ГОСТ 29267—91

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КАРТОФЕЛЬ СЕМЕННОЙ

ОЗДОРОВЛЕННЫЙ ИСХОДНЫЙ МАТЕРИАЛ

ПРИЕМКА И МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2010

gost.e-ecolog.ru

УДК 635.21:631.531:006.354 Группа С49

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

КАРТОФЕЛЬ СЕМЕННОЙ

Оздоровленный исходный материал

Приемка и методы анализа

ГОСТ 29267—91

Seed potatoes. Normalized initial material. Acceptance rules and methods of analysis

МКС 65.020.20
ОКСТУ 9731

Дата введения 01.01.93

Настоящий стандарт устанавливает правила приемки и методы определения качества оздоровленного исходного материала картофеля.

Требования настоящего стандарта являются обязательными.

1. ПРИЕМКА

1.1. Оздоровленный исходный материал картофеля принимают партиями. Партией считают любое количество оздоровленного исходного материала картофеля одного ботанического сорта, одного метода получения, предъявленное к приемке одновременно и оформленное одним документом о качестве – аттестатом (см. приложения 1—2).

При обнаружении очагов карантинных болезней и вредителей в областях, краях и республиках, не имеющих областного деления, каждую партию сопровождают карантинным сертификатом.

1.2. Для контроля качества оздоровленного исходного материала картофеля отбирают пробы растений, клубней.

1.3. Порядок отбора проб

1.3.1. От исходных растений, полученных в культуре in vitro из микрочеренков, для оценки по внешним признакам и методом иммуноферментного анализа (ИФА) отбирают пробы из разных мест партии методом случайного отбора. Размер пробы должен составлять не менее 1 % растений по счету.

1.3.2. Контроль качества микроклубней методом ИФА проводят в стадии роста растений in vitro. Пробы отбирают по п. 1.3.1.

1.3.3. Пробы в поле, теплице для ИФА отбирают равномерно по диагонали участка:

в теплице – не менее чем от 1 % растений;

в поле (первая полевая репродукция) – не менее чем от 50 растений с гектара.

В питомниках отбора исходных растений отбирают листья с каждого растения, намечаемого к отбору.

1.3.4. От партии клубней, выращенных в поле или теплице, пробы для клубневого и иммуноферментного анализов отбирают по ГОСТ 11856 с учетом следующих дополнений.

При реализации клубней по счету количество точечных проб отбирают в соответствии с требованиями табл. 1.

Издание официальное Перепечатка воспрещена

© Издательство стандартов, 1992
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2010

Таблица 1

Количество клубней в партии, тыс. шт.	Количество точечных проб, шт.
До 20	10
Св. 20 до 40	15
» 40	15 и дополнительно по 2 точечные пробы от каждых последующих 20 тыс. клубней

Размер точечной пробы для ИФА — не менее 20 клубней, объединенной пробы – не менее 200 клубней.

1.4. Клубни, отобранные для проведения иммуноферментного и клубневого анализов (за исключением больных и поврежденных), после проведения анализов присоединяют к исследуемой партии.

1.5. При разногласиях по результатам анализов проводят повторный контроль на вновь отобранной по п. 1.3.3 или 1.3.4 удвоенной пробе.

1.6. Результаты повторного контроля являются окончательными.

1.7. Результаты проверки распространяют на всю партию.

2. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАЧЕСТВА

2.1. Качество оздоровленного исходного материала определяют методами: визуальной оценки растений, клубневого анализа и иммуноферментного анализа показателей скрытой зараженности вирусной и бактериальной инфекциями. Наличие бактериальной инфекции определяют только в сомнительных случаях (при нечетких внешних симптомах и при повышенной чувствительности сорта к бактериозам).

При завозе картофеля из хозяйств, где встречается стеблевая нематода, после проведения клубневого анализа при неясном ее определении проводят дополнительную диагностику тепличного и полевого материалов на наличие стеблевой нематоды вороночным методом.

2.2. Аппаратура

2.2.1. Инструменты и материалы для проведения клубневого анализа — по ГОСТ 11856.

2.2.2. При проведении ИФА используют:

полистирольные 96-луночные микроплаты;

пипетки-дозаторы отечественного или зарубежного производства объемом 0,002—0,02 $см^3$, 0,02—0,2 $см^3$, 0,2—1,0 $см^3$ по ГОСТ 1770, ГОСТ 6859;

пипетки стеклянные вместимостью 1 — 10 $см^3$ по ГОСТ 29227;

ступку фарфоровую диаметром 5 см по ГОСТ 9147;

фотометры АИФ-Ц-01С, АКИ-С-01;

набор реактивов для ИФА;

приспособление для отжатия соков — пресс электрический, ножной или ручной по ГОСТ 7236*;

приемники для листьев (пластмассовые патроны, трубчатые контейнеры, ячеистые ящики, планшеты из пленки или ткани с кармашками);

посуду мерную вместимостью 1; 0,5; 0,2; 0,1; 0,05; 0,01 $дм^3$ по ГОСТ 1770;

весы аналитические или торсионные по ГОСТ 29329**;

термостат;

холодильник бытовой по ГОСТ 26678;

приемники для выжатого сока (пробирки, пластины с углублениями) по ГОСТ 19908.

2.2.3. При диагностике стеблевой нематоды используют:

микроскоп или бинокуляр по ГОСТ 8074;

скальпель или нож столовый;

воронки диаметром 10—15 см;

пробирки диаметром 1,0—1,2 см, длиной 5—6 см по ГОСТ 19908;

ткань капроновую (размер ячеек 0,5—2,0 мм) по ГОСТ 23114;

марлю по ГОСТ 11109 или молочные (ватные) фильтры;

синьку метиленовую;

стекла предметные по ГОСТ 9284.

---

* На территории Российской Федерации в части разд. 4, 6 действует ГОСТ Р 52786—2007, в части разд. 2, 3, 5, приложений 1, 2 ГОСТ Р 52787—2007.

** На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 53228—2008.

2.3. Метод визуальной оценки

2.3.1. Метод заключается в диагностике зараженности растений и клубней по признакам, видимым невооруженным глазом. При тщательном осмотре выявляют патологические отклонения от нормы по окраске, форме и фактуре листьев, стеблей, общему развитию куста, пробирочного растения, форме и окраске клубней.

2.3.2. Визуальную оценку оздоровленного исходного материала проводят:

непосредственно перед реализацией в соответствии с требованиями п. 1.3.1 — для растений in vitro;

во время приемки в установленном порядке — для посадок в поле;

сплошным осмотром растений — в теплице;

при клубневом анализе — для клубней.

Результаты оценки в поле, теплице оформляют актом приемки исходного оздоровленного материала (см. приложение 3).

2.3.3. Описания основных внешних признаков грибных, бактериальных и функциональных (непаразитарных) болезней клубней картофеля приведены в ГОСТ 11856, вирусных болезней растений и клубней — в приложениях 4, 5.

2.4. Метод клубневого анализа

2.4.1. Клубневой анализ проводят по ГОСТ 11856, определяя показатели качества в соответствии с требованиями ГОСТ 29268*.

2.4.2. Тепличные клубни разрезают только в сомнительных случаях.

2.5. Метод иммуноферментного анализа

2.5.1. Подготовка к анализу

2.5.1.1. Для проведения ИФА отбирают пробы:

на вирусы — листовой материал (проба листьев с верхнего, среднего и нижнего ярусов растений) или ростки клубней длиной 1—2 см;

на бактерии — стебли длиной 5–10 см, срезанные во время уборки на уровне корневой шейки, или кусочки ткани размером 1–2 см, вырезанные в столонной части клубня.

Пробирочные растения диагностируют только на вирусы.

2.5.1.2. Клубни проращивают при температуре 18—20 °С до появления ростка длиной 1–2 см. Если клубни находятся в состоянии глубокого покоя, то его прерывают обработкой в парах риндита (1 $см^3$ на 1 кг клубней) в течение 48 ч при температуре 25 °С в герметической камере или обработкой раствором с ростовыми веществами — (10 г тиомочевины и 5 мг гиббереллина на 1 $дм^3$ воды) в течение 20—30 мин.

2.5.1.3. Отобранные пробы (листья, кусочки стеблей или клубней) измельчают до кашицеобразного состояния в ступке или отжимают сок прессом.

2.5.1.4. Приготовление рабочих растворов из набора реактивов для ИФА

2.5.1.4.1. Приготовление покровного буфера. Содержимое флакона «покровный буфер» растворяют в 100 $см^3$ дистиллированной воды.

2.5.1.4.2. Приготовление антител. 0,1 $см^3$ концентрированного раствора антител разводят в 10 $см^3$ покровного буфера. Для приготовления концентрированного раствора антител сухое содержимое флакона с этикеткой «антитела» растворяют в 1 $см^3$ покровного буфера.

2.5.1.4.3. Приготовление промывочного буфера. Содержимое флакона с этикеткой «промывочный буфер» растворяют в 2 $дм^3$ дистиллированной воды, добавляют 0,5 $см^3$ детергента на 1 $дм^3$ буферного раствора.

2.5.1.4.4. Приготовление буфера для проб и разведения конъюгата. К 250 $см^3$ промывочного буфера добавляют 1,0 г бычьего сывороточного альбумина (содержимое флакона).

2.5.1.4.5. Приготовление конъюгата. 0,02 $см^3$ концентрированного раствора из флакона «конъюгат» смешивают с 10 $см^3$ пробно-конъюгатного буфера.

2.5.1.4.6. Приготовление положительного контроля. Содержимое флакона «положительный контроль» растворяют в 1 $см^3$ пробно-конъюгатного буфера.

2.5.1.4.7. Приготовление субстрата. 1 объем буферного концентрата из флакона «субстратный буфер» разбавляют 4 объемами дистиллированной воды. В 10 $см^3$ буферного раствора растворяют 4 мг содержимого флакона «субстрат».

---

* На территории Российской Федерации рекомендуется использовать ГОСТ Р 53136—2008.

Одну таблетку перекиси водорода растворяют в 20 $см^3$ дистиллированной воды. К 10 $см^3$ раствора добавляют 0,05 $см^3$ раствора перекиси водорода.

2.5.1.5. Сок или измельченную ткань разводят буфером для проб и конъюгата в соотношении 1:10.

2.5.2. Проведение анализа

Наливают по 0,1 $см^3$ рабочего раствора антител в лунки платы, накрывают ее крышкой и инкубируют в течение 15–16 ч при температуре 4 °С или 2 ч при температуре 37 °С в термостате.

Удаляют раствор из платы резким переворачиванием или вытряхиванием.

Трижды промывают лунки промывочным буфером.

Тщательно удаляют раствор из лунок легкими ударами перевернутой платой по листу фильтровальной бумаги.

В лунки платы наносят по 0,1 $см^3$ жидкости: в одну из лунок вносят «отрицательный» контроль, в другую «положительный», в остальные – разведенный буферный экстракт анализируемых проб.

Накрывают плату крышкой и инкубируют 1 ч при 37 °С.

Лунки промывают промывочным буфером трижды.

Наливают 0,1 $см^3$ рабочего раствора конъюгата в лунки платы, накрывают крышкой и инкубируют 1 ч при 37 °С.

Лунки промывают промывочным буфером пять раз.

Наливают по 0,1 $см^3$ субстрата в лунки и инкубируют при комнатной температуре в течение 5–10 мин для развития окраски, после чего реакцию останавливают добавлением в лунки по 0,50 $см^3$ трехмолярного раствора серной кислоты.

Наличие вирусной или бактериальной инфекции определяют по интенсивности окрашивания в лунках плат с помощью фотометра при длине волны 490 нм или визуально.

2.5.3. Обработка результатов

2.5.3.1. При фотометрической оценке получают числовые значения оптической плотности (A_{490}) окрашенного продукта ферментативной реакции в оптических единицах (О.Е). Порог достоверности положительных результатов (P) вычисляют по формуле

$$P = \bar{X} + 3E,$$

где $\bar{X}$ – среднее значение A_{490} отрицательного контроля (здоровый материал);

$3E$ – тройное значение максимального отклонения A_{490} от среднего в отрицательном контроле.

Все значения A_{490} выше значения порога достоверности положительных результатов (P) считают положительными результатами.

2.5.3.2. При визуальной оценке, дающей информацию «да» или «нет», применяют следующую шкалу:

вирус отсутствует — едва заметное окрашивание (как в отрицательном контроле);

материал заражен — слабое, но заметное окрашивание, отличное от отрицательного контроля;

материал сильно заражен – интенсивное окрашивание, как в положительном контроле, или более интенсивное.

2.5.4. Иммуноферментный анализ тепличных и полевых растений картофеля проводят во время бутонизации или в начале цветения, пробирочных — в фазе 4–5 междоузлий, клубней —перед реализацией.

2.6. Вороночный метод

Отобранные клубни тщательно моют в воде.

Анализируемую часть клубня измельчают ножом на мелкие кусочки размером 4—5 мм и кладут на капроновую ткань, марлю (три слоя) или в молочные фильтры.

На конец воронки надевают резиновую трубку, к другому концу которой прикрепляют пробирку и устанавливают в штатив.

Воронку заполняют водой, нагретой до 25—30 °С (не доливая 1 см до края).

В воронку с водой осторожно погружают капроновую сетку с кусочками клубня и оставляют на 4–5 ч.

Отсоединяют пробирку, осторожно выливают воду, а осадок переносят на предметное стекло.

Осадок из пробирки просматривают под бинокуляром или микроскопом.

При возникновении сомнений в отношении диагностики стеблевой нематоды осадок подкрашивают 0,25–1 %-ным раствором метиленовой синьки. В этом растворе все сапробиотические нематоды через 10—15 мин окрашиваются в синий цвет. Фитогельминты, в том числе и стеблевая нематода картофеля, не окрашиваются.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1
Обязательное

АТТЕСТАТ
на оздоровленный исходный семенной материал картофеля культуры in vitro

1. Наименование хозяйства, учреждения, выдавшего аттестат _____

2. Почтовый адрес _____

3. Ботанический сорт _____

4. Вид материала в партии (растения в пробирках, микроклубни) _____

5. Количество материала (шт.) _____

6. Основание к выдаче аттестата:

Иммуноферментный анализ № _____

от «_____» _____ 20 _____ г.

Проверка методом ИФА свидетельствует о полном отсутствии вирусов X, S, M, Y, L, A.

7. Обозначенная партия соответствует предъявляемым ГОСТ _____ требованиям и передана в адрес_____

Поставщик Подпись

«_____» _____ 20 ___ г.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2
Обязательное

АТТЕСТАТ
на оздоровленный исходный клубневый материал картофеля тепличный, полевой

ненужное зачеркнуть

1. Наименование хозяйства, учреждения, выдавшего аттестат_____

2. Почтовый адрес_____

3. Ботанический сорт _____

4. Метод получения исходного материала_____

5. Масса партии (кг, т) или количество (шт.)_____

6. Размер клубней от_____мм до_____мм

7. Сведения о качестве на основании акта приемки исходного оздоровленного материала, акта клубневого анализа картофеля № _____ от _____ 20_____ г. и иммуноферментного анализа клубней № _____ от _____ 20_____ г.;

при визуальной оценке внешне больных растений, % _____

зараженность растений по результатам ИФА, % _____

зараженность клубней по результатам ИФА, % _____

зараженность клубней по результатам клубневого анализа, %_____

8. Обозначенная партия картофеля соответствует ГОСТ _____ и передана в адрес _____

Гарантия

Семенной материал во время уборки, хранения и отгрузки не засорен другими сортами и не смешан с картофелем того же сорта, но другого происхождения

Руководитель учреждения_____ Подпись

Агроном-семеновод_____ Подпись

«_____» _____ 20_____ г.

ПРИЛОЖЕНИЕ 3
Обязательное

АКТ
приемки оздоровленного исходного материала в теплице (поле)

_____
наименование учреждения, организации

Комиссия в составе_____
наименование организаций, должность,

_____
фамилия, инициалы

в присутствии представителя хозяйства_____
ознакомилась с документацией, результатами предварительной оценки растений и осмотрела посадки сорта

_____происхождения_____

_____

с целью определения соответствия их по качеству ГОСТ_____

Результаты оценки:

Всего растений, шт. _____

площадь, га _____

сортовая чистота _____

При визуальной оценке внешне больных растений, %, всего _____

в том числе:

пораженных бактериальными болезнями _____

тяжелыми вирусными _____

вызванными почвенными вирусами _____

вироидными _____

легкими вирусными _____

Скрытая зараженность растений по результатам, ИФА, %,

всего _____

в том числе:

вирусами: X, S, M _____

Y, L, A _____

бактериальной инфекцией _____

Заключение комиссии о соответствии посадок требованиям ГОСТ

_____
соответствует, не соответствует

Члены комиссии _____ Подписи

«_____» _____ 20_____ г.

ПРИЛОЖЕНИЕ 4
Справочное

ВНЕШНИЕ ПРИЗНАКИ ОСНОВНЫХ НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ

Таблица 2

Болезни и их возбудители	Характерные признаки
1. Скручивание листьев (вирус L, potato leaf roll virus)	При первичном заражении — посветление и скручивание верхних листьев; при вторичном заражении — скручивание, жесткость нижних листьев. Листовые доли скручиваются в виде желоба или в трубку, загибаясь краями кверху, становятся жесткими
2. Морщинистая мозаика (вирус Y, часто в сочетании с другими мозаичными вирусами, stiple streak mosaic, potato virus Y)	Торможение роста жилок в длину, вследствие чего сморщивание и бугристость поверхности листа, загибание краев листа вниз. Угнетение роста и развития
3. Полосчатая мозаика (вирус Y в сочетании с другими мозаичными вирусами, stiple streak mosaic, potato virus Y)	Темные некрозы жилок с нижней стороны листа и на стеблях, некротические пятна на листьях. Нижние листья буреют, засыхают и повисают, часто отмирают полностью. Верхушечные листья остаются зелеными. Нередко признаки полосчатой и морщинистой мозаики проявляются в сочетании на одном растении
4. Обыкновенная мозаика или крапчатость (вирус X часто в сочетании с другими мозаичными вирусами, common mosaic, potato virus X)	Неравномерность окраски листьев в виде более светлых пятен и полос. Иногда светлая окраска может занимать большую часть площади листа. Часто сопровождается деформацией листовой пластинки. Крапчатость (вирусы X, S, M) проявляется в виде более светлых мелких пятнышек на листе. Симптомы в виде расплывчатых светло-зеленых или желтоватых пятен лучше просматриваются при затемнении листа
5. Мозаичное закручивание листьев (вирус M, leaf-rolling, potato virus M)	Края листовых пластинок загнуты вверх или лист сложен вдоль средней жилки. Часто наблюдается искривление и волнистость краев листьев, особенно верхних. Во второй половине вегетации признаки болезней ослабляются или исчезают совсем
6. Пестростебельность картофеля или вирус погремковости табака (вирус раттл, tobacco rattle virus)	Края долей окантованы желтой каймой, мозаичность в виде мраморного рисунка
7. Вирус метельчатости верхушки картофеля (ВМВК) (potato mop-top virus)	Желтая пятнистость, кольцевая розеточность верхушки побегов

ПРИЛОЖЕНИЕ 5
Справочное

ВНЕШНИЕ ПРИЗНАКИ НЕКОТОРЫХ ВИРУСНЫХ И ВИРОИДНЫХ БОЛЕЗНЕЙ КАРТОФЕЛЯ НА КЛУБНЯХ

Таблица 3

Болезни и их возбудители	Характерные признаки
1. Веретеновидность клубней картофеля (готика). Возбудитель — вироид веретеновидности клубней картофеля (ВВКК) (potato spindle tuber viroid)	Клубни удлиненные с перетяжками, грушевидные, уродливые, с увеличенным количеством глазков
2. Пестростебельность картофеля или вирус погремковости табака. Возбудитель — вирус раттл (tobacco rattle virus)	Некрозы клубней ткани в виде пятен, полос или непрерывных дуг на разрезе, выходящих концами на поверхности клубня. Иногда некротические дуги расположены концентрически
3. Вирус метельчатости верхушки картофеля (ВМВК), (potato mop-top virus)	Некрозы на поверхности и внутри клубней, иногда кольца и дуги

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН** Научно-исследовательским институтом картофельного хозяйства (НИИКХ) НПО по картофелеводству

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ** Постановлением Комитета стандартизации и метрологии СССР от 29.12.91 № 2386

3. **ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ**

4. **ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 1770—74	2.2.2
ГОСТ 6859—72	2.2.2
ГОСТ 7236—93	2.2.2
ГОСТ 8074—82	2.2.3
ГОСТ 9147—80	2.2.2
ГОСТ 9284—75	2.2.3
ГОСТ 11109—90	2.2.3
ГОСТ 11856—89	1.3.4; 2.2.1; 2.3.3; 2.4.1
ГОСТ 19908—90	2.2.2; 2.2.3
ГОСТ 23114—78	2.2.3
ГОСТ 26678—85	2.2.2
ГОСТ 29227—91	2.2.2
ГОСТ 29268—91	2.4.1
ГОСТ 29329—92	2.2.2

5. **ПЕРЕИЗДАНИЕ. Июнь 2010 г.**

gost.e-ecolog.ru