразок використовують 15–25 рослин, але допускається зменшити їх кількість до 5–10 рослин. Баклажани або томати мають бути у фазі 2 справжніх листків, до повного розкриття 3-го листка, темно-зеленого кольору. Інокулянт (близько 10^6 клітин/мл) готують з 3-денних культур ізолятів, що аналізуються, та з відповідних штамів позитивного контролю (*S.m.s.* та *R. solanacearum*). Негативним контролем є стерильний буфер, на якому готували інокулянт зразків і позитивних контролів.

Інокуляцію інжекткуванням проводять стерильним інсуліновим 1-мл шприцом з голкою 29 G, по краплині двома уколами (приблизно 5–10 мкл) в стебло вище сім'ядольних листків.

За інокулювання шляхом надрізу (інший спосіб) рослину тримають двома пальцями і наносять дозатором на стебло, між сім'ядолями і першим листком, одну краплину (близько 5–10 мкл) інокуляту. Стерильним скальпелем, починаючи від краплини інокуляту, роблять діагональний надріз довжиною 1 см і глибиною, приблизно 2/3 товщини стебла. Закривають надріз стерильним вазеліном за допомогою шприца.

Інокульовані рослини витримують до 4 тижнів при 18–24°C на розсіяному світлі та при високій відносній вологості (не менш 70%), щоб запобігти втратам води та в'яненню рослин. Оптимальна температура для росту *S.m.s.* є 21 °C, бо за температури вище, ніж 30°C бактеріальні клітини гинуть. Рослини баклажанів або томатів, інокульованих збудником бурої гнилі, витримують два тижні за температури 25–28°C та підвищеної відносній вологості. Підвищену вологість забезпечують періодичним обприскуванням.

Під час догляду за рослинами слід дотримуватись відповідних правил, щоб уникнути перезараження рослин. Позитивні та негативні контролі тримають на окремих стелажах. Якщо культиваційні площі обмежені, передбачають розмежування контролів і проб перегородками. В культиваційному приміщенні не повинно бути комах-переносників. Слід регулярно оглядати інокульовані рослини на предмет виявлення симптомів, які починають проявлятися впродовж перших двох тижнів після інокуляції.

Ураження *S.m.s.* призводить до поникання листків, яке починається як загальне або міжжилкове в'янення. Уражена тканина спочатку темніє або покривається плямами, але світлішає перед відмиранням. Міжжилкове в'янення часто виглядає як жирні плями. Некротизована тканина має яскраво-жовту облямівку.

Симптоми ураження *R. solanacearum* проявляються на тест-рослинах у вигляді в'янення, епінастії, хлорозу та зморшкватості, іноді може бути лише затримка у рості. Тест з витіканням бактеріального слизу із зрізу ураженого стебла у воді, а також спостереження за формуванням крапель слизу після розрізу стебла, є дуже важливими характерними ознаками інфікування *R. solanacearum*.

Рослини, на яких симптоми через 2 тижні не проявились, потрібно ще тримати до 4 тижнів (за температури, що сприяє росту баклажанів, але не більше

25°C). За відсутності симптомів через 4 тижні, культуру, що тестувалась на індикаторах, не можна підтвердити як патогенну форму.

Процес біотестування на збудників чорної ніжки (*Pectobacterium* spp. та *Dickeya* spp. описано у діагностичному протоколі PM 7/155 (1) [33]. Як тестові рослини використовують розсаду томатів (*Lycopersicon esculentum*) сорту Moneymaker, а також картоплю та китайську капусту (*Brassica rapa* var. *chinensis*). Досліджувану добову бактеріальну культуру суспендують у стерильній дистильованій воді в концентрації 1×10^8 КУО/мл та використовують для інокуляції інжектуванням розсади томатів у стебло між другим та третім справжнім листком. Інокульовані рослини накривають на 48 годин пластиковими накривками та вирощують до трьох тижнів за температури 22 °C та 16-годинного освітлення, спостерігаючи за розвитком симптомів.

9.4.2 Тест на пектолітичні властивості. Одним із методів діагностики збудників чорної ніжки картоплі (*Pectobacterium* spp. та *Dickeya* spp.) є тест на мокру гниль за Штапом [16, 32]. Він базується на здатності збудників хвороби викликати мацерацію тканин бульб картоплі. Бульби картоплі ретельно миють, поверхнево стерилізують і розрізають стерильним скальпелем на шматочки приблизно 15x15x10 мм, які розкладають на зволожений стерильний фільтрувальний папір у чашку Петрі. Досліджувану культуру бактерій або уражену тканину досліджуваного матеріалу розтирають і змішують з водою. Отриману суспензію піпеткою наносять на шматочки бульб таким чином, щоб вони були повністю вкриті нею. Після цього матеріал поміщають в термостат і витримують впродовж однієї-двох діб за температури 20 °C. Якщо в аналізованому рослинному матеріалі були присутні збудники мокрої гнилі *Pectobacterium* spp. та *Dickeya* spp., то тканина мацерається (розм'якшується і загниває). Для виявлення збудника мокрої гнилі замість бульб картоплі можна використовувати шматочки цибулі або моркви.

9.4.3 Реакція надчутливості. Реакцію надчутливості широко використовують для визначення патогенних властивостей ізолятів бактерій. За результатами цього тесту можна відрізнити фітопатогенні бактерії від сапрофітних [16].

У добре розвинені листки рослин тютюну (*Nicotiana tabacum*) сорту Самсун або Гавана інсуліновим шприцом вводять досліджувану бактеріальну суспензію в стерильній воді в концентрації 1×10^7 КУО/мл. Укол слід робити під шкірку з нижньої сторони листка поблизу бічних жилок у найщільніше місце. Старі листки для цього підходять краще, ніж молоді. За 1–2 доби тканина починає відмирати (некротизуватися), якщо бактерія є фітопатогенною. Деякі фітопатогенні ізоляти призводять до ознак прояву надчутливості вже за 8–10 годин. Сапрофітні бактерії не призводять до некротизації тканин інокульованих листків, навіть у високій концентрації (1×10^9 КУО/мл).

9.5. Анатомічний метод Ігеля-Ланге

Метод застосовують для діагностики вірусу скручування листків картоплі в бульбах [26]. Баується він на виявленні полісахариду – калези, який утворився

у провідних судинах флоєми стебла і бульб, уражених вірусом скручування листків картоплі. Бульби, призначені для аналізування, за 15 днів до аналізу переносять з сховища у приміщення з кімнатною температурою (18–20 °С). Потім від бульби гострим ножом відділяють нижню частину на відстані близько 2 см від столонного сліду. Відокремлену частину розрізають на дві половини в поперечному напрямі до площини початкового розрізу вздовж столонного сліду. Далі готують три зрізи товщиною 0,5–1,0 мм поблизу столонного сліду. Зрізи на 10 хвилин занурюють в попередньо приготований 1%-й розчин резорцинового голубого (або анілінового голубого, або розолової кислоти) і після промивання переглядають під мікроскопом за 50–70-кратного збільшення.

У хворих бульбах у ситовидних клітинах внутрішньої і зовнішньої флоєми, розташованих навколо судин ксилеми, спостерігаються забарвлені тяжі, штрихи і крапки. У здорових бульб можуть бути тільки невеликі забарвлені крапки. Діагностичне значення має провідна система, розташована на деякому віддаленні від столонного сліду, так як в безпосередній близькості від нього калеза у флоємі може бути виявлена також і у здорових бульбах.

Для приготування розчину 1 г резорцинового голубого розчиняють в 100 мл дистильованої води і додають 1 мл концентрованої 25 %-ої аміачної води. Розчин залишають у відкритій посудині (флакони) впродовж 14 днів на світлі за кімнатної температури. Барвник набуває зеленувато-блакитного кольору і фарбує калезу у глибокий голубий колір.

Метод Ігеля-Ланге широко використовують в насінництві картоплі в Голландії, Швейцарії, Німеччині. Дані про достовірність цього методу виявлення ВСЛК часто суперечливі, що пояснюють різною схильністю до калезоутворення у хворих рослин різних сортів картоплі.

Очевидно, використанню методу Ігеля-Ланге в насінництві картоплі України має передувати робота щодо встановлення ступеня його достовірності за визначення вірусу скручування листків на конкретних сортах, зареєстрованих в тій чи іншій зоні.

9.6. Метод електронної мікроскопії

9.6.1 Метод електронної мікроскопії (ЕМ) є не тільки частиною діагностичних методів, але і використовується під час вивчення морфології і біології вірусів, особливостей взаємовідносин з рослинами і переносниками, а також під час визначення концентрації віріонів [26, 34]. Методом ЕМ можна досліджувати не тільки препарати екстрактів уражених рослин (рис.9.5), але й ультратонкі зрізи фіксованих в епоновій смолі тканин, що дає змогу спостерігати розташування вірусних мас у рослинних клітинах (рис.9.6), а також, наприклад, процеси зборки віріонів або досліджувати взаємодії вірусів і комах-переносників.

Під час перегляду препаратів в електронному мікроскопі на екрані видно зображення вірусних часток. Для того, щоб зображення віріонів було чітко видимим, використовують контрастування вірусних препаратів під час їх приготування – напilenня металом (хром, вольфрам, золото, платина та ін.) або

негативне контрастування за допомогою розчинів хімічних сполук (фосфорновольфрамова кислота (ФВК), вольфрамат натрію, молібденовокислий амоній та ін.). Негативне контрастування відкриває можливості для вивчення внутрішньої структури вірусів.

Під час діагностики фітовірусів звертають увагу на форму і розмір віріонів, оскільки багато вірусів мають особливості у морфології віріонів. Проте, поєднання методів ЕМ та імунологічних (ІФА, ІХА) дає чітке розуміння того, частки яких вірусів виявлено.

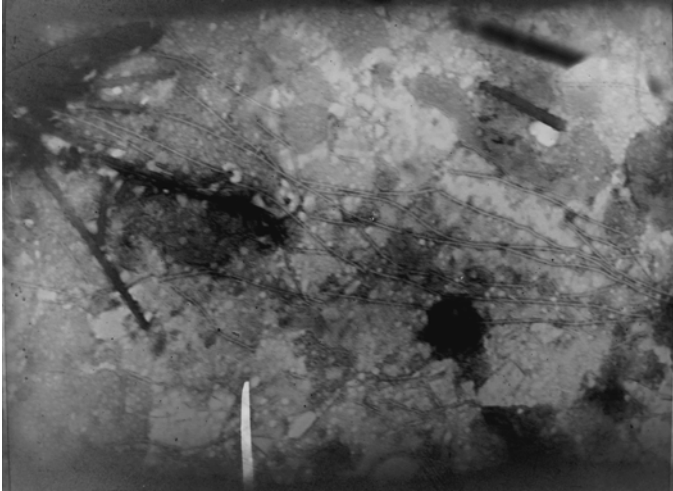


Рисунок 9.5. Вірусні частки YVK та MBK в нативному препараті з соку листка картоплі, x40000

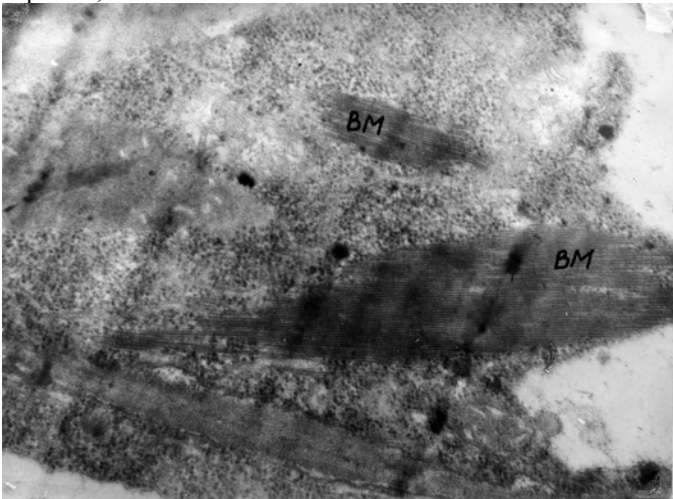


Рисунок 9.6. Ультратонкий зріз клітини картоплі, інфікованої MBK, позначені паракристали MBK у цитоплазмі, x73000 (фото М.М.Зарицького)

Для приготування вірусних препаратів використовують спеціальні сітки з міді, нікелю або платини діаметром 4 мм, які покривають плівкою-підкладкою з колодія або формвару. Для приготування нативних препаратів найбільш надійним є метод розведеної суспензії.

Шматочок листка (1 см² або 10–30 мг) ретельно розтирають у порцеляновій ступці до отримання однорідної маси. Потім, продовжуючи розтирати гомогенат, додають невеликими порціями 10–20 мл дистильованої води. Отримують однорідну розбавлену суспензію. Краплю суспензії наносять на сітку, і після висихання напилують металом. Є інша модифікація цього методу, коли шматочок тканини біля 0,5 см² гомогенізують (розтирають) скляною паличкою в мікроступці у краплині контрастуючого розчину (3–5%-м ФВК), після чого на поверхню суспензії на 1–2 хвилини поміщають сітку плівкою-підкладкою донизу. Після закінчення терміну адсорбції плівку переносять у краплину чистого розчину ФВК для відмивання від шматочків тканини і додаткового контрастування. Далі препарат висушують на повітрі і вкладають у комірку касети для препаратів до моменту перегляду на електронному мікроскопі.

Метод придатний для стабільних паличкоподібних і ниткоподібних вірусів, які мають відносно високу концентрацію віріонів в тканинах рослин.

9.6.2 Імуносорбентна електронна мікроскопія (ІСЕМ). Принцип методу зводиться до адсорбції специфічної сироватки на плівку-підкладку з подальшою інкубацією мікрокраплі досліджувального соку рослин з обробленою антисироватковою сіточкою. В даному випадку комплекс антиген-антитіло утворюється на плівці-підкладці. Завдяки попередній обробці предметних сіток антисироваткою вірусні частинки зв'язуються і концентруються подібно тому, як це відбувається в ІФА. В порівнянні зі звичайним варіантом електронної мікроскопії ІСЕМ виявляє в 100–200 раз більше часток УВК, ХВК, МВК, СВК.

Іншим варіантом є метод «декорування» вірусних часток шляхом приєднання гомологічних антитіл, що призводить до спостереження видимого шару молекул антитіл по периметру віріона. Технологічні особливості варіантів приготування розчинів та препаратів ІСЕМ описуються у міжнародному діагностичному протоколі (PM 7/126 (1) Electron microscopy in diagnosis of plant viruses) [34].

Проте, ця методика не підходить для масового тестування насіннєвої картоплі, оскільки потребує досвідченого персоналу для приготування, перегляду зразків та оцінки зображень (результатів), але використовується у науково-дослідних установах.

9.7. Метод полімеразної ланцюгової реакції

Метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) також поки що не став методом масових аналізувань у насінництві картоплі, хоча комерційні набори для визначення вірусів ХВК, СВК, МВК, УВК, АВК, ВСЛК, віріду веретеноподібності бульб картоплі (ВВБК), як і збудників бактеріозів (бурої і кільцевої гнилі картоплі та чорної ніжки) широко представлені на міжнародному

ринку. Необхідність спеціалізованої лабораторії, дорогого обладнання, кваліфікованого персоналу і висока вартість наборів нівелюють плюси цього методу (специфічність аналізу становить понад 99 %, чутливість – 10–100 одиниць патогена/см³). Визначення цих самих патогенів більш технологічно і обходиться дешевше у випадку використання ІФА. Тому, лабораторіями, які використовують метод ПЛР, у нас лишаються науково-дослідні установи та акредитовані фітосанітарні лабораторії, які контролюють біобезпеку України, працюють за міжнародними діагностичними протоколами і користуються сертифікованими наборами для визначення у вантажах карантинних шкідливих організмів.

9.8. Імунофлуоресцентний аналіз

Імунофлуоресцентний аналіз поєднує специфічність взаємодії антиген-антитіло з виявленням імунного комплексу, який утворився, за допомогою мітки-флуорохрому, ковалентно пришитої до антитіла. Флуорохром поглинає ультрафіолетові промені і випромінює хвилі видимого діапазону, тому досліджують флуоресценцію за допомогою люмінесцентного мікроскопу. Завданням імунофлуоресцентного аналізу є виявлення локалізації та відносного вмісту будь-якого білка, для якого є специфічні антитіла.

Імунофлуоресцентний аналіз широко використовується в медицині та наукових дослідженнях, а також у фітосанітарії.

Існують дві модифікації імунофлуоресцентного аналізу: метод прямої імунофлуоресценції, заснований на зв'язуванні антитіл, мічених флуорохромом (наприклад, флуоресцеїном), з антигенами на поверхні або всередині мікроорганізмів та метод непрямой імунофлуоресценції, коли об'єкт спочатку обробляють антитілами до антигенів, характерним для даного мікроорганізму, а потім вторинними антитілами, специфічними до перших. Непрямий варіант імунофлуоресцентного аналізу має ряд істотних переваг перед прямим варіантом і отримав більш широке використання, так як можна мати тільки одну флуорестуючу антикроячу сироватку (універсальний кон'югат, FITC) і використовувати її під час проведення робіт з широким набором комплексів «антиген-антитіло», отриманих на основі кролячої сироватки.

Непрямий тест імунофлуоресценції для патогенних рослинних бактерій (ІФ) є масовим аналізом в фітосанітарії [11], а також добре вписується у діагностичний супровід насінництва картоплі. Тест на імунофлуоресценцію рекомендується використовувати як основний тест швидкого виявлення *Ralstonia solanacearum* та *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, а також *Pectobacterium* spp. та *Dickeya* spp. в пробах картоплі, що аналізуються (рис. 9.7). Він має використовуватись як у добазовому (оцінювання вихідних клонів, післязбиральне оцінювання), так і в базовому (післязбиральне оцінювання) насінництві картоплі.

Всі світові виробники тест-систем ІФА для рослин пропонують також сертифіковані комерційні набори для ІФ, які складаються зі специфічної антисироватки до певного бактеріального збудника (концентрат антитіл),

універсального кон'югату (FITC) та внутрішнього контролю. Аналіз проводять на спеціальних мультівіконних слайдах – зафарбованих предметних скельцях з 3–5 парами прозорих лунок діаметром 6 мм. Результат переглядають за використання мікроскопа з УФ блоком.

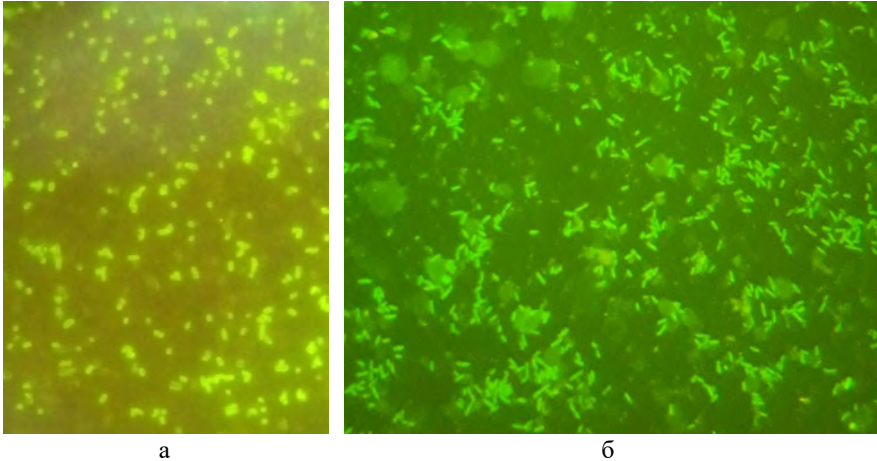


Рисунок 9.7. Результат ІФ-тесту бактеріальних ексудатів уражених бульб. Відмінності у морфології клітин *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (а) та *Dickeya chrysanthemi* (б)

Міжнародний діагностичний протокол РМ 7/097 Indirect immunofluorescence test for plant pathogenic bacteria [11] докладно описує загальні принципи, етапи приготування лабораторних проб із зразків рослин, склад буферних розчинів, приготування розведень зразка або сироватки, скелець позитивних і негативних контролів. Проте, за використання комерційних сертифікованих наборів слід віддавати перевагу інструкціям виробника, оскільки можуть існувати певні розбіжності у температурах або термінах інкубації для різних бактеріальних збудників.

Звичайно антитіла та реагенти для ІФ-аналізу транспортуються за кімнатної температури. Але тривале зберігання компонентів можливе лише за рекомендованих умов. Антисироватка розводиться та зберігається аликвотами (порціями) при -20°C . Вторинні антитіла, або універсальний кон'югат, у ліофілізованому вигляді можуть зберігатись в холодильнику до використання. Але після регідратації аликвоти універсального кон'югату повинні зберігатись при -70°C . Альтернативним способом зберігання аликвот робочого розчину FITC є зберігання при -20°C , але з додаванням рівного об'єму гліцерину до кінцевої концентрації 50 %. Слід мати на увазі, що додавання гліцерину знижує заявлену концентрацію білка і діапазон розведення наполовину.

Основне правило зберігання компонентів для ІФ: уникати повторного розморожування та заморожування!

Якщо ІФ-аналіз проводиться як скрінінговий тест, рекомендується використовувати поліклональні антитіла для більш повного виявлення варіацій і біоварів збудника. Для ідентифікації збудника застосовують моноклональні антитіла. За використання моноклональних антитіл, аналіз проводять з розведенням екстракту зразка. Аналізують розведення 1:10 та 1:100 у фосфатному буфері (PB).

Як приклад наводиться процедура проведення тесту непрямої імуофлуоресценції за інструкцією до наборів фірми LOEWE® [35], яка складається з наступних етапів:

1. Фіксація екстракту лабораторної проби (зразка)

Внести по 20 мкл зразків у віконця мультівіконного предметного скла та зафіксувати їх шляхом нагрівання при 60°C впродовж 20 хвилин з використанням термостатованої нагрівальної плити (або в інший спосіб, описаний для ІФ, як то: в парах спирту або над полум'ям пальника. За необхідності, зафіксовані предметні скельця можуть зберігатись у морозильній камері до 3-х місяців до проведення тесту).

2. Застосування специфічної антисироватки

Внести по 20 мкл розведеної антисироватки у віконця на фіксовані препарати. Інкубувати слайди у вологій камері впродовж 30 хвилин за кімнатної температури (18–25°C).

3. Промивання

Струсити крапельки з кожного предметного скла і обережно сполоснути буфером для ІФ. Промити, занурюючи приблизно на 5 хв. у буфер для ІФ-Tween, а потім на 5 хв. у буфер для ІФ. Промити дистильованою водою та видалити зайву вологу (наприклад, підсушити скельця в інкубаторі при 37°C).

4. Застосування вторинного міченого антитіла (кон'югату)

Нанести по 20 мкл робочого розчину кон'югату у віконця слайду. Інкубувати в темряві у вологій камері впродовж 30 хвилин за кімнатної температури.

5. Промивання

Ретельно промити слайди, як вказано вище (п.3)

6. Читання результату

Нанести по 5–10 мкл гліцерину з фосфатним буфером на віконце та накрити покривним склом. Слід уникати надмірного впливу світла на готові слайди. Переглядають слайди на епіфлуоресцентному мікроскопі при збільшенні 400–1000 (потрібна імерсійна олія).

Спочатку перевіряють слайд позитивного контролю: клітини мають бути яскраво-флуоресцентні і повністю пофарбовані у визначеному титрі антитіл або в робочому розведенні.

Далі переглядають лунки зразків у двох діаметрах (під прямим кутом і по периметру). Для зразків з малою чи нульовою кількістю клітин потрібно вивчити не менше 40 мікроскопічних полів. Враховують лише флуоресціюючі клітини типового розміру і морфології, як у контролі (в титрі чи в робочому розведенні антитіл).

Інтерпретація результатів ІФ аналізу

Якщо яскраві флуоресцентні клітини з певною морфологією знайдені, то слід підрахувати середню кількість типових клітин на полі мікроскопа і обчислити кількість типових клітин на мл ресуспендованого осаду, як описано в протоколі [11].

ІФ тест є позитивним, якщо в суспензії з осадом або в зразку екстракту виявлені флуоресцентні морфологічно типові клітини. Однак, в будь-якому випадку, на основі лише позитивного ІФ тесту не можна робити остаточний висновок стосовно латентно інфікованого зразка. Позитивний результат ІФ тесту означає ймовірну присутність збудника в цьому зразку. Суспензії з осадом чи зразок екстракту потребують подальшого аналізу та проведення інших тестів для підтвердження чи спростування результату ІФ тесту.

Межі виявлення ІФ тесту переважно становлять від 10^3 – 10^4 клітин на мл суспензії осаду чи екстракту зразка.

Приводяться такі дані чутливості методу, отримані на основі міжлабораторних порівнянь з поліклональними антитілами Loewe Biochemica до *R.solanacearum* [11]. Діагностична чутливість: 100%, на основі тестування 187 планових проб картоплі (по 200 бульб), з них 14 проб дало позитивний результат, а 173 – негативний згідно з повною процедурою аналізу. При концентрації бактеріальних клітин до 10^5 КУО/мл 100% проб було виявлено, при 10^4 і 10^3 КУО/мл, відповідно лише 50 % і 33 %. Концентрація 10^2 КУО/мл лежить нижче порога чутливості.

Згідно з *Методичними вимогами, наказ Міністерства політики від 12.07.2019 № 384, додаток 9*

Обсяг вибірки від партії насіннєвої картоплі, упакованої в мішки або ящики

Об'єм партії, кількість мішків або ящиків, шт.	Об'єм вибірки	
	кількість пакувальних одиниць, які відбираються, шт.	число точкових проб, усього
До 100 включно	5	10
Понад 100, до 200 включно	10	15
Понад 200, до 400 включно	15	20
Понад 400, до 600 включно	20	25

Примітка. Від партії понад 600 пакувальних одиниць відбирають 20 і додатково по одному мішку, ящику від кожних 100 наступних мішків або ящиків у партії (не менше двох точкових проб від кожного додатково відбраного мішка, ящика).

Згідно з *Методичними вимогами, наказ Міністерства політики від 12.07.2019 № 384, додаток 10*

Обсяг вибірки від партії насіннєвої картоплі, упакованої в контейнери

Об'єм партії, кількість контейнерів, шт.	Об'єм вибірки	
	кількість пакувальних одиниць, які відбираються, шт.	число точкових проб, усього
1	2	3
До 10 включно	2	10
Понад 10, до 30 включно	3	15
Понад 30, до 50 включно	6	30
Понад 50, до 100 включно	8	40

Примітка. Від партії понад 100 пакувальних одиниць відбирають вісім і додатково по одному контейнеру від кожних 10 наступних контейнерів у партії (не менше п'яти точкових проб від кожного додатково відбраного контейнера).

Згідно з Методичними вимогами,
наказ Міністерства політики від 12.07.2019
№ 384, додаток 11

Відбір проб від партії неупакованої насіннєвої картоплі

1	Маса партії, т	Число точкових проб
		2
До 10 включно		10
Понад 10, до 30 включно		15
Понад 30	та додатково по 2 точкові проби від кожних наступних	15
		10 т

Акт відбору проб насінневої картоплі
від " _____ " _____ 20 _____ р. № _____.

Мною, аудитором із сертифікації (агрономом-інспектором) _____ (прізвище, власне ім'я та

по батькові) (за наявності), наймувану посади) _____

відповідно до вимог _____ (зазначається назва та реквізити ДСТУ

_____ або іншого документа відносно до винок якого відібрано пробу)

проведено огляд партії насінневої картоплі та відібрано середні проби від партії насінневої картоплі, яке належить

_____ (найменування юридичної особи, код згідно з ЄДРПОУ, прізвище, власне ім'я, по батькові) (за наявності), рестраційний номер облікової картки платника податків (єрм випадків, коди

_____ фізична особа через свої релігійні переконання відмовилася від прийняття рестраційного номера облікової картки платника

_____ податків та офіційно повідомила про це відповідному контролюючому органу і має відмітку в паспорті) або серія (за наявності),

_____ номер паспорта/фізичної особи - підприємця, ким і коди видавни, місцезнаходження / місце проживання)

для здійснення _____ (зазначається тип проби)

Місце відбору проб: _____ (зазначається адреса, за якою здійснюється відбір проб насіння)

Відбір проб проведено за участі:

_____ (найменування посади) _____ (підпис)

_____ (власне ім'я та прізвище)

_____ (найменування посади) _____ (підпис)

_____ (власне ім'я та прізвище)

Відомості про відібрані проби:

№ з/п	Назва сорту	Категорія	Клас польового покоління	Інформація про походження*	Рік урожаю	Рік пакування	Номер партії	Маса партії, т	Число, місьць (кількість мішків)	Найменування хімічного препарату, для прогнозування	Призначення відібраної проби	Розмір об'єкту проби	Призначення насіннєвої картоплі (вид аналізу)	Регістраційний номер проби**
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

* зазначається країна походження / країна виробництва

** заповнюється відповідальним працівником випробувальної лабораторії

Проби опломбовано та направлено до випробувальної лабораторії _____

(підписувача)

_____ (назва випробувальної лабораторії, код згідно з СДРНОУ, місцезнаходження)

Додаткова інформація _____

Зваження та пропозиції аудитора із сертифікації (агронома-інспектора) _____

Аудитор із сертифікації (агроном-інспектор) _____

(підпис)

_____ (власне ім'я та прізвище)

Додаток 5

Згідно з Наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України
06 грудня 2023 року № 2111

(Найменування випробувальної лабораторії, код згідно з ЄДРПОУ,

місцезнаходження та контактні дані)

(Відомості щодо акредитації:

№ атестата про акредитацію,
строк дії)

Протокол лабораторних досліджень з визначення посівних якостей насіннєвої картоплі

від _____ року № _____

Заявник _____
(найменування юридичної особи, код згідно з ЄДРПОУ, прізвище, власне ім'я, по батькові (за наявності),

реєстраційний номер облікової картки платника податків (крім випадків, коли фізична особа через свої релігійні

переконання відмовилася від прийняття реєстраційного номера облікової картки платника податків та офіційно

повідомила про це відповідному контролюючому органу і має відмітку в паспорті) або серія (за наявності),

номер паспорта фізичної особи - підприємця, ким і коли виданий, місцезнаходження / місце проживання)

Інформація про об'єкт досліджень:

Акт відбору проб насіннєвої картоплі від _____ року № _____

Номер партії _____

Маса партії _____ кг, кількість одиниць паковань _____ шт

Відомості про обробку насіннєвої картоплі _____
(назва препаратів або діючих речовин)

Реєстраційний номер проби та дата одержання _____

Опис та стан проби _____

Проба насіння _____
(назва ботанічного таксону, назва сорту, категорія)

виробленого в _____ у _____ році*.

Лабораторні дослідження насіння здійснено відповідно до _____
(заголовок нормативно-правового акта, ДСТУ)

Дати проведення лабораторних досліджень _____

Випробувальна лабораторія, якою проведено лабораторні дослідження**

Фактори навколишнього середовища, відносна вологість та температура в приміщеннях відповідають вимогам методик виконання вимірювань та зафіксовані у відповідних журналах.

Значення та допуск показників встановлено _____
(зазначається нормативно-правовий

акт, яким встановлено показники якості насіння)

Результати лабораторних досліджень:

Назва показника, одиниця вимірювання	Значення і допуск показника за нормативним документом	Результати лабораторних досліджень	Нормативний документ на метод лабораторних досліджень	Розширена невизначеність $k = 2^{***}$
1	2	3	4	5
Наявність бульб інших сортів, %				
Найбільший поперечний діаметр для сортів з формою бульби, мм:				
видовженою				
округло-овальною				

Закінчення додатка 5

Наявність бульб, що не відповідають вимогам за розміром, %				
Наявність бульб, уражених хворобами, %:				
мокрою гниллю				
кільцевою гниллю				
бурою бактеріальною гниллю				
чорною ніжною				
сухими гнилями (фітофтороз, фомоз, гумова гниль, фузаріоз, альтернаріоз)				
ризиктоніоз (ураження бульби понад 10 %)				
паршею звичайною (з ураженням понад 33,3 % поверхні бульби)				
паршею порошистою (з ураженням понад 10 % поверхні бульби)				
зморщені бульби, у т. ч. внаслідок ураження паршею сріблястою				
Наявність пошкоджених бульб, % з них:				
уражених стебловою нематодою				
пошкоджених дротяником (понад 3 ходи)				
пошкоджених гризунами, хрущами, совками				
з механічним пошкодженням (завглибки до 5 мм і завдовжки до 10 мм)				
із залізистою плямистістю та потемнінням м'якоти (за ураженням більш ніж 1/4 повздовжнього розрізу бульби)				
Наявність бульб, %:				
пошкоджених хімікатами				
з ознаками задухи				
з опіками				
підмерзлі				
спотворені				
з наростами				
Розчавлені				
різані (завглибки понад 5 мм і завдовжки понад 10 мм)				
з обдіраною шкіркою понад % поверхні				
Наявність землі і домішок, %				
Сума допусків у %, за масою (бульб, уражених хворобами, з механічними пошкодженнями і шкідниками)				

* зазначається рік врожаю

** зазначається у разі проведення випробувань на умовах субідряду

*** розширена невизначеність вимірювання - це фактичне значення, виражене в одиницях виміральної величини, отримане шляхом множення стандартних невизначеностей на фактор покриття $k = 2$, що передбачає нормальний розподіл невизначеності і відповідає 95 % ймовірності покриття.

Висновок: представлена проба за визначеними показниками _____ ВИМОГАМ

відповідає / не відповідає (необхідне зазначити)

(назва нормативно-правового акта, ДСТУ)

Відповідальний(-ні) виконавець(-ці)

_____ (посада особи, якою здійснено лабораторні дослідження)

_____ (власне ім'я та прізвище)

_____ (посада особи, відповідальної за складання протоколів)

_____ (підпис)

_____ (власне ім'я та прізвище)

ЗАТВЕРДЖУЮ

_____ (дата)

_____ (посада)

_____ (підпис)

_____ (власне ім'я та прізвище)

1. Інформація про пробу вказується відповідно до акта відбору проб.
2. Передік обладнання, на якому проводились випробування, при необхідності може бути представленим.
3. У протокол випробувань використовують наступні скорочення: НВ "-" - не визначались.
4. Дані щодо допустимих відхилень, коефіцієнта варіації (к), додаткових умов розрахунків чи умов проведення при необхідності можуть бути представленими.

Додаток 6

Згідно з Методичними вимогами,
наказ Мінагрополітики від 12.07.2019
№ 384, додаток 13

Норми відбору проб для лабораторного тестування

Найменування категорії	Клас	Норми відбору проб
Категорія ДН	Базові клони для введення в культуру <i>in vitro</i> (BM)	100 % рослин
	Вихідні мікророслини для клонального розмноження в культурі <i>in vitro</i> (BM)	100 % рослин
	Рослини в теплицях або укривних тонелях для отримання мінібульб (BM)	250 рослин по сорту
	Перше, друге польове покоління з мінібульб (НН1-2)	200 бульб від 1 га
Категорія БН	Супер-супереліта (CCE)	110 бульб від партії (50г) або площі 1 га
	Супереліта (CE)	110 бульб від партії (50г) або на площі 3га*
	Еліта (E)	
Категорія СН	СН-1	100 бульб від партії (50г) на площі 3 га*

*На насадженнях, площею більших, ніж 3 га відбирають по 1 бульбі від куща у 20 місцях за схемою «вісімки».

Згідно з Методичними вимогами,
наказ Мінагрополітики від 12.07.2019
№ 384, додаток 11

**Перелік обладнання, необхідного
для проведення імуноферментного аналізу**

Термостат сухоповітряний (або твердотільний, термостат-термошейкер) для планшетів, який підтримує температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$
Фотометр вертикального сканування, що дозволяє вимірювати оптичну щільність розчинів в лунках плоскодонного планшета для ІФА за відповідної довжини хвилі
Ваги аналітичні з точністю до 0,001 г ($\pm 0,0005$ г)
Дозатори напівавтоматичні одноканальні зі змінною місткістю зі змінними накінечниками, що дозволяють відбирати об'єми рідини 0,002–0,02 мл, 0,05–0,2 мл, 0,2–1,0 мл
Піпетки напівавтоматичні багатоканальні зі змінною місткістю зі змінними накінечниками, що дозволяють відбирати обсяг рідини 0,05–0,25 мл
Промивач планшетний автоматичний
Посуд мірний місткістю 1; 0,5; 0,35; 0,25; 0,1; 0,05; 0,01 дм^3
Мікропробірки поліпропіленові конічні з кришкою місткістю 1,5 см^3
Ступки порцелянові місткістю 25–50 см^3 з товкачем або гомогенізатор ручний / автоматичний
pH метр
Папір фільтрувальний, вода дистильована
Таймер з точністю вимірювань 1 хв
Діагностичні ІФА-набори для визначення вірусних (ХВК, СВК, МВК, УВК, ВСЛК) і бактеріальних (збудників чорної ніжки та кільцевої гнилі) фітопатогенів картоплі з порогом чутливості для вірусів – 10–50 $\text{нг} / \text{см}^3$, збудників бактеріозів – 104–105 клітин / см^3
Лійки скляні діаметром 10 см
Холодильники з камерами комбіновані або окремі, що підтримують температуру від + 4 $^\circ\text{C}$ до -32 $^\circ\text{C}$ (для зберігання аналізованого матеріалу)

*Згідно з Методичними вимогами,
наказ Мінагрополітики від 12.07.2019
№ 384, додаток 14*

**Засоби та перелік обладнання
для проведення бульбового аналізу**

Ваги неавтоматичної дії, що забезпечують точність зважування з межами абсолютної похибки $\pm 0,01$ кг
Деко з градчастим або сітчастим дном з розміром отворів не більше 60 мм
Ніж з висотою ріжучої частини 1,5 мм (картопляний)
Лінійка з ціною поділки 1 мм
Шаблон калібрувальний з квадратними або округлими отворами розмірами 25, 28, 30, 35, 40, 45, 50, 55 і 60 мм або штангельциркуль
Ніж столовий
Мішки або ящики із суцільним дном і стінками або відра, корзини
Вода, брезент, віник

Згідно з Методикою визначення сортів та посівних
якостей, наказ Міністерства економіки
від 19.01.2021 № 91, додаток 15

АКТ № _____
бульбового аналізу насіннєвої картоплі
“ _____ ” _____ 20 ____ р.

Мною, аудитором із сертифікації (агрономом-інспектором) _____
(прізвище, ім'я, по батькові (за наявності), посада, місце роботи)

в присутності відповідального представника господарства _____

(прізвище, ім'я, по батькові (за наявності), посада)
проведено визначення якості бульб насіннєвої картоплі сорту _____
категорії _____, класу, № польового покоління _____
маса партії _____ тонн, що знаходиться в сховищі № _____,

(найменування та місцезнаходження суб'єкта господарювання)

Результати аналізу:

1. Маса об'єднаної проби, кількість бульб кг _____, штук _____;
2. Маса бульб для визначення прихованих дефектів, кількість бульб _____ кг _____ шт.;
3. Наявність бульб розміром менше від встановленого _____ кг/шт. _____%; більше встановленого _____ кг/шт. _____%;
4. Маса бульб, уражених хворобами, кількість бульб, всього _____ кг/шт. _____%, у тому числі:
 - 4.1. Мокрою гниллю (чорна ніжка, кільцева гниль) _____ кг / шт. _____%;
 - 4.2. Сухими гнилями (фузаріоз, фомоз, альтернаріоз, фітофтороз) _____ кг/шт. _____%;
 - 4.3. Ризоктоніозом (за ураження більш 1/10 поверхні бульби) _____ кг/шт. _____%;
 - 4.4. Паршею звичайною (за ураження більш 1/3 поверхні бульби) _____ кг/шт. _____%;
 - 4.5. Паршею порошистою (за ураження більш 1/10 поверхні бульби) _____ кг/шт. _____%;
 - 4.6. Зморщені бульби у т.ч. внаслідок ураження паршею сріблястою _____ кг/шт. _____%;
 - 4.7. Наявність бульб з механічними пошкодженнями і шкідниками та деформованих, всього _____ кг/шт. _____%;
у тому числі:
пошкоджених дротяником _____ кг/шт. _____%;
гризунами, хрущами, совками _____ кг/шт. _____%;
наявність бульб з залізистою плямистістю і потемнінням м'якоті (ураження більш ¼ поверхні бульби) _____ кг/шт. _____%.
5. Наявність бульб:
 - з ознаками задухи _____ кг/шт. _____%;
 - підморожених _____ кг/шт. _____%;
 - з опіками _____ кг/шт. _____%;
 - потворних _____ кг/шт. _____%;
 - з вторинним ростом, наростами, що легко обламуються _____ кг/шт. _____%;
 - розчавлених _____ кг / шт. _____%;
 - з обдертою шкіркою (оголення більш ¼ поверхні бульби) _____ кг/шт. _____%;
6. Наявність землі і сторонніх домішок _____ кг/шт. _____%;

7. Бульб іншого ботанічного сорту _____ кг/шт. _____ %;
Крім того виявлено _____ кг /шт. _____ %;
Сума допусків (по 4.1-4.7) _____ %.

Висновок _____

Аудитор із сертифікації
(агроном-інспектор) _____
(підпис) (прізвище, ім'я, по батькові (за наявності))

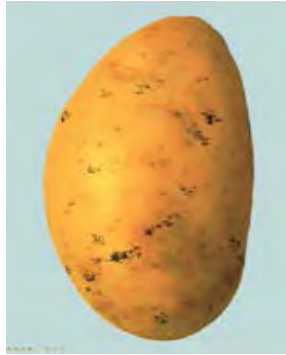
Ключ для оцінки відсоткової частини ураженої поверхні бульби хворобами, які проявляються у вигляді плям[8].

Ризоктоніоз

1 % поверхні бульби



Рівномірний розподіл склероціїв



Концентрований розподіл склероціїв

10 % поверхні бульби



Рівномірний розподіл склероціїв



Концентрований розподіл склероціїв

Парша звичайна (оцінково 33,3 %)



Парша сітчата (оцінково 33,3 %)



Парша порошиста (оцінково 10 %)



ІНФЕКЦІЙНІ ХВОРОБИ ТА УРАЖЕННЯ БУЛЬБ КАРТОПЛІ

11.1 ГРИБНІ ХВОРОБИ НА БУЛЬБАХ КАРТОПЛІ

Найбільш розповсюджені грибні хвороби картоплі

Суха гниль — це термін, який використовується для опису сухого розкладання бульб. Воно може бути наслідком ураження картоплі грибами родів *Fusarium* spp., *Phoma* spp., *Colletotrichum* spp., *Alternaria* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., або вірусами, або абіотичними чинниками (температура, незбалансоване живлення, ушкодження гербіцидами). Суха гниль може бути наслідком системної інфекції в полі або починатися з механічних або інших пошкоджень під час збирання та зберігання бульб.

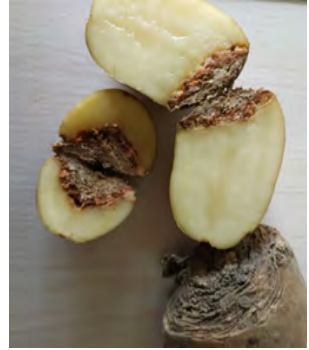


Рисунок 11.1. Фузаріозна суха гниль, що починається зі столонного кінця бульб. Міцелій внутрішній



Рисунок 11.2. Фузаріозна суха гниль, зовнішній і внутрішній міцелій

Фузаріозна суха гниль (*Fusarium* spp.) може починатись із столонного кінця бульб (рис.11.1), коли картопля в полі була уражена фузаріозним в'яненням, або з іншого місця, ушкодженого механічно. В сухих умовах гриб може не виходити на поверхню шкірки бульби, а за підвищеної вологості утворює подушечки поверхневого спороносного міцелію (рис.11.2). Хвороба призводить до великих втрат під час зберігання.

Фомозна суха гниль (*Phoma* spp.), яка має прояв у вигляді темної плями, що згодом «провалюється», починається зазвичай зі столонного кінця, а також гриб може проникати в бульбу через вічка, сочевички, вирозки парші, ходи дротяників або механічні пошкодження під час збирання (рис. 11.3). Хвороба проявляється у другій половині вегетації і призводить до передчасного всихання картоплин (бадилля), і зараження патогеном ґрунту мінімум на 3 роки. Також призводить до значних втрат у період зберігання.



Рисунок 11.3. Фомозна суха гниль на бульбах картоплі

Антракнозна суха (а також мокра) **гниль** (*Colletotrichum* spp.) проявляється в кінці вегетації в спекотливі посушливі роки. Передчасне пожовтіння листків супроводжується сухими вдавненими плямами в місцях прикріплення черешків, а також численними дрібними чорними склероціями на поверхні та в середині стебел. Незначне поверхнєве ураження бульб нагадує сріблясту паршу (рис.11.4), більша концентрація інфекції призводить до некрозів по типу фузаріозно-фомозної гнилі, але

відрізняються від неї чорним кольором ураженої тканини бульби, з великою кількістю в ній склероціїв гриба (рис.11.5). За підвищеної вологості можливе загнивання бульб по типу мокрої гнилі.



Рисунок 11.4. Плями антракнозного ураження на шкірці бульб, і найкраща діагностична ознака – мікросклероції на плямах



а



б

Рисунок 11.5. Некротичні плями антракнозу (а) та подальший розвиток сухої антракнозної гнилі (б): щільна крихка тканина з чорними мікросклероціями

Пітіумна гниль, або водяниста ранова гниль (*Pythium* spp.) набула значного поширення за останнє десятиріччя. Інфекція знаходиться у ґрунті, симптоми хвороби

на картоплинні відсутні. Асоціюється із сильно зволженими ґрунтами (або брудцями) і спекотною погодою. Інфекція потрапляє в бульби через ранки, які утворюються під час збирання. Відразу після збирання хвороба проявляється як водяниста ранова гниль (рис. 11.6, а), а згодом всихає (рис. 11.6, б).



а



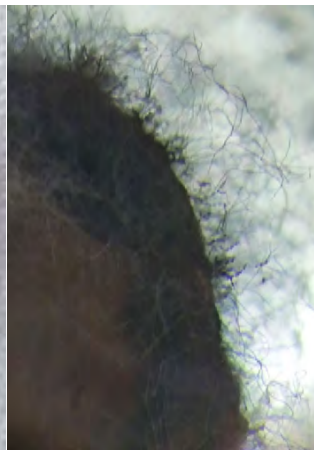
б

Рисунок 11.6. Мокра ранова гниль перед початком зберігання (а) та уражені пітійною гниллю бульби, що висушили у сховищі

Альтернаріоз (*Alternaria* spp.) на бульбах проявляється вдавленими зневодненими поверхневими плямами, на яких у вологих умовах виростає чорний пухнастий міцелій з численними спорами (рис.11.7). Спори попадають на бульби з ґрунтом під час збирання, а на ґрунт – з ураженого картоплиння.



а



б

Рисунок 11.7. Бульба, уражена альтернаріозом разом із вторинним фузаріозом (білий міцелій) – а; міцелій і спороношення *A.alternata* – б

Види парші на бульбах картоплі

Терміном «парша» фітопатологи об'єднують поверхневі ураження бульби інфекційного походження. На бульбах картоплі в Україні широко розповсюджена парша звичайна, збудниками якої є бактерії (*Streptomyces* spp), а також парша чорна (ризоктоніоз) та парша срібляста (гельмінтоспоріоз), збудниками яких є гриби. Парша порошиста, збудник якої *Spongospora subterranea* є також переносником вірусу картоплі моп-топ (РМРV) та парша горбкувата (ооспороз) поширені в країнах північної Європи, але можуть бути завезені з насіннєвим матеріалом.

Ризоктоніоз, або **чорна парша** (*Rhizoctonia solani*) в холодну затяжну весну призводить до зрідження сходів (рис.11.8, а), за умов вологого літа до «білої ніжки» (рис.11.8, б), а спекотливої погоди – до прив'ядання кущів (рис.11.8, в). Гриб зберігає себе у склероціях на бульбах (рис.11.9).



Рисунок 11.8. Симптоми ураження картоплі грибом *Rhizoctonia solani*: зрідження сходів унаслідок ураження ризоктоніозом (а); вихід міцелію на надземну частину стебла у вологу погоду, симптом «біла ніжка» (б); в'ядання куща у спекотну погоду через виразки на підземній частині стебла (в)

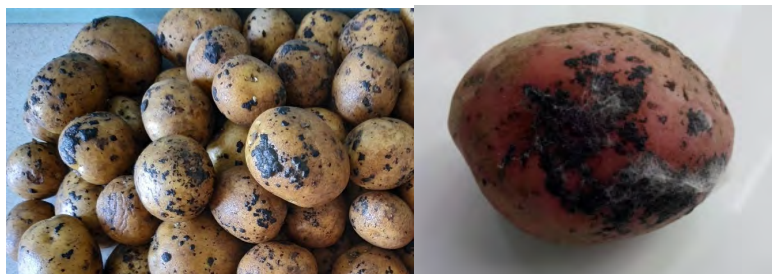


Рисунок 11.9. Склеротії ризоктонії на бульбах швидко проростають білим міцелієм (фото праворуч) за вологих умов або в ґрунті

Гельмінтоспоріоз або **срібляста парша** (*Helminthosporium solani*) може призводити до катастрофічного зрідження сходів та невирівняності рослин в насадженні. Інфекція потрапляє в ґрунт з бульб (рис.11.10).



Рисунок 11.10. Бульби, уражені гельмінтоспоріозом

Від поверхневих виразок антракнозу відрізняється плямами правильної круглої форми і відсутністю мікросклероціїв на ураженій поверхні шкірки.

Парша порошиста (*Spongospora subterranea*). Гриб, що уражує кореневу систему картоплі (рис. 11.11, а) і утворює виразки на поверхні бульб (рис.11.11, б), також є природним переносником моп-топ вірусу картоплі. Оптимальними умовами розвитку порошистої парші є холодна і вогка погода, а також важкі ґрунти.

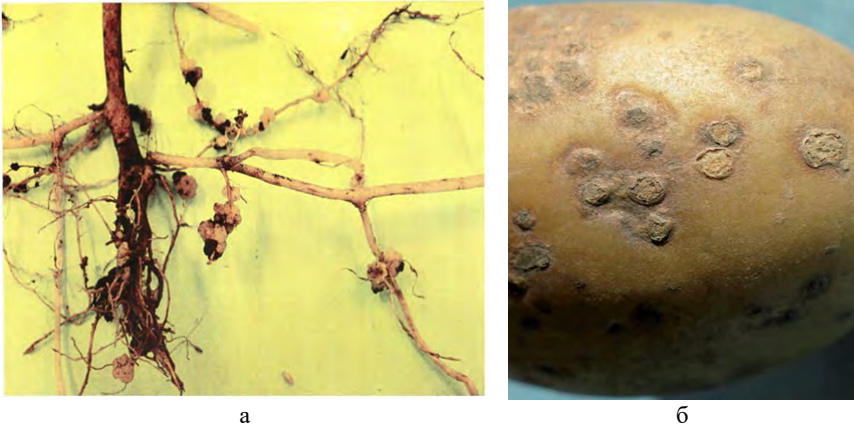


Рисунок 11.11. Ураження збудником порошистої парші коренів (а) та бульб (б) картоплі [7]

Парша горбкувата, або **ооспоз** (*Polyscytalum pustulans*). Симптоми хвороби проявляються на бульбах після 3–4 місяців зберігання за вологих умов (рис.11.12). Інфікування відбувається в ґрунті. Хвороба поширена в країнах північної Європи.



Рисунок 11.12. Ознаки парші горбкуватої на поверхні уражених бульб [7]

Інші поширені грибні хвороби картоплі

Фітофтороз (*Phytophthora infestans*) до цього часу лишається дуже небезпечною хворобою, здатною за лічені дні знищити урожай. Разом з альтернаріозом ця хвороба є головним завданням системи захисту картоплі.



Рисунок 11.13. Прояви ураження фітофторозом на листках та бульбах картоплі [7]

Гумова гниль (*Geotrichum candidum*). Слід звернути увагу на цю нову для України хворобу. Інфекція ґрунтова. Розвитку хвороби сприяє тепла погода. Симптоми на картоплинні схожі на пітійну гниль, але на бульбах відрізняються від неї щільною на розрізі м'якоттю і запахом кислого молока або оцту; шкірка може ослизнюватись і відставати; може розвиватись білий міцелій на поверхні (рис.11.14).



Рисунок 11.14. Бульби, уражені гумовою гниллю

За сприятливих умов хвороба здатна розповсюджуватись у сховищі. Тоді виникає інша форма прояву – ураження паростків, на яких утворюються мокрі коричневі виразки. Схожість знижується до 45%. Виникає додаткове джерело інфекції у насіннєвому матеріалі.

Вертицильозне в'янення (*Verticillium spp.*) також набуває поширення на картопляних полях України (рис.11.15).

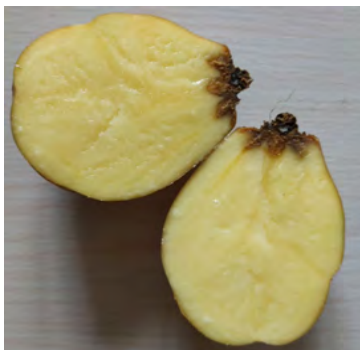


Рисунок 11.15. Ознаки вертицильозного в'янення на картоплі

Збудники хвороби зимують на рослинних рештках як міцелій або склероції. Хвороба проявляється як в'янення, карликовість, передчасне старіння та відмирання. Починається на одному стеблі, яке зупиняється в рості, на листках з'являються хлоротичні плями (звичайно з одного боку), які переходять в некроз та призводять до всихання листків. В спекотну погоду листки всихають раніше, ніж скручуються, і тому рослина виглядає, як ошпарена. Некроз верхівки та повислі сухі листки нагадують ураження некротичним штамом УВК, але без зморшкватості листків. Нижня частина стебла залишається зеленою. При розрізанні хворих стебел можна спостерігати потемніння судин. Коричневе забарвлення судин спостерігається і в столовій частині бульб, а за сильного інфікування некротизуються вічка бульб. Якщо до вертицильозних грибів приєднуються фузаріозні, то хвороба набуває більш тяжкої форми *трахеомікозного в'янення*, що призводить до передчасного відмирання картоплиння і низької якості бульб (рис.11.16).



а



б

Рисунок 11.16. Ураження судин бульб з вертицильозного [7] (а) та трахеомікозного (б) в'янення

Малопоширені грибні хвороби картоплі

Рак картоплі (*Synchytrium endobioticum*). Карантинна хвороба, в насіннєвій картоплі не допускається (рис.11.17). В Україні станом на 10.10.2023 р. запроваджено карантинний режим в 15 районах 5 областей [36].



Рисунок 11.17. Рак картоплі [7]



Біла гниль/біла ніжка стебел (*Sclerotinia sclerotiorum*) може уражувати картоплю на родючих ґрунтах, у насичених овочами сівозмінах, а також після ріпаку (рис.11.18).

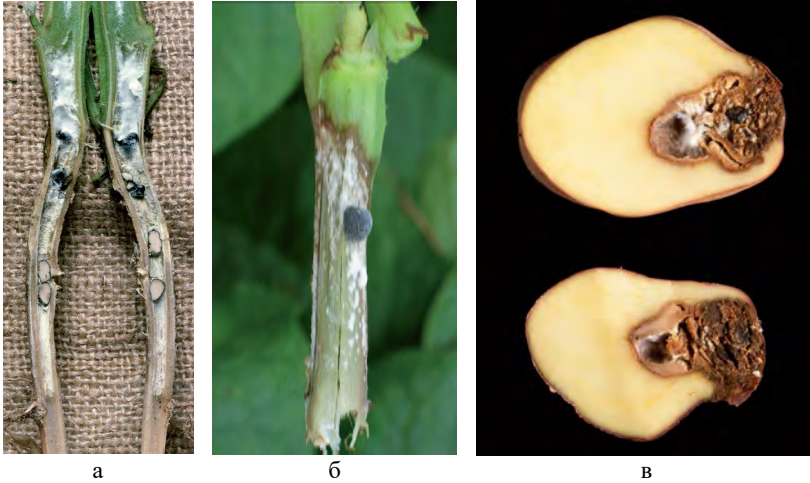


Рисунок 11.18. Ураження картоплі білою гниллю: а – уражене стебло з міцелієм та склероціями, б – склероцій гриба на ураженому стеблі, в – бульба [7]

Рожева гниль (*Phytophthora erythroseptica*) за всіма ознаками і проявами подібна до гумової гнилі, але відрізняється характерним солодким запахом з наступним порожівінням м'якоті розрізаної бульби [7].



Рисунок 11.19. Рожева гниль на бульбах картоплі [7]

11.2. БАКТЕРІАЛЬНІ ХВОРОБИ НА БУЛЬБАХ КАРТОПЛІ

Парша звичайна (*Streptomyces spp.*) найбільш поширена хвороба картоплі. В документах нормується як «парша звичайна» та «парша сітчаста», що обумовлено різними видами збудників, і відмінною симптоматикою на бульбах.

Збудниками парші звичайної, яка характеризується окремими виразками плоскої, опуклої або увігнутої (глибокої) форми (рис.11.20) є бактерії *S. europaeiscabiei* та *S. stelliscabiei*, а парші сітчастої (рис.11.21) – *S. europaeiscabiei* та *S. reticuliscabiei*.

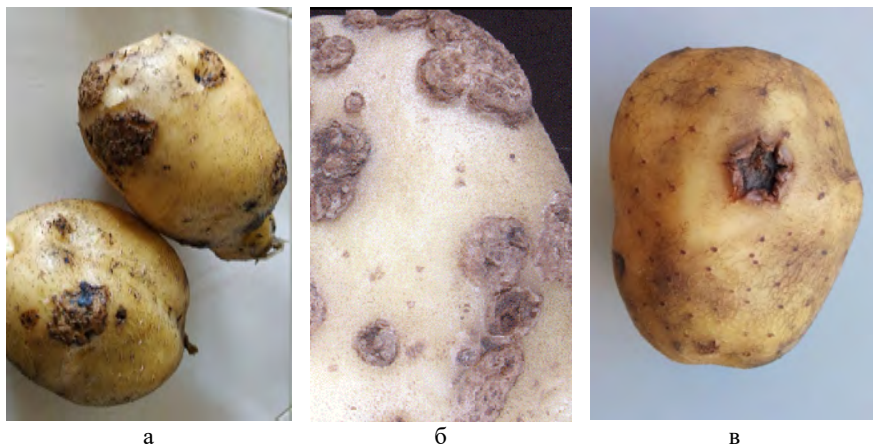


Рисунок 11.20. Форма виразок парші звичайної: а – плоска, б – опукла, або піднята [37], в – увігута, або глибока



Рисунок 11.21. Парша сітчаста

Кільцева гниль та **чорна ніжка картоплі** описані у розділі 7 цієї Методики.

Бура бактеріальна гниль (*Ralstonia solanacearum*) відноситься до хвороб, відсутніх в Україні, хоча у 2019 році запроваджено карантинний режим по бурій гнилі

картоплі у 3 районах 2 областей (Тернопільській та Чернігівській). Тому потрібно знати симптоматику хвороби на рослинах і бульбах, наданої для загального ознайомлення на сайті Європейської та Середземноморської організації з карантину і захисту рослин [38].



Рисунок 11.22. Куш картоплі, уражений *R. solanacearum* [38]



а



б

Рисунок 11.23. Бульби картоплі з симптомами бурої гнилі: а – свіжовикопана, б – після зберігання [38]

11.3. ВІРУСНІ ХВОРОБИ НА БУЛЬБАХ КАРТОПЛІ

Некротична кільцева плямистість бульб (PVY^{NTN}). Кільцевий некроз бульб вперше був зафіксований у 1980 р. в Угорщині, а до кінця XX ст. спостерігався вже на всій території Європи. В Україні (Чернігівщина) ці симптоми вперше виявили у 2009 році.

На уражених бульбах проявляються некротичні дуги і кільця, спочатку опуклі, а згодом спадаючі, з некротизацією вічок (рис.11.24), або круглі некротичні плями (рис.11.25), описані у 80-х роках як хвороба некротичної кільцевої плямистості бульб картоплі (potato tuber necrotic ringspot disease, PTNRD) [39].



Рисунок 11.24. Некротичні дуги і кільця на бульбах, спочатку опуклі, а згодом спадаючі [40]



Рисунок 11.25. Некротичні плями на бульбах [40]

Некроз м'якоті бульб

Дуги і кільця у м'якоті бульб спричиняють моп-топ (PMTV), раттл (TRV) та вірус аukuба-мозаїки картоплі (PAMV) (рис. 11.26, 11.27).

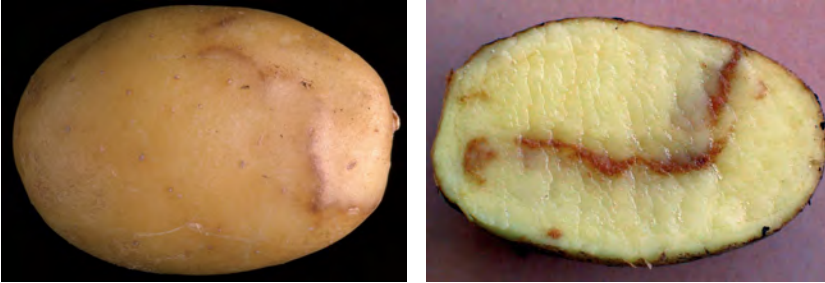


Рисунок 11.26. Бульба, уражена вірусом моп-топ [7]

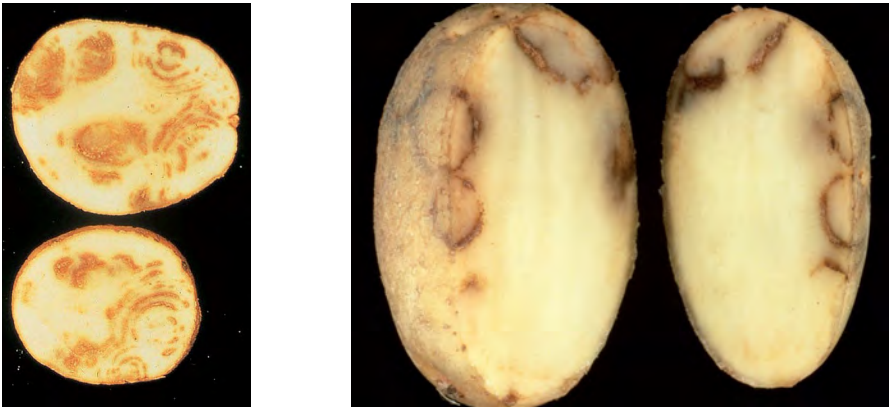


Рисунок 11.27. Бульба, уражена ратгл-вірусом [7]

Сітчастий некроз м'якоті бульб картоплі може бути наслідком ураження бульб вірусом скручування листків картоплі (рис.11.28), а також вірусом мозаїки люцерни (AMV).



а [41]

б [17]

Рисунок 11.28. Сітчастий некроз м'якоті бульб, уражених ВСЛК

Деформація бульб. Внаслідок накопичення великих концентрацій вірусної інфекції форма бульб набуває характерних ознак: подовжується, збільшується кількість вічок, які деформуються, надаючи бульбі горбкуватість, а також відчутно зменшується інтенсивність кольору шкірки (рис.11.29). Наявність віроїдної інфекції також можна спостерігати за зміною форми і розміру бульб (рис. 11.30).



Рисунок 11.29. Зміна форми бульб внаслідок інфікування вірусною інфекцією



а

б [42]

Рисунок 11.30. Зміна форми бульб внаслідок інфікування віроїдом веретеноподібності бульб картоплі

ФІЗІОЛОГІЧНІ ХВОРОБИ БУЛЬБ КАРТОПЛІ

Хімічне ураження бульб – порушення регламенту застосування гербіцидів або десикантів (рис. 12.1).



Рисунок 12.1. Ушкодження бульб внаслідок порушення регламенту застосування десикантів (а) та гербіцидів (б)

Задуха. Основна причина хвороби – гостра нестача повітря у ґрунті або під час зберігання. У бульбах спочатку відбувається анаеробне дихання, потім отруєння клітин від нагромадження спирту і загнивання. У таких бульбах чорніє м'якоть, насамперед серцевина. Бульба загниває.

У польових умовах, звичайно за перезволоження, на бульбах дуже збільшуються сочевички. Вони розростаються зсередини білими ніжними наростами (рис.12.2), які під час підсихання перетворюються в невеликі коричневі плями. Згодом верхній шар бульб пом'якшується і шкірка легко знімається. На розрізі (рис.12.3) гнила тканина – біла або рожева у вигляді пухкої кашоподібної маси із спиртовим запахом.

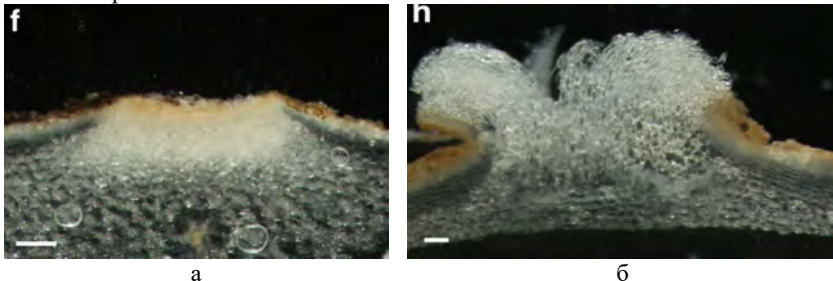


Рисунок 12.2 Мікрофотографії сочевички бульби [43]: а – в оптимальних умовах, б – в умовах перезволоження



Рисунок 12.3. Бульба з розрослими сочевичками і та, яка згнила внаслідок «задухи»

Потемніння м'якоті або плямистий некроз (меланоз). Ураження може виникнути внаслідок різних причин, проте основні з них забої, притиски та інші механічні пошкодження під час збирання врожаю та перевезення. Темні розпливчасті плями можуть утворюватись у різних частинах бульби – серцевині, пуповинній частині, на судинному кільці. За сильного розвитку потемніння охоплює більшу частину м'якоті. Плями зазвичай сірі, проте з часом стають більш чорними. До значного ураження сірою плямистістю призводять несвочасне раннє збирання, недостатня забезпеченість рослин калійними добривами, тривале перебування бульб в сухому перегрітому ґрунті. Тривале (більше 3 міс.) зберігання картоплі за підвищених (10–12 °С) температур, за понижених (близько 0 °С) температур, нестача кисню або надлишок вуглекислого газу у сховищі посилюють прояв хвороби (рис.12.4.).



Рисунок 12.4. Потемніння м'якоті, або плямистий некроз (меланоз)

Теплові ураження бульб. Такі ураження можуть бути спричинені високими температурами в польових умовах жаркого літнього або осіннього дня, коли бульби впродовж декількох годин залишаються на сонці або за сильного самозігрівання картоплі під час транспортування або зберігання, коли бульби нагріваються до +40 °С та вище. Середина бульби зневоднюється, і м'якоть стає темною (у

зв'язку з утворенням меланіну) або на периферії бульби до кільця судинних пучків, або на усій внутрішній частині у вигляді сіруватих або чорних плям (рис.12.5).



Рисунок 12.5. Теплове ураження бульб [17]

Підморожування бульб. Бульби картоплі підмерзають за температури нижче 1°C. При розмерзанні з них легко віджимається водяниста рідина. Шкірка зморщується і легко знімається. Оголена м'якоть під час розрізання під дією повітря швидко стає рожевою, а потім темніє, стає бурюю з чорними розмитими смугами (рис.12.6). Такі бульби у швидко згнивають.



Рисунок 12.6. Підморожені бульби [7]

Переохолодження бульб. Після тривалого (впродовж декількох місяців) впливу понижених температур (близько 0 °C) бульби зовні майже не відрізняються від здорових, проте на розрізі у їх м'якоті виявляють тонкі рисочки, буруваті смужки або плями, які нагадують іржаву плямистість, а іноді тріщини (порожнини). Головний попереджувальний захід – не допускати зниження температури зберігання нижче +2°C.

Залізна плямистість або іржавість бульб. Хвороба виявляється тільки на розрізі. В м'якоті бульб утворюються іржаво-коричневі плями різної величини та форми. Найбільша частина їх розміщується поблизу судинної системи (на периферії серцевини). Основною причиною іржавості бульб є нестача фосфору у ґрунті. Хвороба часто зустрічається на піщаних ґрунтах в роки із сухою та жаркою погодою (рис.12.7).



Рисунок 12.7. Симптоми іржавості бульб

Дуплистість. В середині бульби утворюються порожнини різної величини та конфігурації внаслідок нерівномірного росту. Порожнина дупла вкрита шкіркою кремового або світло-коричневого кольору. Утворенню дупла передують побуріння серцевини м'якоті (рис.12.8).

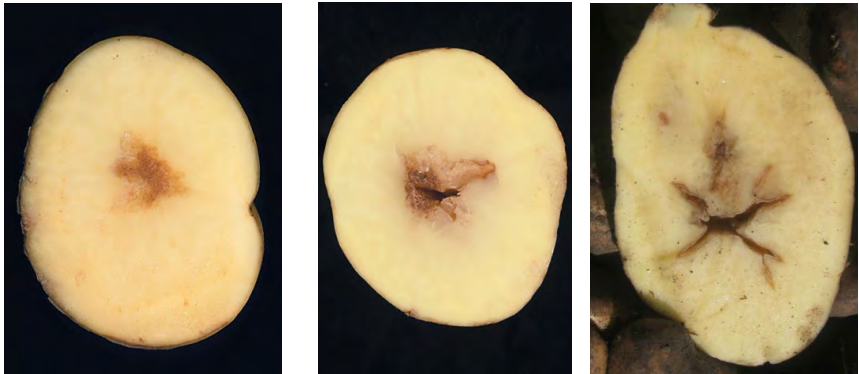


Рисунок 12.8. Побуріння серцевини і подальше утворення дупла [17]

Розтріскування бульб (ростові тріщини). В період вегетації можуть виникати глибокі тріщини через порушення росту бульб внаслідок нерівномірного надходження поживних речовин та від різких коливань вологості ґрунту. Звичайно вони заростають шкіркою.

Розтріскування шкірки бульб (сітчастість). Тріщини шкірки бульб утворюються на окремих сортах. За сітчастого розтріскування на поверхні бульб утворюються маленькі тріщини або сітка із неглибоких тріщин, які розміщуються лише у кірковій зоні шкірки і прилеглих до неї тканинах (рис.12.9). Такі ураження мають прояв на окремих сортах з більш товстою («рассет») шкіркою. Розтріскування бульб головним чином відбувається через ґрунтові і погодні умови: родючий і багатий азотом ґрунт, різка зміна його вологості та інше. Особливої шкоди сітчасте розтріскування бульбам не завдає.



Рисунок 12.9. Розтріскування шкірки [17]

Несправжній рак картоплі. Хвороба пов'язана з різними функціональними розладами. Утворення на бульбах чисельних маленьких бульбочок або наростів нагадують ураження справжнім раком. На відміну від нього поверхня уражених ділянок бульби за несправжнього раку не «бородавчата», а гладка на розрізі, і не відрізняється від здорової тканини як за кольором, так за гістологічним складом (рис.12.10).



Рисунок 12.10. Несправжній рак картоплі (форма діткування)

Вторинний ріст, деформації. Деформованими вважаються бульби, що відрізняються за формою, яка є нормальною для конкретного сорту. До них відносяться бульби пляшкоподібної, гантелеподібної та інших форм, а також бульби з наростами (рис.12.11). Симптоми обумовлені змінами в умовах вирощування, особливо коли за теплим періодом йдуть опади. Зміна умов вирощування призводить до нерівномірної другої фази утворення бульби. Деформації виникають у другій фазі росту.



Рисунок 12.11. Різноманітні деформації бульб внаслідок вторинного росту

Склоподібність бульб (відома також як желеподібна (jelly-like) гниль бульб) обумовлена відсутністю крохмальної зернистості в м'якоті, що призводить до появи прозорої склоподібності (рис.12.12). Склоподібність виникає в бульбах, що сформувалися раніше за інші, коли, після відмирання картоплиння, більш молоді бульби, розташовані уздовж столону, забирають енергію у старих, змушуючи їх споживати свій крохмаль. Або коли внаслідок збігу умов бульба росте верхівкою за рахунок столонного кінця (переганяє крохмаль в цукри, якими наростає верхівкова частина).

Запобігти формуванню вторинних бульб допоможе раннє видалення картоплиння або скорочення часу між видаленням і збиранням, щоб зменшити желеподібну гниль.



Рисунок 12.12. Склоподібність столонного кінця бульб

Позеленіння бульб. Позеленіння бульб відбувається під дією світла в полі, якщо бульби не вкриті ґрунтом, та за тривалого перебування (більше п'яти діб) викопаної картоплі на полі або у відкритих для світла буртах під час тимчасового зберігання. В результаті впливу світла не тільки в шкірці, але і в м'якоті бульб відбувається утворення алкалоїду соланіну (рис.12.13), який є отруйним для людини і тварин. Позеленілі бульби не можна використовувати ні в їжу, ні на корм тваринам (навіть в запареному вигляді). Їх можна використовувати на насінневі цілі.

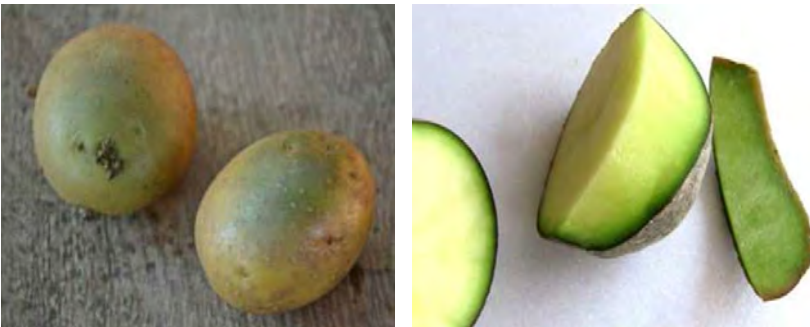


Рисунок 12.13. Бульби, що позеленіли

ПОШКОДЖЕННЯ БУЛЬБ ШКІДНИКАМИ

Стеблова нематода картоплі (картопляний дитиленхоз) – *Ditylenchus destructor*. Стеблова нематода пошкоджує бульбу в основному зі столонного кінця, але можливе проникнення нематод через сочевички, виразки парші, пошкодження дротяником. В місці проникнення нематод спостерігається свинцево-сіра, дещо вдавлена пляма, яка поступово розростається, шкірка темніє, легко відокремлюється від м'якоти і розтріскується (рис. 12.14). В тріщинах помітна світло-коричнева пухка уражена тканина, схожа на фітофтороз. На межі ураженої і здорової тканини спостерігаються численні пухкі плями, в яких концентрується значна кількість нематод. У цих місцях під шкіркою завжди є яйця, різного виду личинки і дорослі особини. Їх можна виявити, якщо помістити тканину на межі з ураженої в воду в чашку Петрі на 10–15 хв. нематоди вийдуть у воду і їх можна розглянути під лупою або бінокулярним мікроскопом за збільшення хб–12.



а



б

Рисунок 12.14. Дителенхоз картоплі: а – уражена бульба, б – нематоди у воді

Дротяники (*Agriotes/Tandonia/Arion* spp.). Відомо більше 30 різновидів дротяників, що завдають шкоди картоплі. Вони включають: *Agriotes* spp.: *A. obscurus*, *A. sputator*, *A. lineatus*/*Tandonia budapestensis* і *Arion hortensis*. Дорослі особини відомі як «жуки-ковалики».

В результаті уражень бульб личинками жуків коваликів на поверхні бульб картоплі добре помітні невеликі отвори або лійкокоподібні вм'ятини (рис. 12.15). У середині м'якоти бульб видно прогризені вузькі наскрізні ходи з обпробкованими стінками, котрі призводять до значного зниження товарної цінності картоплі. Порушення цілості покривів бульби відкриває доступ для проникнення грибних і бактеріальних інфекцій, що призводить до загнивання картоплі в період зберігання. Личинки коваликів жовті або коричневі, циліндричні, з твердим хітиновим

покровом, розміром 15–25 мм (в залежності від виду); голова плеската, личинки мають три пари грудних ніг.



Рисунок 12.15. Личинки коваликів (дротяники) [7]

Хрущі (*Melolontha melolontha* L., *Melolontha hippocastani* F.). Личинки західного і східного травневих хрущів виїдають в бульбах порожнини, які стають місцем проникнення збудників грибних і бактеріальних гнилей. Залишків шкірки бульби (на відміну від пошкоджень совками) на порожнинах не буває. Личинки довжиною 40–45 мм, дугоподібно зігнуті, вкриті рідкими волосками (рис.12.16).



Рисунок 12.16. Личинка хруща та пошкоджена бульба [44]

Озима совка (*Agrotis segetum* Schiff). В бульбах спостерігаються вигризені гусеницями порожнини, з країв яких присутні залишки шкірки (рис.12.17).

Гусениці першого віку світлі, більш пізнього віку – землісто-сірі, матові або глянцеві, довжиною 50–52 мм. На спині та з боків темні вузькі порожнини. Мають вісім пар ніг.



Рисунок 12.14. Пошкодження бульб картоплі гусеницями озимієї совки [44]

Картопляна міль (*Phthorimaea operculella* Zell). Цей шкідник є карантинним шкідливим організмом, який широко розповсюджений в багатьох країнах Європи, Азії, Африки, Північної, Центральної та Південної Америки. В Україні шкідник присутній у 16 районах 6 областей. Картопляна міль особливо сильно пошкоджує бульби картоплі під час зберігання.

Впродовж літа міль розвивається у декількох поколіннях та здатна розмножуватися не тільки в полі, але й у сховищах. Метелики відкладають яйця на листках картоплі (або тютюну, баклажанах, помідорах), на бульбах картоплі біля вічок (якщо вони не вкриті землею), на ґрунт, плоди помідора, мішки у складах. Під час відродження з яєць гусениці спочатку знебарвлені, з світло-коричневою або чорною

голівкою, довжиною 1,2 мм. Дорослі гусениці жовтувато-рожеві або жовтувато-зелені з блідою повздовжньою смугою посередині та чорними грудними ніжками. Довжина гусениці – 10–13 мм, ширина – 1,5 мм.

В бульбах картоплі гусениці вигризають ходи (рис.12.15). Вони починаються від вічок і проходять спочатку в поверхневому шарі м'якоті. Шкірка над ходами підсихає і зморщується. Біля вхідного отвору в бульбах можна помітити скупчення екскрементів, обплутаних павутиною.

Лялькування гусениць всередині бульби не відбувається. Зимують дорослі гусениці або лялечки під рослинними залишками в поверхневому шарі ґрунту, а також у бульбах. Метелики вилітають рано навесні і зустрічаються в природі до кінця жовтня.

В цілях локалізації вогнищ картопляної молі необхідно суворо виконувати карантинні та інші спеціальні заходи. Особливо ретельний огляд необхідний під час закупівлі картоплі й інших пасльонових (томати, баклажани, перець) в інших країнах.



Рисунок 12.15. Картопляна міль та бульба, пошкоджена її гусеницями [7]

Картопляна блішка (*Epitrix spp.*) – карантинний шкідливий організм, занесений до списку А1 Переліку регульованих шкідливих організмів, затвердженого наказом Міністерства аграрної політики України від 29 листопада 2006 року № 716, зареєстрованого в Міністерстві юстиції України 11 грудня 2006 року за № 1300/13174 (зі змінами).

Чотири види *Epitrix*: *E. tuberis*, *E. cucumeris*, *E. similis* і *E. subcrinata* пошкоджують картоплю (рис. 12.16). Дорослі особини харчуються листками, залишаючи в ньому характерні простири. Личинки живляться корінням і бульбами. Завдана бульбам шкода може погіршити якість зібраного врожаю. Личинки здатні залишати на поверхні бульб непривабливі борозни, які неважко зчистити разом зі шкіркою.

Джерело поширення: залежно від регіону, картопляна блішка може бути широко або локально поширена, а в деяких відсутня повністю. Дорослі жуки дуже мобільні і можуть харчуватися різними рослинами, включаючи кілька видів бур'янів. Дорослі особини становлять найбільший ризик, у зібраних бульбах

личинок поки виявлено не було. На очищених після збирання бульбах яйця і личинки не можуть вижити.



Рисунок 12.16. Картопляна блішка та пошкодження на картоплі

ЛІТЕРАТУРА

1. Про затвердження Методичних вимог у сфері насінництва щодо збереження сортових та посівних якостей насінневої картоплі: наказ Міністерства аграрної політики та продовольства України від 12.07.2019 р. № 384, зареєстровано в Міністерстві юстиції України 29 липня 2019 р. за № 829/33800 <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0829-19#Text>.
2. Про затвердження Методики визначення сортових та посівних якостей насінневої картоплі: наказ Міністерства розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України від 19.01.2021 р. № 91, зареєстровано в Міністерстві юстиції України 09 березня 2021 р. за № 300/35922 <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0300-21#Text>.
3. Про затвердження Порядків проведення сертифікації, видачі та скасування сертифікатів на насіння та/або садивний матеріал та форм сертифікатів на насіння та/або садивний матеріал: постанова Кабінету Міністрів України від 17 листопада 2023 р. N 1210 <https://www.kmu.gov.ua/npas/pro-zatverdzhennia-poriadkiv-provedennia-sertyfikatsii-vydachi-ta-skasuvannia-sertyfikatuv-na-s1210-171123>
4. Про затвердження Порядку маркування та пакування партій насіння і форми етикетки: наказ Міністерства аграрної політики та продовольства України від 10.07.17 р. № 348, зареєстровано в Міністерстві юстиції України 18 вересня 2017 р. за № 1142/31010 <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1142-17#Text>.
5. Про затвердження Переліку регульованих шкідливих організмів: наказ Міністерства аграрної політики та продовольства України 09.11.2006 № 716, зареєстровано в Міністерстві юстиції України 11 грудня 2006 р. за № 1300/13174 <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z1300-06#Text>.
6. Про затвердження Інструкцій з виявлення, локалізацію та ліквідацію деяких регульованих шкідливих організмів картоплі: наказ Міністерства розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України від 13.04.2021 № 750, зареєстровано в Міністерстві юстиції України 22 квітня 2021 р. за № 545/36167 <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0545-21#Text>.
7. Посібник ЄЕК ООН щодо хвороб, шкідників та дефектів насінневої картоплі, Нью-Йорк–Женева, 2014. 108 с. www.unece.org/trade/agr/standard/potatoes/pote.html.
8. Стандарт ЄЕК ООН S-1, який стосується збуту насінневої картоплі. Організація об'єднаних націй, Нью-Йорк-Женева, 2018. 44 с. www.unece.org/trade/agr/standard/potatoes/pote.html.
9. Методика проведення експертизи сортів рослин групи овочевих, картоплі та грибів на відмінність, однорідність та стабільність. Видання друге, виправл. і допов. Український інститут експертизи сортів. 2016: затв. наказом Мінагрополітики від 16.12.2016. наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України від 16 грудня 2016 року № 547 (зі змінами та доповненнями внесеними наказами: Мінагрополітики від 22 листопада 2018 року № 571, Мінекономіки від 27 жовтня 2020 № 2162-20) 1144 с.
10. EPPO (2015) PM 7/125 ELISA tests for viruses. *EPPO Bulletin* 45, 445-449.
11. EPPO (2009) PM7/097(1) Indirect immunofluorescence test for plant pathogenic bacteria. *EPPO Bulletin* 39, 413-416.

12. EPPO (2021) PM 7/129 (2) DNA barcoding as an identification tool for a number of regulated pests. *EPPO Bulletin* 51 (1), 100–143.
13. EPPO (2021) PM 7/138 (1) Pospiviroids (genus Pospiviroid). *EPPO Bulletin* 51, 144–177.
14. Бондарчук А.А., Вишневська О.В., Олійник Т.М. Методи контролю якості та заходи зниження повторного зараження вірусами насіннєвого матеріалу картоплі: [метод. реком] Нац. акад аграр. наук України. Інститут картоплярства. Вінниця: ФОП Корзун Д.Ю., 2015. 47 с.
15. Експрес діагностика фітопатогенних бактерій і фітоплазм в екосистемах. Методичні рекомендації. В.П. Патица, Л.А. Пасічник, Л.М. Буценко, В.Ф. Петриченко та ін. Вінниця: «Віндрук», 2019. 86 с.
16. Stuart Wale, Bud Platt, Nigel D. Cattlin. Diseases, Pests and Disorders of Potatoes. A Colour Handbook. London: Manson Publishing Ltd, 2008. 176 P. 250 Color Illustrations. ISBN 9781840760217
17. PlantwisePlus Knowledge Bank. Potato witches' broom phytoplasma (yellows-type disease). <https://plantwiseplusknowledgebank.org/doi/full/10.1079/pwkb.species.43751>
18. UNECE Guide to Seed Potato Lot Inspection: Recommended practices. New York and Geneva, 2016. 35 p.
https://unece.org/sites/default/files/202205/ECE_TRADE_435_E.pdf
19. Фурдига М.М., Вишневська О.В., Олійник Т.М. та ін.. Методичні рекомендації з польового оцінювання насаджень насіннєвої картоплі. Вінниця : Твори, 2023. 123 с.
20. UNECE Guide to Seed Potato Field Inspection: Recommended Practices. New York and Geneva, 2015. 47 p.
https://unece.org/sites/default/files/202205/ECE_TRADE_421E_PotatosFieldInsp.pdf
21. ДСТУ 4180:2003. Карантин рослин. Методи мікологічної експертизи підкарантинних матеріалів: [Чинний від 2004-07-01]. Київ : Держспоживстандарт України, 2003. 38 с.
22. ДСТУ 4709:2006. Карантин рослин. Методи бактеріологічної експертизи: [Чинний від 2007-10-01]. Київ : Держспоживстандарт України, 2006. 42 с.
23. ДСТУ 7406:2013 Карантин рослин. Методи фітогельмінтологічної експертизи об'єктів регулювання: [Чинний від 2014-07-01]. Київ : Держспоживстандарт України, 2013. 15 с.
24. EPPO Standard (2023) PM 4/28(2) Certification scheme for seed potatoes. *EPPO Bulletin*, 53, 460–475. <https://doi.org/10.1111/epp.12950>
25. Бондарчук А.А., Колтунов В.А., Олійник Т.М. та ін. Картоплярство : Методика дослідної справи / За редакцією А. А. Бондарчука, В.А. Колтунова. Вінниця: ТОВ «ТВОРИ», 2019. 652 с.
26. EPPO (2022) PM 7/153 (1) Mechanical inoculation of test plants. *EPPO Bulletin*. 2022;52:693–703. <https://doi.org/10.1111/epp.12901>
27. IPPC (2015) ISPM 27 DP7 Diagnostic protocols for regulated pests. Potato spindle tuber viroid.
https://www.ippc.int/static/media/files/publications/en/2015/02/18/dp_07_2015_2006-022_draftdp_pstvd_2015-02-06.pdf
28. EPPO (2018) PM 7/133 (1) Generic detection of phytoplasmas. *EPPO Bulletin* 48 (3), 414–424.

29. EPPO (2022) PM 7/59 (2) *Clavibacter sepedonicus*. *EPPO Bulletin*, 52, 262–285. Available from: <https://doi.org/10.1111/epp.12755>
30. EPPO (2022) PM 7/21 (3) *Ralstonia solanacearum*, *R. pseudosolanacearum* and *R. syzygii* (*Ralstonia solanacearum* species complex). *EPPO Bulletin*, 52, 225–261. Available from: <https://doi.org/10.1111/epp.12837>
31. EPPO (2023) PM 7/155 (1) *Pectobacterium* spp. and *Dickeya* spp. *EPPO Bulletin*, 53, 309–353. Available from: <https://doi.org/10.1111/epp.12935>
32. EPPO (2015) PM 7/126 (1) Electron microscopy in diagnosis of plant viruses *EPPO Bulletin* 45 (3), 450–453.
33. Manual for Immunofluorescence (IF) Assay. <https://loewe-info.com/wp-content/uploads/2022/12/IF-general-manual-LOEWE.pdf>
34. Огляд поширення карантинних організмів в Україні. Держпродспоживслужба України. <https://dpss.gov.ua/fitosanitariya-kontrol-u-sferi-nasinnictva-ta-rozsadnictva/fitosanitarnij-kontrol/oglyad-poshirennya-karantinnih-organizmiv-v-ukrayini>
35. Canadian Food Inspection Agency. PI-009: Seed Potato Tuber Inspection. Appendix 5b: Common Scab. <https://inspection.canada.ca/plant-health/potatoes/guidance-documents/pi-009/eng/1383933490053/1383934020925?chap=6>
36. EPPO Global Database. *Ralstonia solanacearum* species complex. <https://gd.eppo.int/taxon/RALSSO/photos>
37. Torrance L. Taliaksky M.E. Potato Virus Y. Emergence and Evolution from the Andes of South America to Become a Major Destructive Pathogen of Potato and Other Solanaceous Crops Worldwide. *Viruses*. 2020. № 12. 1430 p. <https://doi.org/10.3390/v12121430>.
38. Демчук І.В., Волкова І.В., Вишнеvsька О.В., Решотько Л.М. Поширення Увірусу картоплі в агроценозах України. Сільськогосподарська мікробіологія. 2023. Вип. 38. С. 69–78
39. Cornell Vegetables. Resources for commercial growers. Virus and Viroid Diseases of Potato. <https://www.vegetables.cornell.edu/pest-management/disease-factsheets/virus-and-viroid-diseases-of-potato/>
40. EPPO Global Database. Potato spindle tuber viroid. <https://gd.eppo.int/taxon/PSTVD0/photos>
41. Paul Carl Bethke. Potato Tuber Lenticels: A Review of Their Development, Structure, Function, and Disease Susceptibility. *American Journal of Potato Research* (2023) 100:253–264. <https://doi.org/10.1007/s12230-023-09923-5>
42. Canadian Food Inspection Agency. PI-009: Seed Potato Tuber Inspection. Appendix 8: Malformed and Damage. <https://inspection.canada.ca/plant-health/potatoes/guidance-documents/pi-009/eng/1383933490053/1383934020925?chap=9>

Підписано до друку 12.09.2024.
Формат 60x84/16. Папір офсетний. Друк цифровий.
Друк. арк. 7. Умов. друк. арк. 6,51. Обл.-вид. арк. 6,2.
Наклад 110 прим. Зам. № 5721/1.

Віддруковано ФОП Корзун Д.Ю. з оригіналів замовника.
Свідоцтво про державну реєстрацію фізичної особи-підприємця
серія В02 № 818191 від 31.07.2002 р.

Видавець ТОВ «ТВОРИ».
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи
до Державного реєстру видавців, виготовлювачів і розповсюджувачів
видавничої продукції серія ДК № 6188 від 18.05.2018 р.
21034, м. Вінниця, вул. Немирівське шосе, 62а.
Тел.: 0 (800) 33-00-90, (096) 97-30-934, (093) 89-13-852, (098) 46-98-043.
e-mail: info@tvoru.com.ua
<http://www.tvoru.com.ua>