МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
28420—
2022**

КАРАНТИН РАСТЕНИЙ

Правила подготовки лабораторных проб при энтомологических исследованиях

Издание официальное

**Москва
Российский институт стандартизации
2022**

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 сентября 2022 г. № 154-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 13 октября 2022 г. № 1129-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 28420—2022 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2023 г.

5 ВЗАМЕН ГОСТ 28420—89

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© Оформление. ФГБУ «РСТ», 2022



В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины, определения и сокращения 1
4 Общие положения 2
5 Общие требования 4
6 Методы выделения вредных организмов из образцов подкарантинной продукции 6
7 Методы выделения вредных организмов из образцов сметок и средств для привлечения и отлова вредных организмов 30
8 Правила отбора вредных организмов 34
9 Правила доращивания вредных организмов 44
10 Методы подготовки вредных организмов к идентификации морфологическим методом 46
11 Правила подготовки вредных организмов к идентификации молекулярно-генетическими методами 56
Приложение А (справочное) Последовательность применения методов выделения вредных организмов из образцов подкарантинной продукции 59
Приложение Б (обязательное) Правила приготовления растворов для выделения, доращивания и подготовки вредных организмов к идентификации морфологическим методом 73

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

КАРАНТИН РАСТЕНИЙ

Правила подготовки лабораторных проб при энтомологических исследованиях

Plant quarantine. Guidelines on sample preparation for entomological diagnostics

Дата введения — 2023—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на насекомых и клещей, образцы подкарантинной продукции в соответствии с 4.1, а также на средства для привлечения и отлова насекомых и клещей и устанавливает правила подготовки лабораторных проб при проведении энтомологических исследований.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 12430 Карантин растений. Методы и нормы отбора образцов подкарантинной продукции при карантинном фитосанитарном досмотре и лабораторных исследованиях

ГОСТ 20562 Карантин растений. Термины и определения

ГОСТ 21507 Защита растений. Термины и определения

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины, определения и сокращения

3.1 В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ 20562 и ГОСТ 21507, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1.1 **энтомологическое исследование** (в области карантина растений): Лабораторное исследование образца подкарантинной продукции на наличие насекомых и клещей, а также насекомых и клещей и средств для привлечения и отлова насекомых и клещей.

3.1.2

лабораторное исследование (в области карантина растений): Исследование образца, отобранного при карантинном фитосанитарном обследовании подкарантинного объекта или досмотре подкарантинной продукции, с целью установления карантинного фитосанитарного состояния.

[ГОСТ 34198—2017, пункт 3.2]

Издание официальное

Примечание — Лабораторные исследования образцов проводят в карантинных фитосанитарных (испытательных) лабораториях.

3.1.3 **лабораторная проба** (в энтомологическом исследовании): Насекомое или клещ, поступившие в испытательную лабораторию для проведения энтомологического исследования, а также насекомые или клещи, выделенные из образца подкарантинной продукции или из средства для привлечения и отлова насекомых и клещей для проведения энтомологического исследования.

3.1.4 **зараженность в явной форме** (в энтомологическом исследовании): Зараженность образца подкарантинной продукции, которая характеризуется наличием живых вредных организмов во всех стадиях жизненного цикла на поверхности единиц подкарантинной продукции и/или в пространстве между ними.

Примечание — При этом вредные организмы могут быть подвижны или прикреплены к поверхности единиц подкарантинной продукции.

3.1.5 **зараженность в скрытой форме** (в энтомологическом исследовании): Зараженность образца подкарантинной продукции, которая характеризуется наличием живых и/или мертвых вредных организмов во всех стадиях жизненного цикла внутри единиц подкарантинной продукции.

3.1.6 **имаго** (в энтомологии): Взрослая (завершающая) стадия жизненного цикла насекомых, клещей и некоторых других членистоногих.

3.1.7 **личинка** (в энтомологии): Преимагинальная стадия жизненного цикла насекомых, клещей и некоторых других членистоногих, следующая за стадией яйца.

3.1.8 **гусеница** (в энтомологии): Личинка насекомых из отряда Lepidoptera (Чешуекрылые).

3.1.9 **нимфа** (в энтомологии): Преимагинальная стадия жизненного цикла насекомых с неполным превращением и клещей, предшествующая стадии имаго.

3.1.10 **куколка** (в энтомологии): Преимагинальная стадия жизненного цикла насекомых с полным превращением, предшествующая стадии имаго.

3.1.11 **преимагинальная стадия** (в энтомологии): Стадия жизненного цикла насекомых и клещей, а также некоторых других членистоногих, предшествующая стадии имаго.

3.1.12 **пупарий** (в энтомологии): Экзувий взрослой личинки насекомых из инфраотряда Muscomorpha (Круглошовные мухи), заключающий в себе куколку.

3.1.13 **псевдопупарий** (в энтомологии): Четвертая стадия жизненного цикла личинки семейства Aleyrodidae (Белокрылки).

3.1.14 **экзувий** (в энтомологии): Оставшаяся после линьки кутикула насекомых, клещей и некоторых других членистоногих.

3.1.15 **доращивание** (в энтомологическом исследовании): Процесс получения стадии жизненного цикла насекомых или других членистоногих, пригодной для идентификации, путем поддержания их жизнеспособности.

3.1.16 **замаривание** (в энтомологическом исследовании): Процесс лишения насекомых или других членистоногих жизнеспособности путем помещения в сосуд с токсичными веществами в жидком или газообразном состоянии.

3.1.17 **фиксация** (в энтомологическом исследовании): Процесс замаривания насекомых или других членистоногих с целью сохранения их морфологических структур в неизменном состоянии.

3.2 В настоящем стандарте применены следующие сокращения:

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота;

ПЦР — полимеразная цепная реакция.

4 Общие положения

4.1 Энтомологическим исследованиям подлежат следующие виды подкарантинной продукции*:

- зерновые, бобовые, технические и масличные культуры, предназначенные для переработки (далее — продукты запаса, зерно), и продукты их переработки;
- плоды, овощи, корнеплоды сушеные;
- орехи, ядра орехов, косточки абрикосов, персиков, слив и их ядра, зерна кофе, какао-бобов;

* Данный перечень подкарантинной продукции, подлежащей энтомологическим исследованиям, не является исчерпывающим.

- семена, плоды и соплодия, предназначенные для посева, овощных, цветочных, зерновых, бобовых, технических, масличных культур; кормовых, газонных и лекарственных трав, деревьев и кустарников (далее — посевной материал, семена);

- живые растения и их части, включая плоды и корнеплоды, срезанные цветы, срезанные ветви хвойных и лиственных культур, рождественские деревья;

- посадочный материал, включая саженцы с открытой и закрытой корневыми системами, бонсаи, горшечные растения, рассаду, черенки;

- почва и грунты, поступающие с саженцами с открытой и закрытой корневыми системами, бонсаи, горшечными растениями, рассадой;

- клубни семенного картофеля, корнеплоды, луковицы, корневища и другие подземные части растений для посадки;

- газоны в рулонах;

- фрукты и овощи (включая зеленные овощи, салаты и листовую капусту и т.п.) свежие или охлажденные;

- клубни продовольственного картофеля, корнеплоды, луковицы и корневища для продовольственных целей, свежие или охлажденные;

- грибы свежие или охлажденные;

- плоды бахчевых и ягодных культур, свежие или охлажденные;

- лесоматериалы (круглая древесина, пиломатериалы, древесные упаковочные и крепежные материалы, продукты переработки древесины);

- сметки с мест производства и/или хранения подкарантинной продукции (далее — сметки).

Примечание — Отбор образцов подкарантинной продукции при карантинном фитосанитарном досмотре проводят в соответствии с ГОСТ 12430 и другими нормативными документами, устанавливающими правила, методы и нормы отбора образцов подкарантинной продукции.

4.2 Энтомологическим исследованиям также подлежат насекомые и клещи, поступившие в испытательную лабораторию для проведения энтомологического исследования, а также средства для привлечения и отлова насекомых и клещей (включая клеевые и световые ловушки, масляные и пищевые приманки и т.п.).

4.3 Энтомологические исследования проводят на наличие насекомых и клещей (далее — вредные организмы), являющихся как карантинными объектами*, так и некарантинными вредными организмами (например, в случае установления карантинного фитосанитарного состояния подкарантинной продукции при экспорте), которые рассматриваются в качестве определяемой характеристики (показателя, параметра) энтомологического исследования (далее — объект исследования).

4.4 Энтомологическое исследование включает следующие основные этапы:

- выделение лабораторной пробы (вредных организмов) из образца подкарантинной продукции (раздел 6), сметок или из средств для привлечения и отлова насекомых и клещей (раздел 7), поступивших в испытательную лабораторию и предназначенных для проведения энтомологического исследования.

Примечание — Данный этап отсутствует, если в испытательную лабораторию поступают вредные организмы в соответствии с 4.2;

- подготовка вредных организмов к идентификации: доращивание (раздел 9), замаривание, приготовление микропрепаратов (раздел 10), выделение ДНК (раздел 11).

Примечание — Данные этапы проводят при необходимости;

- идентификация объекта исследования морфологическим или молекулярно-генетическими методами.

4.5 Схема проведения энтомологического исследования представлена на рисунке 1.

* В соответствии с перечнем карантинных объектов, действующим на территории государства, принявшего стандарт.



[1] Данный этап проводят при необходимости.

Рисунок 1 — Схема проведения энтомологического исследования

4.6 Перед проведением энтомологического исследования проводят проверку соответствия образца подкарантинной продукции, поступившего в испытательную лабораторию и предназначенного для проведения энтомологического исследования (далее — образец), сопроводительным документам.

Примечание — В целях обеспечения объективности и беспристрастности полученных результатов энтомологического исследования, а также исключения возможности подмены образцов и/или искажения записей о них в учетных и других документах, образцы должны быть обезличены, а сведения о них зашифрованы путем присвоения индивидуальных идентификаторов (номера, шифра и т. п.).

4.7 Во избежание контаминации (заражения) одного образца от другого при проведении энтомологического исследования образцы открывают и исследуют по одному.

4.8 При непреднамеренном разделении образца (в случае нарушения целостности его упаковки и/или просыпи образца) при отсутствии риска контаминации (заражения) образца, его части объединяют и проводят энтомологическое исследование.

5 Общие требования

5.1 Требования безопасности

5.1.1 При подготовке лабораторных проб к энтомологическому исследованию необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами и лабораторным оборудованием, а также требования индивидуальной защиты с использованием соответствующих средств индивидуальной защиты органов дыхания (респираторы, маски и пр.).

Подготовку лабораторных проб к энтомологическому исследованию проводят в лабораторных халатах, при необходимости используют одноразовые перчатки.

5.1.2 Обеззараживание использованных оборудования и материалов проводят химическими или физическими методами в соответствии с установленными в испытательной лаборатории требованиями.

Обеззараживание и утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженной подкарантинной продукции проводят химическими или физическими методами в соответствии с установленными в испытательной лаборатории требованиями.

5.2 Требования к персоналу

Персонал, участвующий в энтомологическом исследовании, должен владеть методами подготовки лабораторных проб к энтомологическому исследованию и быть обучен технике обращения с химическими реактивами и лабораторным оборудованием.

5.3 Требования к образцам и их маркировке

5.3.1 Требования к образцам подкарантинной продукции

5.3.1.1 Состояние образцов должно быть пригодно для проведения энтомологического исследования, для этого необходимо соблюдение сроков и условий транспортирования образцов в соответствии с требованиями испытательной лаборатории.

5.3.1.2 После завершения энтомологического исследования образцы, в которых не были обнаружены объекты исследования, помещают в новую или исходную упаковку (например, сейф-пакет) вместе со вскрытой пломбой (при наличии), закрывают или заклеивают разрез с помощью клейкой ленты и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Примечания

1 В случае использования новой упаковки (вследствие значительного повреждения при вскрытии исходной упаковки) на нее должен быть нанесен исходный индивидуальный идентификатор (номер, шифр и т.п.), присвоенный для обезличивания сведений об образце.

2 При лабораторном исследовании образцов, которые после энтомологического исследования направляют на другие виды лабораторных исследований, необходимо соблюдение правил, исключающих контаминацию (заражение) образца.

5.3.2 Требования к состоянию насекомых или клещей для проведения идентификации морфологическим методом

В качестве лабораторной пробы при проведении идентификации морфологическим методом используют:

- живых насекомых [имаго, личинки (гусеницы), псевдопупарии, пупарии или куколки)] или клещей (имаго, личинки, нимфы);
- замороженных насекомых [имаго, личинки (гусеницы)] или клещей (имаго, личинки, нимфы);
- высушенных насекомых (имаго, псевдопупарии);
- насекомых [имаго и личинки (гусеницы)] или клещей (имаго, личинки, нимфы) в растворе для фиксации.

5.3.3 Требования к состоянию насекомых или клещей для проведения идентификации молекулярно-генетическими методами

В качестве лабораторной пробы при проведении идентификации молекулярно-генетическими методами используют живых, замороженных или высушенных насекомых или клещей на всех стадиях жизненного цикла или их фрагменты.

Примечания

1 Допускается только один цикл замораживания—оттаивания насекомых или клещей.

2 Не допускается проводить идентификацию молекулярно-генетическими методами высушенных насекомых или клещей в случае, если на них был обнаружен мицелий и/или споры грибов.

5.3.4 Требования к маркировке вредных организмов

Пробирки (чашки Петри и др.) с отобранными насекомыми или клещами маркируют в соответствии с требованиями испытательной лаборатории, указывая сведения, необходимые для идентификации и отслеживания лабораторной пробы, а также состояние насекомого или клеща — жизнеспособное или нежизнеспособное.

6 Методы выделения вредных организмов из образцов подкарантинной продукции

6.1 Методы выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала

6.1.1 Общие положения

6.1.1.1 К образцам продуктов запаса и посевного материала относятся следующие виды подкарантинной продукции:

- продукты запаса и продукты их переработки (крупа, мука, отруби, жмых, шрот, комбикорм и т. п.);
- фрукты, овощи, грибы сушеные;
- орехи, ядра орехов, косточки абрикосов, персиков, слив и их ядра, зерна кофе, какао-бобы;
- посевной материал.

6.1.1.2 Выделение вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала с признаками зараженности в явной форме проводят визуальным методом (см. 6.1.2) и методом просеивания (см. 6.1.3). При исследовании влажных образцов продуктов запаса, молотой или липкой продукции целесообразно применение метода фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена) (см. 6.1.4).

Выделение вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала с признаками зараженности в скрытой форме проводят методом окрашивания «пробочек» (см. 6.1.5) и микролюминесцентным методом (см. 6.1.6).

Выделение вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала для обнаружения зараженности в скрытой форме проводят флотационным методом (см. 6.1.7), методом рентгенографии (см. 6.1.8) и методом кондиционирования (хранения) (см. 6.1.9).

6.1.1.3 Последовательность применения методов выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала в зависимости от вида подкарантинной продукции приведена в таблице А.1, приложение А.

Примечание — Необходимость применения определенного метода выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала устанавливают в соответствии с требованиями испытательной лаборатории.

6.1.1.4 Вредные организмы, которые могут быть выделены из образцов продуктов запаса и посевного материала в зависимости от их таксономической принадлежности и стадии жизненного цикла, а также вида подкарантинной продукции и метода выделения, приведены в таблице А.2, приложение А.

6.1.2 Визуальный метод

6.1.2.1 Сущность метода

Визуальный метод выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала заключается в просмотре с помощью лупы и стереомикроскопа частей образца на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения явной формы зараженности объектом исследования.

6.1.2.2 Средства измерений, оборудование, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала визуальным методом используют следующие средства измерений, оборудование, посуду и материалы:

- термометр лабораторный ртутный или электронный;
- часы лабораторные;
- камеру холодильную диапазоном температур от 2 °С до 8 °С;
- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- подносы эмалированные или пластиковые;
- бумагу формата А4 или А3, или А2 белого цвета, матовую, плотностью не менее 80 г/м^2;
- доски разборные, с черным и белым стеклом;
- пинцет мягкий с заостренными концами;
- шпатель зерновой металлический или пластиковый.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками не хуже указанных.

6.1.2.3 Подготовка к выделению

Для выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала визуальным методом температура образца продуктов запаса или посевного материала должна быть от 15 °С до 25 °С.

Для установления температуры образца продуктов запаса или посевного материала используют ртутный термометр в течение 5—7 мин или электронный термометр в течение 2—3 мин.

Для подготовки к выделению вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала визуальным методом образец продуктов запаса или посевного материала с температурой ниже 15 °С выдерживают при температуре от 20 °С до 25 °С в течение 10—20 мин с целью активизации вредных организмов.

Для подготовки к выделению вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала визуальным методом образец продуктов запаса или посевного материала с температурой выше 25 °С помещают в холодильную камеру и выдерживают 10—15 мин с целью снижения активности вредных организмов.

6.1.2.4 Проведение выделения

Образцы продуктов запаса и посевного материала, не расфасованные в потребительскую упаковку, размещают на листе бумаги или на разборной доске и разбирают вручную. С помощью шпателя последовательно отделяют и просматривают, используя лупы или стереомикроскоп, небольшие части образца на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие (бороздки, ходы, паутина, кладки яиц, экскременты), затем отодвигая просмотренные части образца в сторону.

Для образцов продуктов запаса и посевного материала, расфасованных в потребительскую упаковку, дополнительно просматривают с помощью лупы упаковку со всех сторон, а также в местах складок и сгибов на наличие вредных организмов.

Образцы продуктов запаса и посевного материала, расфасованные в брикеты, просматривают с помощью лупы со всех сторон, затем брикеты разламывают на части шпателем или пинцетом, просматривают на листе бумаги или на разборной доске и разбирают вручную с помощью шпателя, последовательно просматривают, используя лупы, небольшие части образца на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие (бороздки, ходы, паутина, кладки яиц, экскременты), затем отодвигая просмотренные части образца в сторону.

6.1.2.5 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.1.2.6 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Примечание — При необходимости дополнительного проведения выделения методом кондиционирования (хранения) в соответствии с 6.1.9 части образца продуктов запаса или посевного материала с признаками, указывающими на присутствие вредных организмов (бороздки, ходы, паутина, кладки яиц, экскременты), помещают в чашки Петри. Чашки Петри маркируют в соответствии с 5.3.4.

Образцы продуктов запаса и посевного материала упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных средств измерений, оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов продуктов запаса и посевного материала проводят в соответствии с 5.1.2.

6.1.3 Метод просеивания

6.1.3.1 Сущность метода

Выделение вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом просеивания заключается в механическом разделении частей образца на фракции с помощью лабораторных сит, с последующим просмотром частей образца с помощью лупы и стереомикроскопа на нали-

чие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения явной формы зараженности объектом исследования.

6.1.3.2 Средства измерений, оборудование, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом просеивания используют следующие средства измерений, оборудование, посуду и материалы:

- сита лабораторные диаметром (размером) ячеек 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 мм с поддоном и крышкой;
- термометр лабораторный ртутный или электронный;
- часы лабораторные;
- камеру холодильную диапазоном температур от 2 °С до 8 °С;
- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- рассевы лабораторные типа РЛ;
- лоток лабораторный прямоугольный или кювету лабораторную;
- бумагу формата А4 или А3, или А2 белого цвета, матовую, плотностью не менее 80 г/м^2;
- доски разборные, с черным и белым стеклом;
- стекло 20 × 30 см;
- шпатель зерновой металлический или пластиковый.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками не хуже указанных.

6.1.3.3 Подготовка к выделению

Подготовку к выделению вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом просеивания проводят в соответствии с 6.1.2.3.

6.1.3.4 Проведение выделения

Образцы продуктов запаса или посевного материала просеивают вручную в течение 2 мин путем встряхивания через набор сит, диаметр (размер) ячеек которых визуально меньше размера основных фрагментов образца, или механизированным способом на лабораторном рассеве в соответствии с инструкцией изготовителя, разделяя при этом образец на две части: сход (часть образца с верхнего сита, оставшуюся после просеивания) и проход (часть образца, которая прошла через ячейки сит при просеивании).

Сход размещают на листе бумаги или на белом стекле разборной доски и разбирают вручную. С помощью шпателя последовательно отделяют и просматривают, используя лупы или стереомикроскоп, в соответствии с 6.1.2.4.

Проход размещают на листе бумаги и просматривают под стереомикроскопом.

Для обнаружения живых мелких вредных организмов проход равномерно размещают на листе бумаги и слегка прессуют с помощью другого листа бумаги или стекла для получения гладкой поверхности с толщиной слоя 0,5 см. Затем бумагу или стекло снимают, проход просматривают при ярком освещении. Через 1—5 мин на поверхности прохода появляются дорожки и вздутия — следы передвижения личинок насекомых младших возрастов и клещей. Затем образец продуктов запаса или посевного материала осторожно ссыпают с листа в лоток или кювету. Лист бумаги просматривают под стереомикроскопом с целью обнаружения личинок вредных организмов.

6.1.3.5 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.1.3.6 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы продуктов запаса и посевного материала упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных средств измерений, оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов продуктов запаса и посевного материала проводят в соответствии с 5.1.2.

6.1.4 Метод фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена)

6.1.4.1 Сущность метода

Выделение вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена) заключается в воздействии электрическим светом и теплом на части образца, предварительно просеянные на лабораторных ситах, с их последующим просмотром с помощью лупы и стереомикроскопа на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения явной формы зараженности объектом исследования.

6.1.4.2 Оборудование, реактивы, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена) используют следующие оборудование, реактивы, посуду и материалы:

- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- прибор Берлезе — Тульгрена (фототермоэклектор);
- воду проточную;
- глицерин, ч.;
- раствор ректификованного этилового спирта 70 %-ный;
- средство моющее жидкое;
- чашку Петри или бюкс, или стакан, пластиковые или стеклянные, вместимостью 50 — 100 $см^3$;
- лампу электрическую накаливания мощностью от 25 до 40 Вт.

Допускается применение другой посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству не хуже указанных.

6.1.4.3 Подготовка к выделению

Перед выделением вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена) предварительно проводят выделение вредных организмов методом просеивания в соответствии с 6.1.3, обнаруженные вредные организмы отбирают в соответствии с разделом 8.

Примечание — Для влажных образцов продуктов запаса, молотой или липкой продукции допускается проведение выделения вредных организмов методом фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена) без предварительного просеивания.

Прибор Берлезе — Тульгрена (фототермоэклектор) устанавливают в вертикальном положении, над ним устанавливают электрическую лампу на высоте не более 40 см. Под воронкой размещают сосуд для сбора вредных организмов (чашку Петри, бюкс или стакан), наполовину заполненный 70 %-ным раствором этилового спирта (см. Б.2, приложение Б) с глицерином в соотношении 2:1 или водой с добавлением жидкого моющего средства.

6.1.4.4 Проведение выделения

С целью исключения попадания мелких фрагментов образца продуктов запаса или посевного материала в чашку Петри сход образца размещают ровным слоем толщиной не более 2 см на вкладыше фототермоэклектора из металлической сетки с ячейками не более 1,0 мм, затем сверху насыпают проход объемом не более 50—70 $см^3$. Включают лампу и прогревают образец в течение 2—6 ч до полного высыхания, с учетом вида продукта запаса или посевного материала, а также толщины слоя.

6.1.4.5 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в сосуде для сбора вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в сосуде для сбора вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в сосуде для сбора вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.1.4.6 Упаковка и маркировка

Сосуды для сбора вредных организмов маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы продуктов запаса и посевного материала упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов продуктов запаса и посевного материала проводят в соответствии с 5.1.2.

6.1.5 Метод окрашивания «пробочек»

6.1.5.1 Сущность метода

Выделение вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом окрашивания «пробочек» (закрытые входные отверстия насекомых после откладывания яиц) заключается в окрашивании раствором марганцовокислого калия «пробочек» на зернах (семенах), с их последующим вскрытием скальпелем и просмотром с помощью стереомикроскопа на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения скрытой формы зараженности объектом исследования.

Примечание — Метод окрашивания «пробочек» не применяют для зерен (семян) с темной оболочкой.

6.1.5.2 Средства измерений, оборудование, реактивы, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом окрашивания «пробочек» используют следующие средства измерений, оборудование, реактивы, посуду и материалы:

- весы высокого класса точности с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,01 г;
- сита лабораторные диаметром (размером) ячеек 1 мм с поддоном и крышкой;
- термометр лабораторный для воды ртутный или электронный;
- часы лабораторные;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- раствор марганцовокислого калия 1 %-ный;
- воду проточную;
- кюветы лабораторные;
- скальпель хирургический;
- шпатель зерновой металлический или пластиковый.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству не хуже указанных.

6.1.5.3 Подготовка к выделению

Перед выделением вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом окрашивания «пробочек» предварительно проводят выделение вредных организмов методом просеивания в соответствии с 6.1.3, обнаруженные вредные организмы отбирают в соответствии с разделом 8.

6.1.5.4 Проведение выделения

Из схода образца продуктов запаса или посевного материала отбирают подряд 300 зерен (семян), помещают их на металлическую сетку диаметром (размером) ячеек не более 1 мм и погружают на 1 мин в воду с температурой 30 °С.

Затем сетку с зернами (семенами) переносят в 1 %-ный раствор марганцовокислого калия (см. Б.3, приложение Б) на 60—90 с, промывают в холодной воде в течение 20—30 с и незамедлительно просматривают под стереомикроскопом для обнаружения «пробочек».

Примечания

1 После промывания зерна (семена) вновь приобретают исходный цвет, а «пробочки» на зараженных зернах (семенах) выделяются темным цветом и выпуклостью и становятся хорошо заметными (темные пятна диаметром 1—2 мм).

2 Окрашенные округлые пятна с интенсивно окрашенными краями и светлой серединой появляются на зернах (семенах) при повреждениях имаго семейства Curculionidae (Долгоносики) без откладывания яиц.

Семена с наличием «пробочек» вскрывают скальпелем и просматривают под стереомикроскопом.

6.1.5.5 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов или зерен (семян) с кладками яиц энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, и зерен (семян) с кладками яиц, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, и зерен (семян) с кладками яиц проводят их отбор в соответствии с разделом 8.

6.1.5.6 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы продуктов запаса и посевного материала упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных средств измерений, оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов продуктов запаса и посевного материала проводят в соответствии с 5.1.2.

6.1.6 Микролюминесцентный метод

6.1.6.1 Сущность метода

Микролюминесцентный метод выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала заключается в воздействии люминесцентным светом на зерна (семена) части образца, предварительно просеянного на лабораторных ситах, с их последующим вскрытием скальпелем и просмотром с помощью стереомикроскопа на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения скрытой формы зараженности объектом исследования.

6.1.6.2 Оборудование, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала микролюминесцентным методом используют следующие оборудование, посуду и материалы:

- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- осветитель люминесцентный с набором светофильтров или аналитическая ртутно-кварцевая лампа со светофильтром, пропускающим ультрафиолетовые лучи;
- пробирки пластиковые с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1—2 $см^3$;
- чашки Петри пластиковые или стеклянные;
- бумагу формата А4 или А3, или А2 белого цвета, матовую, плотностью не менее 80 $г/м^2$;
- скальпель хирургический.

Допускается применение другой посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, не хуже указанных.

6.1.6.3 Подготовка к выделению

Перед выделением вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала микролюминесцентным методом предварительно проводят выделение вредных организмов методом просеивания в соответствии с 6.1.3, обнаруженные вредные организмы отбирают в соответствии с разделом 8.

Сход образца продуктов запаса или посевного материала размещают на листе бумаги и отбирают подряд 300 зерен (семян). Отобранные зерна (семена) помещают в чашку Петри в один слой.

6.1.6.4 Проведение выделения

Открытые чашки Петри просматривают в затененном помещении под стереомикроскопом и люминесцентным осветителем или аналитической лампой.

Наличие «пробочек» и яиц вредных организмов устанавливают по их яркому свечению в ультрафиолетовых лучах.

Обнаруженные зараженные зерна (семена) помещают в чашку Петри или пробирки.

Оставшиеся зерна (семена) перемешивают и вновь просматривают для обнаружения «пробочек» или яиц вредных организмов.

Зараженные зерна (семена) с наличием «пробочек» вскрывают скальпелем и просматривают под стереомикроскопом.

6.1.6.5 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов или зерен (семян) с кладками яиц энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, и зерен (семян) с кладками яиц, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, и зерен (семян) с кладками яиц, проводят их отбор в соответствии с разделом 8.

6.1.6.6 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы продуктов запаса и посевного материала упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов продуктов запаса и посевного материала проводят в соответствии с 5.1.2.

6.1.7 Флотационный метод

6.1.7.1 Сущность метода

Флотационный метод выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала заключается во флотации зараженных зерен (семян) на поверхности растворов для флотации вследствие разницы в удельном весе зараженных и незараженных зерен (семян), с их последующим вскрытием скальпелем и просмотром с помощью стереомикроскопа на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения скрытой формы зараженности объектом исследования.

6.1.7.2 Средства измерений, оборудование, реактивы, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала флотационным методом используют следующие средства измерений, оборудование, посуду и материалы:

- термометр лабораторный для воды ртутный или электронный;
- часы лабораторные;
- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- воду дистиллированную или кипяченую;
- раствор хлорида натрия 30 %-ный или раствор нитрата натрия 50 %-ный, или насыщенный раствор нитрата натрия;
- воронку пластиковую;
- лоток лабораторный прямоугольный или кювету лабораторную;
- пробирки пластиковые с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1—2 $см^3$;
- бумагу фильтровальную лабораторную;
- бумагу формата А4 или А3, или А2 белого цвета, матовую, плотностью не менее 80 $г/м^2$;
- скальпель хирургический;
- пинцет мягкий с заостренными концами;
- шпатель зерновой металлический или пластиковый.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству не хуже указанных.

6.1.7.3 Подготовка к выделению

Перед выделением вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала флотационным методом предварительно проводят выделение вредных организмов методом просеивания в соответствии с 6.1.3, обнаруженные вредные организмы отбирают в соответствии с разделом 8.

Сход образца продуктов запаса или посевного материала размещают на листе бумаги и просматривают под лупой. Зерна (семена), отличающиеся по цвету, с беловатыми крупинками, более тусклые или с пятнами, разрезают скальпелем вдоль бороздки и просматривают под стереомикроскопом. Затем выделенные зерна или семена размещают на листе бумаги и отбирают подряд 300 зерен (семян).

6.1.7.4 Проведение выделения

Отобранные зерна (семена) помещают в раствор хлорида натрия или нитрата натрия (см. Б.4—Б.6, приложение Б).

Рекомендуемые виды и концентрации растворов для флотации зерен (семян) в зависимости от их размера, приведены в таблице 1.

Таблица 1

Вид и концентрация раствора	Размер зерен (семян)
30 %-ный раствор хлорида натрия	Мелкосемянные (менее 2 мм)
50 %-ный раствор нитрата натрия	Среднесемянные (от 2 до 4 мм включ.)
Насыщенный раствор нитрата натрия	Крупносемянные (более 4 мм)

Соотношение объемов образца зерен (семян) и раствора составляет 1:20 при температуре раствора от 15 °С до 20 °С. Зерна (семена) энергично перемешивают в растворе и оставляют на 10—15 мин. Зерна (семена), в которых находятся имаго, куколки и крупные личинки вредных организмов, всплывают на поверхность. Зерна (семена) с кладками яиц или зерна (семена), содержащие мелких личинок младших возрастов, остаются на дне с неповрежденными зернами (семенами).

Всплывшие на поверхность раствора зерна (семена) отбирают с помощью пинцета или шпателя, промывают дистиллированной или кипяченой водой и помещают для просушивания на фильтровальную бумагу.

Примечание — В случае, если флотации подвергают особо ценные семена, то невсплывшие семена промывают, просушивают на фильтровальной бумаге в течение 1 сут и возвращают в образец посевного материала.

После удаления избыточной влажности всплывшие зерна (семена) вскрывают скальпелем и просматривают под стереомикроскопом.

6.1.7.5 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов или зерен (семян) с кладками яиц энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, и зерен (семян) с кладками яиц энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, и зерен (семян) с кладками яиц проводят их отбор в соответствии с разделом 8.

6.1.7.6 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы продуктов запаса и посевного материала упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных средств измерений, оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов продуктов запаса и посевного материала проводят в соответствии с 5.1.2.

6.1.8 Метод рентгенографии

6.1.8.1 Сущность метода

Выделение вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом рентгенографии заключается в воздействии рентгеновским излучением на зерна (семена) части образца, предварительно просеянного на лабораторных ситах, с их последующим вскрытием скальпелем и просмотром с помощью стереомикроскопа на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения скрытой формы зараженности объектом исследования.

Примечание — Воздействие на зерна (семена) рентгеновским излучением с помощью микрофокусных источников позволяет получить рентгеновские изображения (рентгенограммы) скрытой зараженности вредными организмами.

6.1.8.2 Оборудование, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом рентгенографии используют следующие оборудование, посуду и материалы:

- детектор плоскопанельный с рентгеновским излучением;
- компьютер в комплекте с монитором и программным обеспечением;

- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- пробирки пластиковые с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1—2 $см^3$;
- бумагу формата А4 или А3, или А2 белого цвета, матовую, плотностью не менее 80 $г/м^2$;
- пинцет мягкий с заостренными концами;
- поднос пластиковый;
- скальпель хирургический;
- шпатель зерновой металлический или пластиковый.

Допускается применение другой посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, не хуже указанных.

6.1.8.3 Подготовка к выделению

Перед выделением вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом рентгенографии предварительно проводят выделение вредных организмов методом просеивания в соответствии с 6.1.3, обнаруженные вредные организмы отбирают в соответствии с разделом 8.

Сход образца продуктов запаса или посевного материала размещают на листе бумаги и отбирают подряд 300 зерен (семян). Отобранные зерна (семена) размещают на подносе в один слой.

6.1.8.4 Проведение выделения

Поднос с зернами (семенами) помещают на плоскопанельный детектор и устанавливают необходимый режим.

Примечание — Режимы устанавливают в зависимости от типа применяемого оборудования и размера зерен (семян).

После окончания работы поднос аккуратно, чтобы не сместились зерна (семена), переносят на стол.

Полученные рентгенограммы исследуют на мониторе компьютера и отмечают изображения зараженных зерен (семян). Зараженные зерна (семена) отбирают из подноса с помощью пинцета и вскрывают под стереомикроскопом с помощью скальпеля.

6.1.8.5 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов или зерен (семян) с кладками яиц энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, и зерен (семян) с кладками яиц энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, и зерен (семян) с кладками яиц проводят их отбор в соответствии с разделом 8.

6.1.8.6 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы продуктов запаса и посевного материала упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов продуктов запаса и посевного материала проводят в соответствии с 5.1.2.

6.1.9 Метод кондиционирования (хранения)

6.1.9.1 Сущность метода

Выделение вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом кондиционирования (хранения) заключается в выдерживании частей образца в лабораторных условиях, предварительно просеянных на лабораторных ситах, с их последующим просмотром с помощью стереомикроскопа на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения скрытой формы зараженности объектом исследования.

6.1.9.2 Оборудование, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом кондиционирования (хранения) используют следующие оборудование, посуду и материалы:

- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- термостат суховоздушный (инкубатор), способный поддерживать температуру от 25 °С до 30 °С;

- стаканы химические пластиковые или стеклянные вместимостью 500 $см^3$;
- крышки полиэтиленовые с отверстиями;
- ткань мелкоячеистую типа мельничный газ или нейлон.

Допускается применение другой посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, не хуже указанных.

6.1.9.3 Подготовка к выделению

Перед выделением вредных организмов из образцов продуктов запаса и посевного материала методом кондиционирования (хранения) предварительно проводят выделение вредных организмов методом просеивания в соответствии с 6.1.3, обнаруженные вредные организмы отбирают в соответствии с разделом 8.

6.1.9.4 Проведение выделения

Сход и проход помещают в стакан, закрывают тканью, фиксируя ее крышкой с отверстием, маркируют в соответствии с 5.3.4 и хранят в термостате при температуре от 25 °С до 30 °С в течение 20 сут. При этом образец просматривают под стереомикроскопом через 10 сут и по истечении 20 сут.

6.1.9.5 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце продуктов запаса или посевного материала вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят их отбор в соответствии с разделом 8.

6.1.9.6 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы продуктов запаса и посевного материала упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов продуктов запаса и посевного материала проводят в соответствии с 5.1.2.

6.2 Методы выделения вредных организмов из образцов живых растений

6.2.1 Общие положения

6.2.1.1 К образцам живых растений относятся следующие виды подкарантинной продукции:

- живые растения и их части, срезанные цветы, срезанные ветви хвойных и лиственных культур, рождественские деревья;
- посадочный материал, включая саженцы с открытой и закрытой корневыми системами, бонсаи, горшечные растения, рассаду, черенки.
- почва и грунты, поступающие с саженцами с открытой и закрытой корневыми системами, бонсаи, горшечными растениями, рассадой;
- клубни семенного картофеля, корнеплоды, луковицы, корневища и другие подземные части растений для посадки;
- газоны в рулонах.

6.2.1.2 Выделение вредных организмов из образцов живых растений с признаками зараженности в явной форме проводят методом стряхивания (см. 6.2.2), визуальным методом (см. 6.2.3) и методом фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена) (см. 6.2.4).

Выделение вредных организмов из образцов живых растений для обнаружения зараженности в скрытой форме проводят методом разрезания (см. 6.2.5).

6.2.1.3 Последовательность применения методов выделения вредных организмов из образцов живых растений в зависимости от вида подкарантинной продукции приведена в таблице А.3, приложение А.

Примечание — Необходимость применения определенного метода выделения вредных организмов из образцов живых растений устанавливают в соответствии с требованиями испытательной лаборатории.

6.2.1.4 Вредные организмы, которые могут быть выделены из образцов живых растений в зависимости от их таксономической принадлежности и стадии жизненного цикла, а также вида подкарантинной продукции и метода выделения, приведены в таблице А.4, приложение А.

6.2.2 Метод стряхивания

6.2.2.1 Сущность метода

Выделение вредных организмов из образцов живых растений методом стряхивания заключается в извлечении вредных организмов путем механического сотрясения частей образца живых растений над листом белой бумаги с их последующим просмотром с помощью лупы или стереомикроскопа, в целях обнаружения явной формы зараженности объектом исследования.

6.2.2.2 Средства измерений, оборудование и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов живых растений методом стряхивания используют следующие средства измерений, оборудование и материалы:

- термометр лабораторный ртутный или электронный;
- часы лабораторные;
- камеру холодильную диапазоном температур от 2 °С до 8 °С;
- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- бумагу фильтровальную лабораторную;
- бумагу формата А4 или А3, или А2 белого цвета, матовую, плотностью не менее 80 г/м^2;
- перчатки хлопчатобумажные прорезиненные.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, не хуже указанных.

6.2.2.3 Подготовка к выделению

Для выделения вредных организмов из образцов живых растений методом стряхивания температура образца живых растений должна быть от 15 °С до 25 °С.

Для установления температуры образца живых растений используют ртутный термометр в течение 5—7 мин или электронный термометр в течение 2—3 мин.

Для подготовки к выделению вредных организмов из образцов живых растений методом стряхивания образец живых растений с температурой ниже 15 °С выдерживают при температуре от 20 °С до 25 °С в течение 10—20 мин с целью активизации вредных организмов.

Для подготовки к выделению вредных организмов из образцов живых растений методом стряхивания образец живых растений с температурой выше 25 °С помещают в холодильную камеру и выдерживают 10—15 мин с целью снижения активности вредных организмов.

При избыточном увлажнении образца живых растений необходимо снять упаковку, разместить образец в один слой между двумя листами фильтровальной бумаги и выдержать в течение 10—15 мин.

Примечание — В целях защиты кожи рук необходимо использовать прорезиненные хлопчатобумажные перчатки.

6.2.2.4 Проведение выделения вредных организмов из образцов срезанных цветов, декоративной зелени и вегетативных частей методом стряхивания

Образец букета срезанных цветов или декоративной зелени извлекают из упаковки и осматривают ее внутреннюю поверхность. Затем образец разделяют на отдельные стебли, поштучно или по два-три растения стряхивают над листом бумаги, ударяя по цветам от трех до пяти раз ладонью в течение не менее 10 с. При этом растение должно находиться над листом бумаги на расстоянии 10—20 см от поверхности стола, а удар ладонью должен быть направлен так, чтобы стряхивать вредные организмы в центр листа белой бумаги.

После каждого стряхивания лист бумаги просматривают под лупой или стереомикроскопом.

6.2.2.5 Проведение выделения вредных организмов из образцов саженцев с открытой (хвойных) и закрытой корневыми системами, горшечных растений, рассады и рождественских деревьев методом стряхивания

Лист белой бумаги размещают под образцом саженцев с открытой (хвойных) или закрытой корневой системой или горшечных растений или рассады или рождественских деревьев и стряхивают растения на лист, последовательно ударяя по цветам и ветвям от трех до пяти раз ладонью в течение не менее 10 с, начиная с верхушечной части растения.

При этом растение должно находиться над листом бумаги на расстоянии 10—20 см от поверхности стола, а удар ладонью должен быть направлен так, чтобы стряхивать вредные организмы в центр листа белой бумаги.

После каждого стряхивания лист бумаги просматривают под лупой или стереомикроскопом.

6.2.2.6 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце живых растений вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце живых растений вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце живых растений вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.2.2.7 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы живых растений упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных средств измерений, оборудования и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов живых растений проводят в соответствии с 5.1.2.

6.2.3 Визуальный метод

6.2.3.1 Сущность метода

Визуальный метод выделения вредных организмов из образцов живых растений заключается в просмотре с помощью лупы или стереомикроскопа частей образца на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения явной формы зараженности объектом исследования.

6.2.3.2 Оборудование, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов живых растений визуальным методом используют следующие оборудование, посуду и материалы:

- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз с окулярмикрометром;
- чашки Петри пластиковые или стеклянные или кюветы лабораторные;
- бумагу формата А4 или А3, или А2 белого цвета, матовую, плотностью не менее 80 г/м^2;
- иглы препаровальные прямые или изогнутые;
- ножницы лабораторные или секатор;
- скальпель хирургический.

Допускается применение другой посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, не хуже указанных.

6.2.3.3 Подготовка к выделению

Образцы живых растений, которые были подвергнуты выделению методом стряхивания в соответствии с 6.2.2, не требуют подготовки к выделению визуальным методом.

Образцы живых растений, которые не были подвергнуты выделению методом стряхивания в соответствии с 6.2.2, помещают на стол, вскрывают упаковку и осматривают ее внутреннюю поверхность.

Парафинированные саженцы освобождают от парафина с помощью препаровальной иглы. Для этого аккуратно, не повреждая кору, препаровальной иглой разрезают слой воска на стволе снизу вверх, затем отгибают парафин в стороны и снимают его со стебля. Снятый парафин просматривают с помощью лупы.

6.2.3.4 Проведение выделения вредных организмов из образцов срезанных цветов, декоративной зелени, саженцев с закрытой корневой системой, горшечных растений, рассады и рождественских деревьев визуальным методом

Образец срезанных цветов или декоративной зелени, или саженцев с закрытой корневой системой, или горшечных растений, или рассады, или рождественских деревьев просматривают поштучно с помощью лупы, начиная осмотр с вершины растения. Внимательно осматривают нижние зрелые

листья и зрелые листья нижнего яруса кроны. В зависимости от размера растения, 5—15 срезанных ножницами зрелых листьев или несколько веток с листьями и хвоей просматривают под стереомикроскопом. Стебель (ствол) и ветки просматривают с помощью лупы, отверстия в штамбе и ходы под корой вскрывают с помощью скальпеля.

При необходимости ветви и штамб срезают ножницами, расщепляют скальпелем для обнаружения ходов вредных организмов.

Для исследования корневой системы растение извлекают из горшка и осматривают с помощью лупы наружную поверхность земляного кома, а также внутреннюю поверхность горшка в целях обнаружения вредных организмов. Затем растение возвращают в горшок. Субстрат вокруг штамба и основных корней отодвигают и просматривают корни и прилегающий к ним субстрат.

6.2.3.5 Проведение выделения вредных организмов из образцов саженцев с открытой корневой системой и черенков визуальным методом

Образец саженцев с открытой корневой системой или черенков просматривают поштучно с помощью лупы, начиная осмотр с корневой системы и корневой шейки.

Галлы и наросты, патологические вздутия на корнях срезают ножницами или секатором. Остатки субстрата на корнях счищают скальпелем, помещают в чашку Петри или кювету и просматривают под стереомикроскопом.

Корневую систему увлажняют и помещают в полиэтиленовый пакет. Пакет плотно закрывают, чтобы не допустить пересыхания и гибели саженца.

Затем осматривают ствол и ветки образца. Для этого образец размещают на листе бумаги на столе и, поворачивая вокруг продольной оси, сначала осматривают со всех сторон поверхность коры штамба от корневой шейки до первой нижней ветки, далее ветки и ствол до вершины растения, обращая внимание на дефекты коры, ответвления тонких веток, концы побегов, форму почек и пазухи почек. Деформированные почки разрезают скальпелем и просматривают под стереомикроскопом.

6.2.3.6 Проведение выделения вредных организмов из образцов клубней семенного картофеля и корнеплодов для посадки визуальным методом

Образец клубней семенного картофеля или корнеплодов для посадки осматривают поштучно с помощью лупы, обращая внимание на неправильную форму, глубокие трещины, грубую и пупырчатую кожицу.

Кожицу вокруг глазков клубней картофеля осматривают на наличие ходов вредных организмов, экскрементов, выходных отверстий, личинок вредных организмов.

Ходы вскрывают скальпелем или препаровальной иглой.

6.2.3.7 Проведение выделения вредных организмов из образцов луковиц, корневищ и других подземных частей растений для посадки визуальным методом

Образец луковиц или корневищ или других подземных частей растений для посадки держат в руках и медленно поворачивают, просматривая поштучно с помощью лупы.

У луковиц после завершения осмотра боковой поверхности осматривают донце и шейку. На шейке чешуи отгибают и осматривают поверхность луковицы. Затем с луковицы снимают сухие чешуи и поверхность сочных чешуй и просматривают с помощью лупы.

6.2.3.8 Проведение выделения вредных организмов из образцов газонов в рулонах визуальным методом

Образец газона в рулоне помещают на лист бумаги и просматривают с помощью лупы со стороны дернового покрытия, а затем со стороны подстилающего слоя почвы.

6.2.3.9 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце живых растений вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

Примечание — В случае, если вредные организмы в образце живых растений не обнаружены, разрезанные галлы и наросты присоединяют к остаткам субстрата, помещают в чашки Петри или кюветы, и присоединяют к образцу.

В случае отсутствия обнаружения в образце живых растений вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце живых растений вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.2.3.10 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы живых растений упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов живых растений проводят в соответствии с 5.1.2.

6.2.4 Метод фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена)

6.2.4.1 Сущность метода

Выделение вредных организмов из образцов срезанных цветов, срезанных ветвей, декоративной зелени, вегетативных частей растений и газонов в рулонах методом фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена) заключается в воздействии электрическим светом и теплом на образец, с его последующим просмотром с помощью лупы и стереомикроскопа на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения явной формы зараженности объектом исследования.

6.2.4.2 Оборудование, реактивы, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов срезанных цветов, срезанных ветвей, декоративной зелени, вегетативных частей растений и газонов в рулонах методом фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена) используют следующие оборудование, реактивы, посуду и материалы:

- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- прибор Берлезе — Тульгрена (фототермоэклектор);
- воду проточную;
- глицерин, ч.;
- раствор ректификованного этилового спирта 70 %-ный;
- средство моющее жидкое;
- чашку Петри или бюкс или стакан, пластиковые или стеклянные, вместимостью 50—100 $см^3$;
- лампу электрическую накаливания мощностью от 25 до 40 Вт.

Допускается применение другой посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству не хуже указанных.

6.2.4.3 Подготовка к выделению

Перед выделением вредных организмов из образцов срезанных цветов, срезанных ветвей, декоративной зелени, вегетативных частей растений методом фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена) предварительно проводят выделение вредных организмов методом стряхивания в соответствии с 6.2.2, обнаруженные вредные организмы отбирают в соответствии с разделом 8.

Перед выделением вредных организмов из образцов газонов в рулонах методом фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена) предварительно проводят выделение вредных организмов визуальным методом в соответствии с 6.2.3, обнаруженные вредные организмы отбирают в соответствии с разделом 8.

Прибор Берлезе — Тульгрена (фототермоэклектор) устанавливают в вертикальном положении, над ним устанавливают электрическую лампу на высоте не более 40 см. Под воронкой размещают сосуд для сбора вредных организмов (чашку Петри, бюкс или стакан), наполовину заполненный 70 %-ным раствором этилового спирта с глицерином в соотношении 2:1 или водой с добавлением жидкого моющего средства.

6.2.4.4 Проведение выделения вредных организмов из образцов срезанных цветов, срезанных ветвей, декоративной зелени, вегетативных частей растений и газонов в рулонах методом фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена)

С целью исключения попадания мелких частиц образца срезанных цветов, срезанных ветвей, декоративной зелени, вегетативных частей растений и газонов в рулонах образец размещают ровным слоем толщиной не более 2,5 см на вкладыше фототермоэклектора из металлической сетки с ячейками более 1 мм.· Включают лампу и прогревают образец в течение 8 ч до полного высыхания, с учетом толщины слоя.

6.2.4.5 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в сосуде для сбора вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в сосуде для сбора вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в сосуде для сбора вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.2.4.6 Упаковка и маркировка

Сосуды для сбора вредных организмов маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы срезанных цветов, срезанных ветвей, декоративной зелени, вегетативных частей растений и газонов в рулонах упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов срезанных цветов, срезанных ветвей, декоративной зелени, вегетативных частей растений и газонов в рулонах проводят в соответствии с 5.1.2.

6.2.5 Метод разрезания

6.2.5.1 Сущность метода

Выделение вредных организмов из образцов живых растений методом разрезания заключается в разрезании частей образца с помощью скальпеля с их последующим просмотром с помощью лупы или стереомикроскопа на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения скрытой формы зараженности объектом исследования.

6.2.5.2 Оборудование, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов живых растений методом разрезания используют следующие оборудование, посуду и материалы:

- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз с окуляр-микрометром;
- чашки Петри пластиковые или стеклянные;
- бумагу формата А4 или А3, или А2 белого цвета, матовую, плотностью не менее 80 г/м^2;
- нож с травмобезопасной рукоятью;
- ножницы лабораторные или секатор;
- скальпель хирургический.

Допускается применение другой посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, не хуже указанных.

6.2.5.3 Проведение выделения вредных организмов из образцов срезанных цветов, декоративной зелени, вегетативных частей, саженцев с открытой или закрытой корневой системой, бонсая методом разрезания

Образец срезанных цветов или декоративной зелени или вегетативных частей или саженцев с открытой или закрытой корневой системой или бонсая размещают на листе белой бумаги на столе.

Цветы сложной формы в количестве 10—20 шт. и нераспустившиеся бутоны разрезают скальпелем вдоль и просматривают под стереомикроскопом.

Побеги с признаками внутреннего повреждения (увядание, искривление верхушки, мелкие листья) срезают ножницами или секатором и затем расщепляют скальпелем, в целях обнаружения ходов и личинок вредных организмов.

Ствол с признаками внутреннего повреждения саженцев или бонсая (потеки сока и опилки на стволе) расщепляют в месте повреждения скальпелем, при обнаружении хода ствол срезают секатором и расщепляют скальпелем в целях обнаружения личинок или куколок вредных организмов.

6.2.5.4 Проведение выделения вредных организмов из образцов клубней семенного картофеля и корнеплодов для посадки методом разрезания

Образец клубней семенного картофеля или корнеплодов для посадки осматривают поштучно с помощью лупы. При отсутствии внешних признаков повреждения и/или заселения вредными организмами скальпелем делают неглубокие надрезы клубня (корнеплода), не затрагивая глазки или полностью разрезают клубень (корнеплод), просматривая границу между кожицей и клубнем (корнеплодом) под лупой.

Внешними признаками повреждения и/или заселения вредными организмами являются мелкие темные углубления в кожице — местах проникновения личинок, а также деформация клубня.

В случае обнаружения внешних признаков повреждений и/или заселения вредными организмами клубень (корнеплод) разрезают на части, пока не будет обнаружен вредный организм или система ходов не будет полностью осмотрена (в случае если вредный организм не обнаружен).

6.2.5.5 Проведение выделения вредных организмов из образцов луковиц, корневищ и других подземных частей растений для посадки методом разрезания

Луковицу сжимают пальцами с боков и надавливают на донце, чтобы выявить внутренние повреждения. Поврежденные луковицы разрезают скальпелем вдоль от донца к шейке и извлекают из ходов вредных организмов.

На луковицах со признаками повреждения вредными организмами скальпелем делают неглубокий поверхностный срез, чтобы проследить направление хода вредного организма.

Осмотр корневищ и других подземных частей растений для посадки проводят с помощью лупы, обращая внимание на состояние почек и корней, наличие ходов под кожицей. Осыпавшийся субстрат помещают в чашку Петри, закрывают ее и оставляют в образце.

6.2.5.6 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце живых растений вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце живых растений вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце живых растений вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.2.5.7 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы живых растений упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов живых растений проводят в соответствии с 5.1.2.

6.3 Методы выделения вредных организмов из образцов свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур

6.3.1 Общие положения

6.3.1.1 К образцам свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур относятся следующие виды подкарантинной продукции:

- фрукты и овощи (включая зеленные овощи, салаты и листовую капусту и т. п.) свежие или охлажденные;
- клубни продовольственного картофеля, корнеплоды, луковицы и корневища для продовольственных целей свежие или охлажденные (далее — корнеплоды);
- грибы свежие или охлажденные;
- плоды бахчевых и ягодных культур, свежие или охлажденные.

6.3.1.2 Выделение вредных организмов из образцов свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур с признаками зараженности в явной форме проводят методом стряхивания (см. 6.3.2) и визуальным методом (см. 6.3.3).

Выделение вредных организмов из образцов свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур для обнаружения зараженности в скрытой форме проводят методом разрезания (см. 6.3.4) и флотационным методом (см. 6.3.5).

6.3.1.3 Последовательность применения методов выделения вредных организмов из образцов свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур в зависимости от вида подкарантинной продукции приведена в таблице А.5, приложение А.

Примечание — Необходимость применения определенного метода выделения вредных организмов из образцов свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур устанавливают в соответствии с требованиями испытательной лаборатории.

6.3.1.4 Вредные организмы, которые могут быть выделены из образцов свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур, в зависимости от их таксономической принадлежности и стадии жизненного цикла, а также вида подкарантинной продукции и метода выделения, приведены в таблице А.6, приложение А.

6.3.2 Метод стряхивания

6.3.2.1 Сущность метода

Выделение вредных организмов из образцов свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) и винограда методом стряхивания заключается в извлечении вредных организмов путем механического сотрясения частей образца свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) над листом белой бумаги с их последующим просмотром с помощью лупы или стереомикроскопа, в целях обнаружения явной формы зараженности объектом исследования.

6.3.2.2 Средства измерений, оборудование и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) и винограда методом стряхивания используют следующие средства измерений, оборудование и материалы:

- термометр лабораторный ртутный или электронный;
- часы лабораторные;
- камеру холодильную диапазоном температур от 2 °С до 8 °С;
- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- бумагу фильтровальную лабораторную;
- бумагу формата А4 или А3, или А2 белого цвета, матовую, плотностью не менее 80 г/м^2.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, не хуже указанных.

6.3.2.3 Подготовка к выделению

Для выделения вредных организмов из образцов свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) и винограда методом стряхивания температура образца свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) и винограда должна быть от 15 °С до 25 °С.

Для установления температуры образца свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т. п.) и винограда используют ртутный термометр в течение 5—7 мин или электронный термометр в течение 2—3 мин.

Для подготовки к выделению вредных организмов из образцов свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) и винограда методом стряхивания образец свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) или винограда с температурой ниже 15 °С выдерживают при температуре от 20 °С до 25 °С в течение 10—20 мин с целью активизации вредных организмов.

Для подготовки к выделению вредных организмов из образцов свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) и винограда методом стряхивания образец свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) или винограда с температурой выше 25 °С помещают в холодильную камеру и выдерживают 10—15 мин с целью снижения активности вредных организмов.

При избыточном увлажнении образца свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) или винограда необходимо снять упаковку, разместить образец в один слой между двумя листами фильтровальной бумаги и выдержать в течение 10—15 мин.

6.3.2.4 Проведение выделения вредных организмов из образцов зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) методом стряхивания

Образец зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т. п.) извлекают из упаковки и осматривают ее внутреннюю поверхность.

Пучок зеленных овощей разделяют на две-три части, образцы кочанов листовой капусты или салатов берут поштучно и стряхивают над листом бумаги, ударяя по листьям от трех до пяти раз ладонью в течение не менее 10 с. При этом стебли растения должны располагаться верикально и находиться над листом бумаги на расстоянии 10—20 см от поверхности стола, а удар ладонью должен быть направлен так, чтобы стряхивать вредные организмы в центр листа бумаги.

После каждого стряхивания лист бумаги просматривают под лупой или стереомикроскопом.

6.3.2.5 Проведение выделения вредных организмов из образцов винограда методом стряхивания

Образец винограда извлекают из упаковки и осматривают ее внутреннюю поверхность.

Гроздья винограда берут поштучно, держат за ножку над листом бумаги на расстоянии 10 см от поверхности стола и осторожно постукивают по гроздьям рукой, стряхивая вредные организмы в центр листа бумаги.

Компактную плотную гроздь винограда берут за ножку и вершину и постукивают гроздью по листу бумаги, при этом поворачивая гроздь по продольной оси, чтобы осмотреть всю поверхность.

После каждого стряхивания лист бумаги просматривают под лупой или стереомикроскопом.

6.3.2.6 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т. п.) и винограда вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) и винограда вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т. п.) и винограда вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.3.2.7 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) и винограда упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных средств измерений, оборудования и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов свежих зеленных овощей (салатов, листовой капусты и т.п.) и винограда проводят в соответствии с 5.1.2.

6.3.3 Визуальный метод

6.3.3.1 Сущность метода

Визуальный метод выделения вредных организмов из образцов свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур заключается в просмотре с помощью лупы или стереомикроскопа частей образца на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения явной формы зараженности объектом исследования.

6.3.3.2 Оборудование, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур визуальным методом используют следующие оборудование, посуду и материалы:

- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз с окулярмикрометром;
- лоток лабораторный прямоугольный или кювету лабораторную белого цвета;
- бумагу формата А4 или А3, или А2 белого цвета, матовую, плотностью не менее 80 г/м^2.

Допускается применение другой посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, не хуже указанных.

6.3.3.3 Подготовка к выделению

Подготовку образцов свежих фруктов (за исключением мелких фруктов), овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых культур к выделению визуальным методом проводят в соответствии 6.3.2.3.

6.3.3.4 Проведение выделения вредных организмов из образцов свежих фруктов (за исключением мелких фруктов), овощей, грибов, плодов бахчевых культур визуальным методом

Образец свежих фруктов (за исключением мелких фруктов) или овощей или грибов извлекают из упаковки и осматривают ее внутреннюю поверхность.

Осмотр под лупой начинают с плодоножки и места ее соединения с плодом, затем, поворачивая плод, осматривают его поверхность по спирали, обращая внимание на места возможного укрытия вредных организмов и мины гусениц, таких как чашелистники и впадина под ними. Кроме того, следует внимательно осматривать потенциально опасные участки: трещины, расщепления, ушибы, гнили и другие пятна.

При осмотре стручковых овощей стручки размещают в один слой в лотке. Лоток встряхивают в течение не менее 10 с, после чего стручки убирают и просматривают лоток на наличие вредных организмов.

Бобы размещают в лотке или кювете в один слой и просматривают с помощью лупы в целях обнаружения в минах личинок и пупариев вредных организмов.

Зеленые овощи (салаты, листовую капусту и т. п.) просматривают с помощью лупы или стереомикроскопа в целях обнаружения в минах личинок, пупариев и псевдопупариев вредных организмов.

6.3.3.5 Проведение выделения вредных организмов из образцов свежих корнеплодов визуальным методом

Выделение вредных организмов из образцов свежих корнеплодов (клубней продовольственного картофеля и других корнеплодов) визуальным методом проводят в соответствии с 6.2.3.6, образцов луковиц и корневищ — в соответствии с 6.2.3.7, интерпретацию результатов — в соответствии с 6.2.3.9, упаковку и маркировку — в соответствии с 6.2.3.10.

6.3.3.6 Проведение выделения вредных организмов из образцов свежих плодов ягодных культур и мелких фруктов

Образец свежих плодов ягодных культур или мелких фруктов извлекают из упаковки и осматривают ее внутреннюю поверхность с помощью лупы.

Плоды ягодных культур и мелкие фрукты размещают на листе бумаги и просматривают под лупой.

6.3.3.7 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.3.3.8 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур проводят в соответствии с 5.1.2.

6.3.4 Метод разрезания

6.3.4.1 Сущность метода

Выделение вредных организмов из образцов свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых культур методом разрезания заключается в разрезании частей образца с помощью скальпеля с их последующим просмотром с помощью лупы или стереомикроскопа на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения скрытой формы зараженности объектом исследования.

6.3.4.2 Оборудование и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых культур методом разрезания используют следующие оборудование и материалы:

- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз с окуляр-микрометром;
- иглы препаровальные прямые и/или изогнутые;
- нож с травмобезопасной рукоятью;
- скальпель хирургический.

Допускается применение других оборудования и материалов с техническими характеристиками не хуже указанных.

6.3.4.3 Проведение выделения вредных организмов из образцов свежих фруктов (плодов косточковых и семечковых культур) методом разрезания

Образец свежих фруктов (плодов семечковых культур) надрезают скальпелем на 1/3 диаметра плода, остальную часть разламывают пополам. При этом надрез делают так, чтобы он проходил не через входное или выходное отверстие (в случае их наличия), а на расстоянии от 2 до 5 мм от него, тогда лезвие скальпеля проходит рядом с гусеницей вредного организма и не повреждает ее. На половинках разрезанного плода прогрызенный ход постепенно вскрывают скальпелем или препаровальной иглой, осторожно надрезая мякоть и отламывая ее небольшими частями, пока не обнаруживают гусеницу. Гусеница также может быть обнаружена в семенном гнезде и внутри семени.

Образец свежих фруктов (плодов косточковых культур) с отверстиями вскрывают, осторожно разрезая мякоть скальпелем по всей окружности до косточки, а затем разделяют на половинки, при этом косточка, как правило, остается на одной из половинок. Если на поверхности разреза и вскрытом ходе гусеница не обнаружена, то осмотр продолжают между извилинами на поверхности косточки или внутри оставшейся невскрытой части хода.

6.3.4.4 Проведение выделения вредных организмов из образцов свежих фруктов (плодов цитрусовых культур) методом разрезания

Образец свежих фруктов (плодов цитрусовых культур) надрезают скальпелем в местах затвердевших, потемневших участков кожуры плода (чаще на нижней части), или если они выглядят промасленными и продавливаются при нажатии. Под вскрытой скальпелем кожурой обнаруживают усохшие части мякоти, среди которых могут быть обнаружены личинки вредных организмов.

6.3.4.5 Проведение выделения вредных организмов из образцов свежих овощей, грибов, фруктов (за исключением плодов косточковых, семечковых и цитрусовых), плодов бахчевых культур методом разрезания

Образцы свежих овощей или грибов или фруктов (за исключением плодов косточковых, семечковых и цитрусовых) или плодов бахчевых культур разрезают на небольшие части (длиной 1—2 см) скальпелем или ножом, просматривая ходы личинок под лупой или стереомикроскопом.

Примечание — Белые прозрачные личинки вредных организмов лучше видны на темной поверхности, поэтому выделение методом разрезания предпочтительнее проводить на черном или темном фоне.

6.3.4.6 Проведение выделения вредных организмов из образцов свежих корнеплодов методом разрезания

Выделение вредных организмов из образцов свежих корнеплодов (клубней продовольственного картофеля и других корнеплодов) методом разрезания проводят в соответствии с 6.2.5.4, образцов луковиц и корневищ — в соответствии с 6.2.5.5, интерпретацию результатов — в соответствии с 6.2.5.6, упаковку и маркировку — в соответствии с 6.2.5.6.

6.3.4.7 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых культур вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых культур вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых культур вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.3.4.8 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых культур упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных оборудования и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых культур проводят в соответствии с 5.1.2.

6.3.5 Флотационный метод

6.3.5.1 Сущность метода

Флотационный метод выделения вредных организмов из образцов свежих фруктов (за исключением винограда), грибов и плодов ягодных культур заключается во флотации на поверхности растворов для флотации (или, в зависимости от вида раствора, оседании на дно сосуда) вредных организмов вследствие разницы в плотности вредных организмов и растворов для флотации, в целях обнаружения скрытой формы зараженности объектом исследования.

6.3.5.2 Средства измерений, оборудование, реактивы, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов свежих фруктов (за исключением винограда), грибов и плодов ягодных культур флотационным методом используют следующие средства измерений, оборудование, реактивы, посуду и материалы:

- сита лабораторные;
- часы лабораторные;
- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- плитку электрическую с закрытой спиралью;
- раствор хлорида натрия 30 %-ный;
- воду проточную;
- лоток лабораторный прямоугольный или кювету лабораторную;
- кастрюли металлические или керамические вместимостью 2 $дм^3$;
- пестик или шпатель-ложку металлический;
- стаканы химические или колбы пластиковые или стеклянные вместимостью 3 $дм^3$;
- стаканы химические или колбы пластиковые или стеклянные вместимостью 3 $дм^3$ с черным дном;
- скальпель хирургический.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству не хуже указанных.

6.3.5.3 Проведение выделения вредных организмов из образцов свежих фруктов (за исключением винограда) и грибов методом флотации в воде без нагревания

Образец свежих фруктов (за исключением винограда) или грибов, который покинули крупные личинки вредных организмов, разрезают на части так, чтобы на каждой осталась кожура. Части кладут в лотки или кюветы, на две трети наполненные водой с температурой от 18 °С до 25 °С. Через 1 ч мелкие личинки начинают оседать на дно, выход личинок заканчивается через 5—6 ч.

6.3.5.4 Проведение выделения вредных организмов из образцов свежих плодов ягодных культур методом флотации в кипящей воде

Образец свежих плодов ягодных культур помещают в металлическую или керамическую емкость и заливают водой. Воду нагревают до кипения и после появления пены дополнительно выдерживают не менее 1 мин.

Плоды процеживают через сито и осторожно раздавливают их на сите задней частью ложки или пестиком. Измельченные плоды промывают холодной водой над емкостью с черным дном или поставленную на черном фоне.

После оседания остатков плодов с личинками на дно, большую часть воды осторожно сливают. Осадок промывают, пока вода не станет прозрачной, на черном дне сосуда будут видны личинки белого цвета.

6.3.5.5 Проведение выделения вредных организмов из образцов свежих плодов ягодных культур методом флотации в 30 %-ном растворе хлорида натрия

Образец свежих плодов ягодных культур разделяют на части. Плоды должны закрывать дно кюветы или иного сосуда в один слой. Плоды раздавливают пестиком до однородного состояния. К измельченным плодам добавляют 30 %-ный раствор хлорида натрия, как минимум на 3 см выше слоя плодов. Сосуд с измельченными плодами встряхивают.

Через 10—15 мин пена оседает и личинки всплывают на поверхность. Раствор хлорида натрия повторно не используют.

Примечание — Незрелые плоды ягодных культур или плоды с плотной оболочкой предварительно проваривают для размягчения.

6.3.5.6 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце свежих фруктов (за исключением винограда), грибов и плодов ягодных культур вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце свежих фруктов (за исключением винограда), грибов и плодов ягодных культур вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце свежих фруктов (за исключением винограда), грибов и плодов ягодных культур вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.3.5.7 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы свежих фруктов (за исключением винограда), грибов и плодов ягодных культур упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных средств измерений, оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов свежих фруктов (за исключением винограда), грибов и плодов ягодных культур проводят в соответствии с 5.1.2.

6.4 Методы выделения вредных организмов из образцов лесоматериалов

6.4.1 Общие положения

6.4.1.1 К образцам лесоматериалов относятся следующие виды подкарантинной продукции:

- круглая древесина, пиломатериалы, древесные упаковочные и крепежные материалы;
- продукты переработки древесины (изолированная кора, щепа, опилки, мелкая стружка).

6.4.1.2 Выделение вредных организмов из образцов круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) с признаками зараженности в явной форме проводят визуальным методом (см. 6.4.2).

Выделение вредных организмов из образцов продуктов переработки древесины (опилки, мелкая стружка) для обнаружения зараженности в явной форме проводят методом просеивания (см. 6.4.3).

Выделение вредных организмов из образцов круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных и крепежных материалов для обнаружения зараженности в скрытой форме проводят методом расщепления (см. 6.4.4).

6.4.1.3 Последовательность применения методов выделения вредных организмов из образцов лесоматериалов в зависимости от вида подкарантинной продукции приведена в таблице А.7, приложение А.

Примечание — Необходимость применения определенного метода выделения вредных организмов из образцов лесоматериалов устанавливают в соответствии с требованиями испытательной лаборатории.

6.4.1.4 Вредные организмы, которые могут быть выделены из образцов лесоматериалов в зависимости от их таксономической принадлежности и стадии жизненного цикла, а также вида подкарантинной продукции и метода выделения, приведены в таблице А.8, приложение А.

6.4.2 Визуальный метод

6.4.2.1 Сущность метода

Визуальный метод выделения вредных организмов из образцов круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) заключается в просмотре с помощью лупы или стереомикроскопа частей образца на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения явной формы зараженности объектом исследования.

6.4.2.2 Оборудование и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) визуальным методом используют следующие оборудование и материалы:

- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- бумагу формата А4 или А3, или А2 белого цвета, матовую, плотностью не менее 80 г/м^2.

- нож с травмобезопасной рукоятью или топор;
- стамеску.

Допускается применение других оборудования и материалов с техническими характеристиками не хуже указанных.

6.4.2.3 Подготовка к выделению

Образцы круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) помещают на стол, вскрывают упаковку и осматривают ее внутреннюю поверхность.

6.4.2.4 Проведение выделения вредных организмов из образцов круглой древесины или пиломатериалов с корой визуальным методом

Образец круглой древесины или пиломатериалов с корой помещают на лист бумаги и просматривают поштучно с помощью лупы.

Признаками заселения образца круглой древесины или пиломатериалов с корой вредными организмами являются:

- наличие буровой муки (мелкие опилки, производимые насекомыми, обитающими внутри древесины и проделывающими в ней ходы при помощи своих верхних челюстей);
- D-образные летные отверстия;
- извилистые ходы на внутренней поверхности коры;
- запечатанные опилками куколочные колыбельки;
- специфические выгрызенные площадки на коре.

6.4.2.5 Проведение выделения вредных организмов из образцов круглой древесины или пиломатериалов без коры визуальным методом

Образец круглой древесины или пиломатериалов без коры помещают на лист бумаги и просматривают поштучно с помощью лупы.

Признаками заселения образца круглой древесины или пиломатериалов без коры вредными организмами являются:

- извилистые ходы диаметром не менее 5 мм;
- симптомы поражения деревоокрашивающими грибными возбудителями (синева древесины);
- опилки.

6.4.2.6 Проведение выделения вредных организмов из образцов изолированной коры или щепы визуальным методом

Образец изолированной коры или щепы размером более 2,5 см помещают на лист бумаги, затем постукивают им по столу и просматривают поштучно с помощью лупы или стереомикроскопа в целях обнаружения ходов вредных организмов. При обнаружении ходов их вскрывают с помощью ножа или скальпеля.

6.4.2.7 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.4.2.8 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных оборудования и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) проводят в соответствии с 5.1.2.

6.4.3 Метод просеивания

6.4.3.1 Сущность метода

Выделение вредных организмов из образцов продуктов переработки древесины (опилки, мелкая стружка) методом просеивания заключается в механическом разделении частей образца на фракции с помощью лабораторных сит с их последующим просмотром с помощью лупы и стереомикроскопа на наличие вредных организмов в целях обнаружения явной формы зараженности объектом исследования.

6.4.3.2 Средства измерений, оборудование, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов продуктов переработки древесины (опилки, стружка) методом просеивания используют средства измерений, оборудование, посуду и материалы в соответствии с 6.1.3.2.

6.4.3.3 Подготовка к выделению

Подготовку к выделению вредных организмов из образцов продуктов переработки древесины (опилки, мелкая стружка) методом просеивания проводят в соответствии с 6.1.3.3.

6.4.3.4 Проведение выделения

Выделение вредных организмов из образцов продуктов переработки древесины (опилки, мелкая стружка) методом просеивания проводят в соответствии с 6.1.3.4.

6.4.3.5 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов переработки древесины (опилки, мелкая стружка) вредных организмов, энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце продуктов переработки древесины (опилки, мелкая стружка) вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце продуктов переработки древесины (опилки, мелкая стружка) вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.4.3.6 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы продуктов переработки древесины (опилки, мелкая стружка) упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных средств измерений, оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов продуктов переработки древесины (опилки, мелкая стружка) проводят в соответствии с 5.1.2.

6.4.4 Метод расщепления

6.4.4.1 Сущность метода

Выделение вредных организмов из образцов круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) методом расщепления заключается в разделении частей образца вдоль волокон древесины с помощью ножа, стамески или топора, с их последующим просмотром с помощью лупы или стереомикроскопа на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения скрытой формы зараженности объектом исследования.

6.4.4.2 Оборудование и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) методом расщепления используют следующие оборудование и материалы:

- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- нож с травмобезопасной рукоятью или стамеску, или топор.

6.4.4.3 Проведение выделения

Образец круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) расщепляют с помощью ножа (стамески, топора и т. п.), нажимая на него или постукивая топором, в целях обнаружения ходов и вредных организмов.

6.4.4.4 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

6.4.4.5 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных оборудования и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов круглой древесины, пиломатериалов, древесных упаковочных, крепежных материалов и продуктов переработки древесины (изолированная кора, щепа) проводят в соответствии с 5.1.2.

7 Методы выделения вредных организмов из образцов сметок и средств для привлечения и отлова вредных организмов

7.1 Методы выделения вредных организмов из образцов сметок

7.1.1 Общие положения

7.1.1.1 Сметки включают остатки рассыпанной сухой подкарантинной продукции, экзувии, фрагменты мертвых насекомых, которые вместе с пылью сметают с пола при проведении карантинных фитосанитарных обследований подкарантинных объектов (мест производства, переработки и хранения подкарантинной продукции).

7.1.1.2 Выделение вредных организмов из образцов сметок для обнаружения зараженности в явной форме проводят методом просеивания (см. 7.1.2) и флотационным методом (см. 7.1.3).

Примечание — Необходимость применения определенного метода выделения вредных организмов из образцов сметок устанавливают в соответствии с требованиями испытательной лаборатории.

7.1.2 Метод просеивания

7.1.2.1 Сущность метода

Выделение вредных организмов из образцов сметок методом просеивания заключается в механическом разделении частей образца на фракции с помощью лабораторных сит, с последующим просмотром частей образца с помощью лупы и стереомикроскопа на наличие вредных организмов или признаков, указывающих на их присутствие, в целях обнаружения явной формы зараженности объектом исследования.

7.1.2.2 Средства измерений, оборудование, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов сметок методом просеивания используют средства измерений, оборудование, посуду и материалы в соответствии с 6.1.3.2.

7.1.2.3 Проведение выделения

Выделение вредных организмов из образцов сметок методом просеивания проводят в соответствии с 6.1.3.3 и 6.1.3.4, интерпретацию результатов — в соответствии с 6.1.3.5, упаковку и маркировку — в соответствии с 6.1.3.6.

7.1.3 Флотационный метод

7.1.3.1 Сущность метода

Флотационный метод выделения вредных организмов из образцов сметок заключается во флотации кутикулы вредных организмов на поверхности воды вследствие ее гидрофобных свойств, с после-

дующим просмотром с помощью стереомикроскопа на наличие вредных организмов в целях обнаружения явной формы зараженности объектом исследования.

7.1.3.2 Оборудование, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из образцов сметок флотационным методом используют оборудование, посуду и материалы в соответствии с 7.1.2.2, а также следующие материалы:

- воду кипяченую;
- бумагу фильтровальную лабораторную;
- ткань мелкоячеистую типа мельничный газ или нейлон.

Допускается применение других материалов с техническими характеристиками не хуже указанных.

7.1.3.3 Проведение выделения

Перед выделением вредных организмов из образцов сметок флотационным методом предварительно проводят выделение вредных организмов методом просеивания в соответствии с 7.1.2, обнаруженные вредные организмы отбирают в соответствии с разделом 8.

Затем проход образца сметок помещают в кювету с холодной кипяченой водой, осторожно перемешивают шпателем и оставляют на 30—60 мин. Объем жидкости должен превышать объем образца сметок в 10—20 раз.

Верхний слой отстоявшейся жидкости с вредными организмами и экзувием сливают через сито, ячейки которого закрыты мелкоячеистой тканью.

Примечание — Не допускается использование воронки с фильтром, т. к. в ней могут быть разрушены хрупкий экзувий и мертвые насекомые.

Осадок на ткани промывают большим количеством проточной воды и просматривают под стереомикроскопом.

7.1.3.4 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в образце сметок вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в образце сметок вредных организмов сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в образце сметок вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

7.1.3.5 Упаковка и маркировка

Чашки Петри маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Образцы сметок упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для проведения других видов лабораторных исследований, хранения или утилизации.

Обеззараживание использованных материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов и зараженных образцов сметок проводят в соответствии с 5.1.2.

7.2 Методы выделения вредных организмов из клеевых ловушек

7.2.1 Общие положения

К клеевым ловушкам относятся цветные клеевые и феромонные клеевые ловушки (далее — клеевые ловушки).

7.2.2 Средства измерений, оборудование, реактивы, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из клеевых ловушек используют следующие средства измерений, оборудование, реактивы, посуду и материалы:

- часы лабораторные;
- лупы ручные и/или налобные бинокулярные с кратностью увеличения 1,5× — 10,0× с источником света;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- фильтр поляризационный;
- раствор ректификованного этилового спирта 70 %-ный;
- воду дистиллированную;
- состав для очищения тканей типа Histo-Clear (далее — Histo-Clear) или средство моющее жидкое;

- пипетку Пастера;
- чашки Петри пластиковые или стеклянные;
- чашки Петри стеклянные для Histo-Clear или тигель фарфоровый малый;
- бумагу фильтровальную лабораторную;
- иглы препаровальные прямые или изогнутые;
- линейку металлическую;
- картон листовой формата А4;
- кисточку акварельную № 1;
- ножницы лабораторные;
- пинцет мягкий с заостренными концами;
- скальпель хирургический копьевидный, цельный или со съемным лезвием;
- стекла покровные;
- стекла предметные с лункой.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству не хуже указанных.

7.2.3 Подготовка к выделению

Феромонные клеевые ловушки освобождают от упаковки, вкладыш ловушки (при наличии) извлекают из корпуса.

Цветные клеевые ловушки освобождают от канцелярских скрепок. Прозрачную упаковку с цветных клеевых ловушек не удаляют. При необходимости клеевые ловушки разрезают на части.

Для исследования клеевых ловушек под стереомикроскопом рабочий стол закрывают листом картона, чтобы защитить поверхность от загрязнения клеем и царапин от лезвия скальпеля при вырезании фрагментов ловушки. Объектив стереомикроскопа для защиты от загрязнения клеем рекомендуется закрывать поляризационным фильтром.

7.2.4 Проведение выделения

7.2.4.1 Проведение выделения мелких насекомых

К мелким насекомым (длиной менее 0,3 см) относятся самцы надсемейства Coccoidea (Кокциды) и семейств Liriomyzidae (Минирующие мухи), Drosophilidae (Плодовые мушки), Thripidae (Трипсы).

Клеевую ловушку помещают на рабочий стол стереомикроскопа, придерживают рукой в перчатке и просматривают под стереомикроскопом. При обнаружении насекомых, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, выделение проводят одним из двух способов, в зависимости от состояния клеевой ловушки.

Способ 1 — для клеевых ловушек с защитной пластиковой пленкой

В случае если клеевая ловушка имеет защитную пластиковую пленку, покрывающую клеевую поверхность ловушки, копьевидным скальпелем вырезают фрагмент ловушки вокруг насекомого (насекомых) вместе с пластиковой пленкой. С помощью пинцета фрагмент помещают, в зависимости от его размера, в стеклянную чашку Петри или фарфоровый тигель с Histo-Clear так, чтобы жидкость покрывала фрагмент полностью. Сосуд закрывают крышкой.

Примечание — В случае если клеевая ловушка покрыта толстым слоем клея, его предварительно аккуратно удаляют с помощью скальпеля на расстоянии от насекомого.

Способ 2 — для клеевых ловушек с высохшей клеевой поверхностью

В случае если клеевая ловушка имеет высохшую клеевую поверхность, а насекомые стали сухими и хрупкими, насекомых удаляют вместе с частью клеевой ловушки и помещают фрагмент ловушки с насекомыми, в зависимости от его размера, в стеклянную чашку Петри или фарфоровый тигель с Histo-Clear.

Примечание — Не допускается использование пластиковых чашек Петри, так как они растворимы в Histo-Clear.

Через 4 ч насекомые всплывают на поверхность жидкости. Для полного растворения клеевого слоя насекомых рекомендуется выдержать в стеклянной чашке Петри или фарфоровом тигле с Histo-Clear от 16 до 20 ч.

Для удаления Histo-Clear насекомое с помощью кисточки переносят на предметное стекло с лункой в 70 %-ный раствор этилового спирта на 30 мин, затем дважды промывают дистиллированной водой, удаляя воду из лунки с помощью фильтровальной бумаги.

Предметное стекло с лункой закрывают покровным стеклом.

Примечание — Допускается использование жидких моющих средств вместо Histo-Clear, но качество очистки при этом будет ниже.

7.2.4.2 Проведение выделения крупных насекомых

К крупным насекомым (длиной 0,3 см и более) относятся вредные организмы отрядов Lepidoptera (Чешуекрылые), Coleoptera (Жесткокрылые) и Hemiptera (Полужесткокрылые) и семейства Tephritidae (Пестрокрылки).

Клеевую ловушку помещают на рабочий стол, придерживают рукой в перчатке и просматривают под лупой. При обнаружении насекомых, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, на них наносят несколько капель Histo-Clear с помощью пипетки Пастера и выдерживают 1 ч.

Затем насекомых снимают с клеевой поверхности препаровальной иглой или пинцетом и переносят в сосуд с Histo-Clear на 1 ч, и, после промывания в 70 %-ном растворе этилового спирта, оставляют на фильтровальной бумаге до высыхания.

Примечание — В случае если идентификацию объекта исследования проводят по гениталиям, скальпелем отделяют брюшко насекомого и переносят в сосуд с Histo-Clear на 1 ч.

Насекомых из каждой клеевой ловушки помещают в чашки Петри, дно которых покрыто фильтровальной бумагой.

7.2.5 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в клеевой ловушке вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в клеевой ловушке вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

7.2.6 Упаковка и маркировка

Сосуд (предметное стекло, чашки Петри) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Клеевые ловушки упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для утилизации.

Обеззараживание использованных средств измерений, оборудования, посуды и материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов проводят в соответствии с 5.1.2.

7.3 Правила выделения вредных организмов из пищевых приманок

7.3.1 Оборудование, посуда и материалы

При проведении выделения вредных организмов из пищевых приманок используют оборудование, посуду и материалы в соответствии с 6.1.2.2, а также ножницы лабораторные.

7.3.2 Проведение выделения вредных организмов из пищевых приманок

Поверхность мешочка с пищевой приманкой просматривают под стереомикроскопом.

Мешочек с приманкой разрезают ножницами. Содержимое мешочка размещают на листе бумаги и просматривают под стереомикроскопом с помощью шпателя в соответствии с 6.1.2.4.

Затем мешочек выворачивают. Под стереомикроскопом на темном поле рабочего стола, чтобы не пропустить прозрачных личинок младших возрастов, внимательно осматривают внутреннюю поверхность мешочка.

7.3.3 Интерпретация результатов

В случае отсутствия обнаружения в пищевой приманке вредных организмов энтомологическое исследование завершают.

В случае отсутствия обнаружения в пищевой приманке вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, энтомологическое исследование завершают.

В случае обнаружения в пищевой приманке вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

7.3.4 Упаковка и маркировка

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

Пищевые приманки упаковывают в соответствии с 5.3.1.2 и направляют для утилизации.

Обеззараживание использованных материалов, а также утилизацию использованных одноразовых материалов проводят в соответствии с 5.1.2.

7.4 Правила выделения вредных организмов из световых ловушек и масляных приманок

Выделение насекомых из световых ловушек и масляных приманок проводят на месте их размещения при проведении карантинных фитосанитарных обследований подкарантинных объектов.

В случае обнаружения в световых ловушках и масляных приманках вредных организмов, сходных по внешним морфологическим признакам с объектом исследования, проводят отбор вредных организмов (или их фрагментов) в соответствии с разделом 8.

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

8 Правила отбора вредных организмов

8.1 Общие положения

Правила отбора вредных организмов от образцов подкарантинной продукции в зависимости от их таксономической принадлежности и стадии жизненного цикла приведены в таблице 2.

Примечание — Перечень семейств (надсемейств, подсемейств) вредных организмов в таблице 2 приведен в справочных целях и не является исчерпывающим.

8.2 Оборудование, посуда, реактивы и материалы

При проведении отбора вредных организмов от образцов подкарантинной продукции используют следующие оборудование, посуду, реактивы и материалы:

- чайник электрический или плитку электрическую с закрытой спиралью или термостат твердотельный;
- аспиратор энтомологический (эксгаустер);
- пипетку Пастера или трубку стеклянную;
- пробирки пластиковые с крышкой или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 25—50 $см^3$;
- пробирки пластиковые с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1—2 $см^3$;
- садки или сосуды, стеклянные или пластиковые;
- чашки Петри пластиковые или стеклянные;
- воду проточную;
- раствор ректификованного этилового спирта 70 %-ный;
- иглы препаровальные, прямые и/или изогнутые;
- кисточку акварельную № 1;
- пинцеты мягкие с заостренными концами;
- скальпель хирургический.

Допускается применение другой посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству не хуже указанных.

Таблица 2

Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства, подсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Материал для отбора	Посуда для отбора с целью доращивания	Посуда для отбора с целью фиксации	Примечание
Отряд Sarcoptiformes (Саркоптиформные клещи)					
Acaroidea (Акароидные клещи)	Яйцо	Смоченная в воде кисточка или препаровальная игла	Чашка Петри (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну чашку Петри)	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Личинка, нимфа				
	Имаго		—		
Отряд Trombidiformes (Тромбидиформные клещи)					
Eriophyoidea (Четырехногие клещи)	Личинка, нимфа	Скальпель или препаровальная игла (для вскрытия галла). Смоченная в воде кисточка или препаровальная игла (для отбора личинок, нимф и имаго)	Садок с растением-хозяином с галлами	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Имаго		—		
Tetranychoidea (Паутинные клещи)	Яйцо	Препаровальная игла	Чашка Петри с листом растения-хозяина (допускается помещение нескольких личинок в одну чашку Петри)	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Личинка, нимфа	Смоченная в воде кисточка или препаровальная игла			
Tetranychoidea (Паутинные клещи)	Имаго	Смоченная в воде кисточка или препаровальная игла	—		Перед фиксацией необходимо предварительное фотографирование живых имаго
Отряд Thysanoptera (Трипсы)					
Thripidae (Трипсы)	Личинка (нимфа)	Смоченная в воде кисточка или препаровальная игла, или пипетка Пастера	Чашка Петри с листом растения-хозяина (допускается помещение нескольких личинок в одну чашку Петри)	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Имаго		—		

Продолжение таблицы 2

Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства, подсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Материал для отбора	Посуда для отбора с целью доращивания	Посуда для отбора с целью фиксации	Примечание
Отряд Homoptera (Равнокрылые)					
Aleyrodidae (Белокрылки)	Личинка	Препаровальная игла	Садок с растением-хозяином	Чашка Петри с листом растения-хозяина (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну чашку Петри)	—
	Псевдопупарий		—		
Coccidae (Ложнощитовки)	Личинка	Препаровальная игла	Садок с растением-хозяином	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Имаго (самка)	Препаровальная игла	—	Чашка Петри с листом растения-хозяина (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну чашку Петри)	Перед фиксацией необходимо предварительное фотографирование воскового покрова самки. Выделение и отбор имаго (самца) в соответствии с 7.2
Diaspididae (Щитовки)	Личинка	Препаровальная игла	Садок с растением-хозяином	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Имаго (самка)		—	Чашка Петри с листом растения-хозяина (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну чашку Петри)	Выделение и отбор имаго (самца) в соответствии с 7.2
Margarodidae (Цистообразующие червецы)	Цисты	Смоченная в воде кисточка или препаровальная игла, или пинцет	—	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Имаго (самка)	Пинцет	—		

Продолжение таблицы 2

Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства, подсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Материал для отбора	Посуда для отбора с целью доращивания	Посуда для отбора с целью фиксации	Примечание
Pseudococcidae (Мучнистые червецы)	Яйцо	Препаровальная игла	Чашка Петри с кладкой яиц	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Личинка	Смоченная в воде кисточка или препаровальная игла	Чашка Петри (допускается помещение нескольких личинок в одну чашку Петри)		
	Имаго (самка)	Пинцет	—		Перед фиксацией необходимо предварительное фотографирование воскового покрова самки. Выделение и отбор имаго (самца) в соответствии с 7.2
Phylloxeridae (Филлоксеры)	Личинка (нимфа)	Скальпель (для вскрытия галла). Смоченная в воде кисточка или препаровальная игла, или пипетка Пастера (для отбора личинок, нимфы и имаго)	—	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Имаго (самка)		—		
Отряд Hemiptera (Полужесткокрылые)					
Coreidae (Краевики), Pentatomidae (Настоящие щитники)	Личинка	Эксгаустер или пинцет	—	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Имаго			Пробирка, по одному вредному организму	

Продолжение таблицы 2

Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства, подсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Материал для отбора	Посуда для отбора с целью доращивания	Посуда для отбора с целью фиксации	Примечание
Tingidae (Кружевницы)	Личинка	Смоченная в воде кисточка или препаровальная игла, или эксгаустер	Чашка Петри с листом растения-хозяина (допускается помещение нескольких личинок в одну чашку Петри)	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Имаго	Эксгаустер или пинцет	—	Пробирка, по одному вредному организму	
Отряд Hymenoptera (Перепончатокрылые)					
Cynipoidea (Орехотворки)	Личинка	Скальпель (для вскрытия галла). Препаровальная игла (для отбора личинок)	Чашка Петри с растением-хозяином с галлами	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Имаго	Смоченная в воде кисточка или эксгаустер	—		
Отряд Coleoptera (Жесткокрылые)					
Bruchinae (Зерновки), Curculionidae (Долгоносики), за исключением Scolytinae (Короеды)	Личинка младших возрастов	Препаровальная игла (для вскрытия семян). Пинцет (для отбора личинок и куколок)	Садок [допускается помещение нескольких зерен (семян) в одном садке]	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Личинка старших возрастов				
	Куколка				
	Имаго	Пинцет или эксгаустер	—	Пробирка, по одному вредному организму	

Продолжение таблицы 2

Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства, подсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Материал для отбора	Посуда для отбора с целью доращивания	Посуда для отбора с целью фиксации	Примечание
Bostrichidae (Капюшонники), Dermestidae (Кожееды)	Личинка младших возрастов, экзувий	Смоченная в воде кисточка	Садок, по одному вредному организму	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Личинка старших возрастов, экзувий	Пинцет	—	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта, по одному вредному организму	
	Куколка		Пробирка, по одному вредному организму		
	Имаго	Пинцет или эксгаустер	—	Пробирка, по одному вредному организму	
Buprestidae (Златки), Cerambycidae (Усачи), Chrysomelidae (Листоеды), за исключением Bruchinae (Зерновки), Elateridae (Щелкуны)	Личинка младших возрастов	Смоченная в воде кисточка или препаровальная игла	—	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	Перед фиксацией необходимо предварительно поместить в воду с температурой более 95 °С
	Личинка старших возрастов	Пинцет			
	Куколка			Пробирка, по одному вредному организму	—
	Имаго				
Scarabaeidae (Пластинчатоусые)	Личинка	Пинцет	—	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	Перед фиксацией необходимо предварительно поместить в воду с температурой более 95 °С
	Куколка		Пробирка, по одному вредному организму	Пробирка или чашка Петри, по одному вредному организму	—
	Имаго		—		

Продолжение таблицы 2

Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства, подсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Материал для отбора	Посуда для отбора с целью доращивания	Посуда для отбора с целью фиксации	Примечание
Scolytinae (Короеды)	Личинка младших возрастов	Препаровальная игла	—	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	Перед фиксацией необходимо предварительно поместить в воду с температурой более 95 °С
	Личинка старших возрастов	Пинцет			
	Куколка	Пинцет	—	Пробирка, по одному вредному организму	—
	Имаго				
Отряд Lepidoptera (Чешуекрылые)					
Gelechiidae (Выемчатокрылые моли)	Гусеница младших возрастов	Препаровальная игла (для вскрытия мин). Пинцет (для отбора гусениц и куколок)	Чашка Петри с листом растения-хозяина (допускается помещение нескольких гусениц младших возрастов в одну чашку Петри)	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	Перед фиксацией необходимо предварительно поместить в воду с температурой более 95 °С
	Гусеница старших возрастов		—		
	Куколка		Пробирка, по одному вредному организму		—
Lasiocampidae (Коконопряды)	Яйца	Скальпель (для отбора кладки яиц)	—	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Гусеница младших возрастов	Препаровальная игла	Чашка Петри с листом растения-хозяина, по одному вредному организму		Перед фиксацией необходимо предварительное фотографирование прижизненной окраски гусеницы
	Гусеница старших возрастов	Пинцет	—		
Lasiocampidae (Коконопряды)	Куколка	Пинцет	Чашка Петри, по одному вредному организму		

Продолжение таблицы 2

Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства, подсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Материал для отбора	Посуда для отбора с целью доращивания	Посуда для отбора с целью фиксации	Примечание
Noctuidae (Совки)	Гусеница младших возрастов	Пинцет	Чашка Петри с листом растения-хозяина, по одному вредному организму	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	Перед фиксацией необходимо предварительное фотографирование прижизненной окраски гусеницы
	Гусеница старших возрастов		—		
	Куколка		Пробирка, по одному вредному организму		—
Pyralidae (Настоящие огневки), Carposinidae (Садовые моли)	Гусеница младших возрастов	Смоченная в воде кисточка или препаровальная игла	Садок с растением-хозяином	Пробирка (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	Перед фиксацией необходимо предварительно поместить гусениц в воду с температурой более 95 °С
	Гусеница старших возрастов	Пинцет	—		
	Куколка в коконе		—	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
Tineidae (Настоящие моли), Tortricidae (Листовертки)	Гусеница младших возрастов	Смоченная в воде кисточка или препаровальная игла	Садок с растением-хозяином	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	Перед фиксацией необходимо предварительно поместить в воду с температурой более 95 °С. Для свободноживущих гусениц рекомендуется предварительное фотографирование прижизненной окраски гусеницы
	Гусеница старших возрастов	Пинцет	—		
	Куколка		Чашка Петри или пробирка, по одному вредному организму		

Продолжение таблицы 2

Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства, подсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Материал для отбора	Посуда для отбора с целью доращивания	Посуда для отбора с целью фиксации	Примечание
Отряд Diptera (Двукрылые)					
Agromyzidae (Минирующие мухи)	Личинка младших возрастов	Препаровальная игла (для вскрытия мин). Пинцет или препаровальная игла (для отбора личинок)	Чашка Петри с листом растения-хозяина (допускается помещение нескольких личинок возрастов в одну чашку Петри)	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Личинка старших возрастов		—		
Agromyzidae (Минирующие мухи)	Пупарий	Препаровальная игла (для вскрытия мин). Пинцет (для отбора пупариев)	Чашка Петри с листом растения-хозяина (допускается помещение нескольких пупариев в одну чашку Петри)	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	—
	Имаго	Эксгаустер или пипетка Пастера	—	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта, по одному вредному организму	
Drosophilidae (Плодовые мушки), Phoridae (Горбатки)	Личинка младших возрастов	Кисточка (для отбора с поверхности воды)	Чашка Петри	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	Перед фиксацией необходимо предварительно поместить в воду с температурой более 95 °С
	Личинка старших возрастов	Пинцет или пипетка Пастера, или стеклянная трубка	Чашка Петри или пробирка		
	Пупарий	Пинцет	Пробирка, (допускается помещение нескольких пупариев в одну пробирку)		
	Имаго	Эксгаустер или пипетка Пастера	—	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта, по одному вредному организму	—

Окончание таблицы 2

Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства, подсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Материал для отбора	Посуда для отбора с целью доращивания	Посуда для отбора с целью фиксации	Примечание
Tephritidae (Пестрокрылки)	Личинки первого и второго возрастов	Кисточка (для отбора с поверхности воды)	Садок с растением-хозяином (допускается помещение нескольких личинок в одном садке)	Пробирка, наполовину заполненная 70 %-ным раствором этилового спирта (допускается помещение нескольких вредных организмов в одну пробирку)	Перед фиксацией необходимо предварительно поместить в воду с температурой более 95 °С
	Личинка третьего возраста	Пинцет или пипетка Пастера, или стеклянная трубка	—		
	Пупарий	Пинцет	Чашка Петри (допускается помещение нескольких пупариев в одной чашке Петри)		

9 Правила доращивания вредных организмов

9.1 Общие положения

Доращивание насекомых и клещей применяют в случае, если в образцах подкарантинной продукции или в образцах, отобранных при карантинных фитосанитарных обследованиях подкарантинных объектов, обнаружены преимагинальные стадии вредных организмов, по которым невозможно провести идентификацию морфологическим методом вследствие того, что диагностические признаки данных видов вредных организмов еще не сформированы.

Примечание — Доращивание нецелесообразно применять для преимагинальных стадий вредных организмов, повреждающих подземные части растений, а также лесоматериалы, ввиду длительности жизненного цикла данных видов вредных организмов.

9.2 Реактивы, посуда и материалы

При проведении доращивания вредных организмов используют следующие реактивы, посуду и материалы:

- воду проточную;
- раствор хлорида натрия насыщенный;
- пипетку Пастера или трубку стеклянную;
- пробирки пластиковые с крышкой или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 25—50 $см^3$;
- сосуды пластиковые или стеклянные (садки);
- чашки Петри пластиковые или стеклянные;
- эксикатор с притертой крышкой;
- бумагу фильтровальную лабораторную;
- вату медицинскую гигроскопическую;
- иглы препаровальные, прямые или изогнутые;
- крышки полиэтиленовые;
- образцы продуктов запаса или посевного материала или живых растений или свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур;
- песок прокаленный;
- пинцет мягкий с заостренными концами;
- ткань мелкоячеистую типа мельничный газ или нейлон.

Допускается применение другой посуды с метрологическими характеристиками, материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству не хуже указанных.

9.3 Доращивание личинок и куколок вредных организмов, повреждающих продукты запаса и посевной материал

9.3.1 Общие положения

В качестве кормовых растений для доращивания личинок и куколок вредных организмов, повреждающих продукты запаса и посевной материал, используют подкарантинную продукцию, в образцах которой они были обнаружены.

9.3.2 Проведение доращивания личинок и куколок вредных организмов, повреждающих продукты запаса и посевной материал

Образец продуктов запаса и посевного материала с личинками или куколками вредных организмов помещают в стеклянный или пластиковый сосуд (садок).

Горло сосуда закрывают тканью. Ткань прижимают к горлу с помощью пластиковой крышки, в которой вырезано отверстие, диаметр которого меньше диаметра горла сосуда.

Садки маркируют в соответствии с 5.3.4. После завершения процесса доращивания вредные организмы помещают в пробирки, маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

9.4 Доращивание личинок и гусениц вредных организмов, повреждающих живые растения

9.4.1 Общие положения

В качестве кормовых растений для доращивания личинок и гусениц вредных организмов, повреждающих живые растения, используют комнатные растения или растения, собранные в естественных местах обитания.

Образцы живых растений, подлежащие энтомологическим исследованиям, не рекомендуется использовать в качестве кормовых растений для доращивания, ввиду того, что растения могут быть обработаны пестицидами, что приводит к гибели насекомых.

В качестве субстрата для кормовых растений может быть использована влажная вата, стерилизованный влажный песок и т. п.

9.4.2 Проведение доращивания личинок и куколок вредных организмов, повреждающих живые растения

Образцы листьев, зараженные личинками и нимфами надсемейства Tetranychoidea (Паутинные клещи) и семейства Thripidae (Трипсы), личинками семейства Aleyrodidae (Белокрылки), а также минами, содержащих живых личинок семейства Agromyzidae (Минирующие мухи), помещают в чашку Петри, дно которой покрыто фильтровальной бумагой в два-три слоя. Бумагу смачивают водой и закрывают чашку Петри крышкой.

Бумагу увлажняют по мере необходимости, не допуская увядания или загнивания листьев кормовых растений. Листья в чашках Петри ежедневно просматривают до образования пупариев семейства Agromyzidae (Минирующие мухи) и псевдопупариев семейства Aleyrodidae (Белокрылки), а также имаго семейства Thripidae (Трипсы) и надсемейства Tetranychidae (Паутинные клещи).

Фильтровальная бумага подлежит замене по мере загрязнения.

Для вредных организмов отряда Diptera (Двукрылые) во время отрождения из пупариев необходимо поддерживать относительную влажность воздуха от 60 % до 70 %, чтобы избежать деформирования крыльев.

Для окукливания личинки, как правило, покидают листья. Пупарии отбирают с помощью пинцета и помещают в чашки Петри или пробирки, не плотно закрытые пробкой из ваты.

Пробирки или чашки Петри помещают в эксикаторы, где поддерживают стабильную относительную влажность воздуха над насыщенным раствором хлорида натрия (см. Б.7, приложение Б). В пробирку вкладывают сложенную гармошкой полоску фильтровальной бумаги, чтобы отродившаяся муха могла зафиксироваться лапками и расправить крылья.

Примечание — В случае если в помещении может поддерживаться уровень влажности от 60 % до 70 %, помещать чашки Петри в эксикатор не требуется.

Пробирки и чашки Петри маркируют в соответствии с 5.3.4. После завершения процесса доращивания вредные организмы помещают в пробирки, маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

9.5 Доращивание личинок и гусениц вредных организмов, повреждающих свежие фрукты, овощи, корнеплоды, грибы, плоды бахчевых и ягодных культур

9.5.1 Общие положения

В качестве кормовых растений для доращивания личинок и гусениц вредных организмов, повреждающих свежие фрукты, овощи, корнеплоды, грибы, плоды бахчевых и ягодных культур, используют подкарантинную продукцию, в образцах которой они были обнаружены.

Примечание — Перед помещением в садок фрукты тщательно промывают водой, чтобы снять защитный воск.

9.5.2 Проведение доращивания личинок и гусениц вредных организмов, повреждающих свежие фрукты, овощи, корнеплоды, грибы, плоды бахчевых и ягодных культур

Образцы свежих фруктов, овощей, корнеплодов, грибов, плодов бахчевых и ягодных культур, зараженные вредными организмами, помещают в стеклянный или пластиковый сосуд (садок), дно которого покрыто слоем прокаленного песка или фильтровальной бумагой в два-три слоя. Субстрат слабо увлажняют.

Примечание — В случае порчи плода, зараженного личинками отряда Diptera (Двукрылые), его разрезают и помещают в воду в соответствии с 6.3.5.3. Из воды личинок извлекают с помощью пипетки Пастера или

стеклянной трубки и переносят в новый плод, предварительно сделав в нем небольшие отверстия препаровальной иглой для внедрения личинок. Гусеницы могут внедриться в новый плод самостоятельно — достаточно поместить в садок с подгнившими плодами свежие плоды.

Фильтровальная бумага подлежит замене по мере загрязнения.

Садки маркируют в соответствии с 5.3.4. После завершения процесса доращивания вредные организмы помещают в пробирки, маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

9.6 Доращивание куколок и пупариев вредных организмов, повреждающих живые растения и свежие фрукты, ягоды, овощи, корнеплоды и грибы

9.6.1 Общие положения

Для доращивания куколок и пупариев вредных организмов, повреждающих живые растения и свежие фрукты, ягоды, овощи, корнеплоды и грибы, необходимо наличие в садке полосок фильтровальной бумаги, сложенной гармошкой и достаточного объема для того, чтобы насекомое после отрождения могло зафиксироваться лапками и расправить крылья.

9.6.2 Проведение доращивания куколок и пупариев вредных организмов, повреждающих живые растения и свежие фрукты, ягоды, овощи, корнеплоды и грибы

Садок с куколками и пупариями вредных организмов помещают в эксикатор с контролируемой влажностью воздуха от 60 % до 70 %. Постоянный уровень влажности в эксикаторе контролируют насыщенным раствором хлорида натрия.

Примечание — Повышенный уровень влажности может привести к загниванию куколки или пупария, а низкий уровень влажности приводит к деформации крыльев после отрождения насекомых.

Фильтровальная бумага подлежит замене по мере загрязнения.

Садки маркируют в соответствии с 5.3.4. После завершения процесса доращивания вредные организмы помещают в пробирки, маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

10 Методы подготовки вредных организмов к идентификации морфологическим методом

10.1 Методы замаривания вредных организмов

10.1.1 Общие положения

Методы замаривания вредных организмов, которые могут быть применены в зависимости от их таксономической принадлежности и стадии жизненного цикла, приведены в таблице 3.

Примечание — Перечень отрядов (надсемейств, семейств) вредных организмов в таблице 3 приведен в справочных целях и не является исчерпывающим.

Таблица 3

Научное и общепринятое наименование отряда (надсемейства, семейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Метод замаривания в сосуде или метод замораживания	Метод замаривания в горячей воде	Метод замаривания в этиловом спирте
Надсемейства Tetranychoidea (Паутинные клещи), Eriophyoidea (Четырехногие клещи), Acaroidea (Акароидные клещи)	Имаго	–	–	+
Отряд Thysanoptera (Трипсы)	Имаго	–	–	+
Отряд Homoptera (Равнокрылые), семейство Aleyrodidae (Белокрылки)[1)]	Псевдопупарий	–	–	–
Отряд Homoptera (Равнокрылые), семейства Phylloxeridae (Филлоксеры), Pseudococcidae (Мучнистые червецы), Diaspididae (Щитовки), Coccidae (Ложнощитовки)[1)]	Имаго самок	–	–	+
Отряд Hemiptera (Полужесткокрылые)	Имаго	+	–	+
Отряд Hymenoptera (Перепончатокрылые)	Имаго	–	–	+
Отряд Coleoptera (Жесткокрылые)	Имаго	+	–	+
	Личинки, за исключением Dermestidae (Кожееды)	–	+	–
	Личинки Dermestidae (Кожееды)	–	–	+
Отряд Lepidoptera (Чешуекрылые)	Имаго	+	–	–
	Гусеница	–	+	–
Отряд Diptera (Двукрылые)	Имаго	+	–	+
	Личинка	–	+	–

[1)] Для идентификации вредных организмов семейств Aleyrodidae (Белокрылки), Coccidae (Ложнощитовки), Diaspididae (Щитовки), Pseudococcidae (Мучнистые червецы) и Phylloxeridae (Филлоксеры) молекулярно-генетическими методами также может применяться гербаризация.

Примечание — В настоящей таблице использованы следующие обозначения:

«+» — метод применим;

«–» — метод не применим.

10.1.2 Метод замаривания в сосуде

10.1.2.1 Сущность метода

Метод замаривания вредных организмов в сосуде заключается в лишении вредных организмов жизнеспособности в сосуде с этилацетатом.

Примечание — Использование диэтилового эфира или хлороформа при замаривании насекомых в сосуде не рекомендуется, т.к. затрудняет расправление насекомых и последующую идентификацию морфологическим методом.

10.1.2.2 Средства измерений, оборудование, реактивы, посуда и материалы

При проведении замаривания вредных организмов методом замаривания в сосуде используют следующие средства измерений, оборудование, реактивы, посуду и материалы:

- часы лабораторные;
- шкаф вытяжной с принудительной вентиляцией;
- этилацетат;
- пробирки пластиковые с крышкой типа Эппендорф или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 1—2 $см^3$;
- сосуд стеклянный для замаривания;
- бумагу фильтровальную лабораторную или опилки или крошку пробковую;
- вату медицинскую гигроскопическую;
- пинцет мягкий с заостренными концами;
- респиратор;
- ткань любого типа или фрагмент резины.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству, не хуже указанных.

10.1.2.3 Подготовка к замариванию

На дно сосуда для замаривания помещают ватный тампон в тканевом мешочке или фрагмент резины и пропитывают его этилацетатом из расчета от 3 до 5 $см^3$ этилацетата в день.

Примечание — Работы с сосудами для замаривания проводят в вытяжном шкафу с использованием респиратора.

Для сохранности насекомых сосуд для замаривания заполняют сложенными гармошкой полосками фильтровальной бумаги, опилками или пробковой крошкой.

10.1.2.4 Проведение замаривания

Живых насекомых помещают в сосуд для замаривания с помощью пинцета или в предварительно открытых пробирках. После замаривания насекомых извлекают с помощью пинцета.

Насекомых Microlepidoptera и мух семейств Drosophilidae (Плодовые мушки) и Phoridae (Горбатки) выдерживают от 20 до 30 мин, имаго длиной до 1 см семейств Dermestidae (Кожееды), Bostrichidae (Капюшонники), Chrysomelidae (Листоеды) — 1—2 ч, имаго длиной 1 см и более семейств Cerambycidae (Усачи), Buprestidae (Златки), Scarabaeidae (Пластинчатоусые) и Curculionidae (Долгоносики) — не менее 4 ч.

Сосуды для замаривания маркируют в соответствии с 5.3.4. После завершения процесса замаривания вредные организмы помещают в пробирки, маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

10.1.3 Метод замораживания

10.1.3.1 Сущность метода

Метод замораживания вредных организмов заключается в лишении вредных организмов жизнеспособности путем их выдерживания в морозильной камере.

10.1.3.2 Средства измерений, оборудование, посуда и материалы

При проведении замаривания вредных организмов методом замораживания используют следующие средства измерений, оборудование, посуду и материалы:

- часы лабораторные;
- камеру морозильную, способную поддерживать температуру не менее минус 20 °С;
- пробирки пластиковые с крышкой или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 25—50 $см^3$;
- пробирки пластиковые с крышкой типа Эппендорф или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 1—2 $см^3$;

- бумагу фильтровальную лабораторную;
- пинцет мягкий с заостренными концами.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, а оборудования и материалов с техническими характеристиками не хуже указанных.

10.1.3.3 Подготовка к замораживанию

Живых имаго насекомых помещают в пробирку с помощью пинцета и закрывают крышкой. Во избежание конденсации на теле насекомого в пробирку помещают сложенные гармошкой полоски фильтровальной бумаги.

10.1.3.4 Проведение замораживания

Живых имаго насекомых в закрытой пробирке помещают в морозильную камеру при температуре от минус 20 °С до минус 35 °С на 2—4 ч, в зависимости от размеров насекомого. Крупные насекомые могут быть выдержаны в морозильной камере до 20 ч.

Пробирки маркируют в соответствии с 5.3.4. После замораживания пробирки извлекают из морозильной камеры, насекомых раскладывают на фильтровальной бумаге для просушивания, затем вновь помещают в пробирки, маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

10.1.4 Метод замаривания в горячей воде

10.1.4.1 Сущность метода

Метод замаривания вредных организмов в горячей воде заключается в лишении вредных организмов жизнеспособности путем их выдерживания в воде с температурой более 95 °С в целях сохранения формы тела и окраски покровов вредных организмов при помещении в 70 %-ный раствор этилового спирта.

10.1.4.2 Средства измерений, оборудование, реактивы, посуда и материалы

При проведении замаривания вредных организмов методом замаривания в горячей воде используют следующие средства измерений, оборудование, реактивы, посуду и материалы:

- часы лабораторные;
- чайник электрический или плитку электрическую с закрытой спиралью или термостат твердотельный;
- воду проточную;
- раствор ректификованного этилового спирта 70 %-ный;
- воронку лабораторную;
- пробирки пластиковые с крышкой или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 25—50 $см^3$;
- пробирки пластиковые с крышкой типа Эппендорф или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 1—2 $см^3$;
- чашки Петри стеклянные или стаканы химические стеклянные вместимостью 100 $см^3$ и более;
- бумагу фильтровальную лабораторную;
- кисточку акварельную № 1 или пинцет мягкий с заостренными концами.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками не хуже указанных.

10.1.4.3 Подготовка к замариванию

Перед замариванием окрашенных гусениц насекомых в горячей воде рекомендуется проводить их фотографирование или описание состояния и окраски покровов, т.к. под воздействием горячей воды гусеницы утрачивают прижизненную окраску.

10.1.4.4 Проведение замаривания

Мелких личинок отряда Coleoptera (Жесткокрылые) с мягкими покровами, личинок отряда Diptera (Двукрылые), гусениц отряда Lepidoptera (Чешуекрылые) (длиной менее 0,3 см) помещают в стеклянную чашку Петри или лабораторный стакан, заливают водой с температурой более 95 °С и затем извлекают пинцетом.

Крупных личинок и гусениц (длиной 0,3 см и более) помещают в лабораторный стакан, который на 1/3 объема заполнен водой с температурой более 95 °С, и в течение 1—5 мин, не доводя до кипения, нагревают на электрической плитке или в термостате, затем вместе с водой сливают в воронку с фильтром из фильтровальной бумаги. Через 10—15 мин вредные организмы с помощью кисточки или пинцета переносят в пробирки типа Эппендорф вместимостью 1—2 $см^3$ или пробирки с возможностью закрытия вместимостью 25—50 $см^3$, затем добавляют 70 %-ный раствор этилового спирта и плотно закрывают.

Пробирки маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

10.1.5 Метод замаривания в этиловом спирте (фиксация)

10.1.5.1 Сущность метода

Метод замаривания вредных организмов в этиловом спирте (фиксация) заключается в лишении вредных организмов жизнеспособности путем их помещения в пробирку с 70 %-ным раствором этилового спирта.

10.1.5.2 Средства измерений, реактивы, посуда и материалы

При проведении замаривания вредных организмов методом замаривания в этиловом спирте используют следующие средства измерений, реактивы, посуду и материалы:

- часы лабораторные;
- раствор ректификованного этилового спирта 70 %-ный;
- пробирки пластиковые с крышкой или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 25—50 $см^3$;
- пробирки пластиковые с крышкой типа Эппендорф или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 1—2 $см^3$;
- чашки Петри стеклянные или стаканы химические стеклянные вместимостью 100 $см^3$ и более;
- бумагу фильтровальную лабораторную;
- кисточку акварельную № 1 или пинцет мягкий с заостренными концами или пипетку Пастера.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству, не хуже указанных.

10.1.5.3 Проведение замаривания

Живых насекомых или клещей с помощью кисточки, пинцета или пипетки Пастера помещают в пробирку с 70 %-ным раствором этилового спирта и выдерживают от 30 до 60 мин в зависимости от размера вредного организма. Насекомых извлекают из раствора и помещают в чашки Петри, дно которых покрыто фильтровальной бумагой. Затем насекомых помещают в пробирки. Клещей из раствора не извлекают.

Примечание — Не рекомендуется длительное хранение имаго насекомых в 70 %-ном растворе этилового спирта вследствие того, что длительное хранение может привести к искажению диагностических признаков и затруднит идентификацию морфологическим методом.

Пробирки (чашки Петри и др.) маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

10.2 Методы размягчения вредных организмов

10.2.1 Общие положения

Насекомые и клещи, поступившие в испытательную лабораторию в соответствии с 4.2 в мертвом состоянии, а также прошедшие процедуру замаривания методом замаривания в сосуде соответствии с 10.1.2, подлежат размягчению для исследования диагностических признаков с целью идентификации морфологическим методом.

10.2.2 Метод размягчения во влажной камере

10.2.2.1 Сущность метода

Метод размягчения вредных организмов во влажной камере заключается в помещении вредных организмов в эксикатор с уровнем влажности от 60 % до 70 % с целью размягчения их покровов.

10.2.2.2 Реактивы, посуда и материалы

При проведении размягчения вредных организмов методом размягчения во влажной камере используют реактивы, посуду и материалы:

- воду дистиллированную;
- пробирки пластиковые с крышкой или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 25—50 $см^3$;
- пробирки пластиковые с крышкой типа Эппендорф или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 1—2 $см^3$;
- эксикатор с притертой крышкой;
- бумагу фильтровальную лабораторную;
- песок прокаленный.

Допускается применение другой посуды с метрологическими характеристиками, материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству не хуже указанных.

10.2.2.3 Проведение размягчения

Насекомых или клещей с твердыми покровами размачивают во влажной камере. В качестве влажной камеры используют небольшой эксикатор или иной сосуд с широким горлом и плотной крышкой. На треть высоты нижней части эксикатора насыпают прокаленный песок, пропитанный дистиллированной водой, или наливают дистиллированную воду. На диск эксикатора кладут фильтровальную бумагу и помещают открытые пробирки с насекомыми или клещами. Как правило, размягчение насекомых и клещей достигается в течение 1 сут. Для размягчения насекомых, таких семейств и подсемейств как Curculionidae (Долгоносики) и Bruchinae (Зерновки), а также некоторых других, требуется более длительный срок пребывания в эксикаторе.

Пробирки маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

10.2.3 Метод размягчения в этиловом спирте

10.2.3.1 Сущность метода

Метод размягчения вредных организмов в этиловом спирте заключается в помещении вредных организмов в пробирки с раствором этилового спирта концентрацией от 50 % до 60 % с целью размягчения их покровов.

Примечание — Метод размягчения вредных организмов в этиловом спирте применяют в качестве экспресс-метода.

10.2.3.2 Средства измерений, оборудование, реактивы, посуда и материалы

- часы лабораторные;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз;
- раствор ректификованного этилового спирта концентрацией от 50 % до 60 %;
- пробирки пластиковые с крышкой или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 25—50 $см^3$;
- пробирки пластиковые с крышкой типа Эппендорф или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 1—2 $см^3$;
- бумагу фильтровальную лабораторную;
- иглы препаровальные прямые или изогнутые.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству, не хуже указанных.

10.2.3.3 Проведение размягчения

Насекомых погружают на 10—15 мин в пробирки с раствором этилового спирта концентрацией от 50 % до 60 % (см. Б.2, приложение Б), после чего подсушивают на фильтровальной бумаге и тонкой препаровальной иглой под стереомикроскопом придают усикам и ногам положение, позволяющее исследовать необходимые диагностические признаки.

Пробирки маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для последующих этапов подготовки вредных организмов и/или идентификации.

10.3 Методы приготовления микропрепаратов

10.3.1 Общие положения

Виды микропрепаратов насекомых и клещей в зависимости от содержания микропрепарата, типа его среды и объема приведены в таблице 4.

Таблица 4

Вид микропрепарата по типу вредного организма	Вид микропрепарата по типу среды	Вид микропрепарата по объему
Тотальный микропрепарат насекомого или клеща	Временный	Объемный
		Плоский
	Постоянный	Плоский

Окончание таблицы 4

Вид микропрепарата по типу вредного организма	Вид микропрепарата по типу среды	Вид микропрепарата по объему
Микропрепарат фрагмента насекомого	Временный	Объемный
		Плоский
	Постоянный	Плоский

10.3.2 Приготовление объемных микропрепаратов

10.3.2.1 Средства измерений, оборудование, реактивы, посуда и материалы

При приготовлении объемных микропрепаратов используют следующие средства измерений, оборудование, реактивы, посуду и материалы:

- часы лабораторные;
- столик нагревательный или плитку электрическую с закрытой спиралью или термостат твердотельный;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз с окуляр-микрометром;
- раствор гидроокиси калия или гидроокиси натрия 10 %-ный;
- раствор ректификованного этилового спирта 70 %-ный;
- глицерин, ч.;
- желатин, ч.;
- микропробирки;
- пипетки Пастера;
- пробирки пластиковые с крышкой типа Эппендорф или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 1—2 $см^3$;
- тигель фарфоровый малый или бюкс стеклянный;
- бумагу фильтровальную лабораторную;
- булавки энтомологические № 0; 00; 1; 2; 3;
- держатели (штативы) для пробирок пластиковых с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1—2 $см^3$;
- иглы препаровальные прямые или изогнутые;
- минуции тонкие длиной 10 мм;
- пинцет мягкий с заостренными концами;
- скальпель хирургический копьевидный, цельный или со съемным лезвием;
- стекла предметные с лункой;
- стекла часовые.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству, не хуже указанных.

10.3.2.2 Правила приготовления объемных микропрепаратов

На предметном стекле с лункой под стереомикроскопом скальпелем или препаровальной иглой отделяют последние сегменты брюшка насекомого и помещают в фарфоровый тигель (бюкс, пробирку) с 10 %-ным раствором гидроокиси калия или гидроокиси натрия (см. Б.8, приложение Б). На нагревательном столике или другим удобным способом несколько раз доводят содержимое до кипения (до трех-четырех закипаний), при этом ткани тела осветляются.

Примечание — Допускается помещение брюшка в фарфоровый тигель (бюкс, пробирку) с 10 %-ным раствором гидроокиси калия или гидроокиси натрия до 20 ч при температуре от 18 °С до 25 °С.

В часовом стекле или на предметном стекле с лункой гениталии отделяют от мягких тканей брюшка, осторожно вытягивая их.

Выделенные гениталии помещают в пробирки со смесью глицерина и 70 %-ного раствора этилового спирта в соотношении 2:1 или в смесь глицерина и желатина в соотношении 2:1, или в чистый глицерин.

Микропрепараты маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для идентификации морфологическим методом.

10.3.3 Приготовление плоских микропрепаратов

10.3.3.1 Общие положения

Приготовление плоских микропрепаратов насекомых включает в себя следующие операции:

- препарирование;
- мацерацию;
- отбеливание;
- удаление воскового слоя;
- окрашивание.

После каждой операции необходимо обязательное промывание объекта исследования.

В качестве среды для постоянных плоских микропрепаратов используют жидкость Хойера, жидкость Фора — Берлезе (см. Б.9, приложение Б) или их аналоги, для временных плоских микропрепаратов — смесь глицерина и желатина (см. Б.10, приложение Б).

Перечень необходимых операций зависит от таксономической принадлежности насекомых и клещей (см. таблицу 5) и вида микропрепарата.

Таблица 5

Наименование операции	Вид микропрепарата
Препарирование	Микропрепарат фрагмента насекомого или клеща
Мацерация	Тотальный микропрепарат насекомого
Отбеливание	Тотальный микропрепарат насекомого или микропрепарат фрагмента насекомого с темной кутикулой
Удаление воскового слоя	Тотальный микропрепарат насекомого отряда Homoptera (Равнокрылые)
Окрашивание	Тотальный микропрепарат насекомого отряда Homoptera (Равнокрылые) или мелких гусениц семейств Tortricidae (Листовертки), Tineidae (Настоящие моли), Gelechiidae (Выемчатокрылые моли) или микропрепарат гениталий самок отряда Lepidoptera (Чешуекрылые) и имаго отряда Coleoptera (Жесткокрылые)

В целях минимизации риска порчи объектов исследования и их диагностических признаков при приготовлении микропрепаратов необходимо соблюдение следующих условий:

- все операции контролируют под стереомикроскопом;
- все операции проводят в одном сосуде или на предметном стекле с лункой, удаляя использованные растворы пипеткой Пастера, а остатки жидкости — фильтровальной бумагой; новые растворы добавляют с помощью пипетки Пастера;
- при необходимости перерыва в приготовлении микропрепарата объект исследования хранят в 70 %-ном растворе этилового спирта в холодильной камере (не допуская замораживания).

10.3.3.2 Средства измерений, оборудование, реактивы, посуда и материалы

При приготовлении плоских микропрепаратов используют следующие средства измерений, оборудование, реактивы, посуду и материалы:

- часы лабораторные;
- столик нагревательный или плитку электрическую с закрытой спиралью или термостат твердотельный;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз с окулярмикрометром;
- шкаф вытяжной с принудительной вентиляцией;
- Histo-Clear;
- раствор перекиси водорода 3 %-ный;
- раствор гидроокиси калия или гидроокиси натрия 10 %-ный;
- раствор гидроокиси аммония (нашатырный спирт) 10 %-ный;
- раствор молочной кислоты 50 %-ный;
- раствор ректификованного этилового спирта 70 %-ный;
- раствор ректификованного этилового спирта 95 %-ный;
- воду дистиллированную;

- глицерин, ч.;
- желатин, ч.;
- жидкость Хойера, Фора — Берлезе или аналоги;
- кислоту уксусную;
- ксилол, ч. д. а.;
- краситель хлоразол черный, ч.;
- лак;
- фенол, ч.;
- фуксин кислый, ч.;
- пипетки Пастера;
- пробирки пластиковые с крышкой или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 25—50 $см^3$;
- пробирки пластиковые с крышкой типа Эппендорф или стеклянные с возможностью закрытия вместимостью 1—2 $см^3$;
- тигель фарфоровый малый или бюкс стеклянный;
- бумагу фильтровальную лабораторную;
- булавки энтомологические № 0; 00; 1; 2; 3;
- держатели (штативы) для пробирок пластиковых с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1—2 $см^3$;
- иглы препаровальные прямые или изогнутые;
- минуции тонкие длиной 10 мм;
- пинцет мягкий с заостренными концами;
- скальпель хирургический копьевидный, цельный или со съемным лезвием;
- стекла покровные размером 10 × 10; 24 × 24 мм толщиной 0,17 мм или круговые диаметром 13 или 16 мм;
- стекла предметные с лункой;
- стекла предметные размером 75 × 25 мм толщиной 1 мм;
- стекла часовые.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству, не хуже указанных.

10.3.3.3 Подготовка к приготовлению плоских микропрепаратов

а) Правила подготовки предметных и покровных стекол

Микропрепараты приготавливают на предметных стеклах. Покровные стекла используют самые тонкие. Предметные и покровные стекла должны быть предварительно очищены замачиванием в теплой воде с моющим средством на несколько часов, промыты дистиллированной водой и высушены в полувертикальном положении.

б) Правила проведения препарирования

Насекомое или клеща извлекают из раствора этилового спирта и помещают на предметное стекло с лункой или часовое стекло. Лунку пипеткой Пастера или препаровальной иглой заполняют глицерином, жидкостью Хойера, Фора — Берлезе или их аналогами. В лунку препаровальной иглой или пинцетом помещают насекомое или клеща и при необходимости отчленяют под стереомикроскопом с помощью препаровальной иглы, энтомологической булавки или копьевидного скальпеля необходимую для исследования диагностического признака часть тела (генитальный сегмент, несколько вершинных сегментов брюшка, ногу, крыло и т. п.).

в) Правила проведения мацерации

Насекомое помещают в 10 %-ный раствор гидроокиси калия (гидроокиси натрия) и оставляют в растворе при температуре от 18 °С до 25 °С в течение 12—24 ч.

При необходимости срочного исследования тело насекомого прокалывают тонкой энтомологической иглой и осторожно нагревают в 10 %-ном растворе гидроокиси калия (гидроокиси натрия) на водяной бане или нагревательном столике, не доводя до кипения, в течение 10—15 мин, до прозрачности покровов. Чтобы избежать повреждения кутикулы, нагревание объекта исследования контролируют, не допуская его перегревания.

Внутренние органы насекомого удаляют энтомологической булавкой легким надавливанием на его тело в теплом 10 %-ном растворе гидроокиси калия (гидроокиси натрия) с последующим промыванием в дистиллированной или кипяченой воде.

После мацерации образцы помещают в уксусную кислоту для нейтрализации гидроокиси калия (гидроокиси натрия) и промывают дистиллированной или кипяченой водой.

Примечание — Допускается замена промывания в уксусной кислоте дополнительным промыванием в дистиллированной воде.

Для мацерации вредных организмов семейств Thripidae (Трипсы), Aleyrodidae (Белокрылки) и Diaspididae (Щитовки) допускается использование молочной кислоты вместо 10 %-ного раствора гидроокиси калия (гидроокиси натрия).

г) Правила проведения отбеливания

Темноокрашенных насекомых помещают в свежеприготовленную смесь 10 %-ного раствора гидроокиси аммония и 3 %-ного раствора перекиси водорода в соотношении 1:6. Отбеливание непрерывно контролируют под стереомикроскопом, при необходимости добавляют несколько капель 50 %-ного раствора молочной кислоты (см. Б.11, приложение Б) для того, чтобы его прекратить. После отбеливания насекомое промывают дистиллированной водой.

д) Правила удаления воскового слоя

Для удаления воскового слоя взрослых самок семейств Diaspididae (Щитовки), Pseudococcidae (Мучнистые червецы) и восковых ложнощитовок рода *Ceroplastes* помещают в смесь фенола и ксилола в соотношении 1:1 или фенола и Histo-Clear (см. Б.12, приложение Б) в соотношении 1:1, в фарфоровом тигле или ином подходящем сосуде. Сосуды нагревают на нагревательном столике, не доводя до кипения, в течение 3—5 мин.

Примечание — Допускается поместить объект исследования в сосуд с абсолютным спиртом (см. Б.13, приложение Б) на 1 мин без нагревания.

После удаления воскового слоя насекомых промывают дистиллированной водой.

е) Правила проведения окрашивания

Для окрашивания насекомых семейств Aleyrodidae (Белокрылки), Diaspididae (Щитовки), Pseudococcidae (Мучнистые червецы) и восковых ложнощитовок рода *Ceroplastes* применяют кислый фуксин (см. Б.14, приложение Б).

Для окрашивания мелких гусениц семейств Gelechiidae (Выемчатокрылые моли), Tineidae (Настоящие моли) и Tortricidae (Листовертки) применяют хлоразол черный.

Для уменьшения интенсивности окрашивания объекты исследования на 5—10 мин помещают в 95 %-ный раствор этилового спирта (см. Б.2, приложение Б). Процесс окрашивания контролируют под стереомикроскопом.

Примечание — В случае использования при исследовании микроскопа с фазово-контрастным устройством, допускается исключение этапа окрашивания.

10.3.3.4 Приготовление плоских микропрепаратов

Для приготовления тотального микропрепарата объект исследования переносят в каплю жидкости Хойера, Фора — Берлезе или их аналогов в центре предметного стекла. Перед тем, как накрыть покровным стеклом, под стереомикроскопом необходимо расправить тело насекомого (клеща) и отдельные его части так, чтобы диагностические признаки были хорошо различимы.

Каплю с объектом исследования оставляют до 30 мин до слабого загустения. На внутреннюю сторону покровного стекла добавляют каплю свежей жидкости Хойера, Фора — Берлезе или их аналогов, ставят его ребром на предметное стекло и осторожно опускают на объект исследования. Такой способ позволяет полностью заполнить жидкостью пространство под покровным стеклом, удалив пузырьки воздуха, и расположить объект исследования в центре покровного стекла.

Для приготовления микропрепарата гениталий насекомых в смеси глицерина и желатина фрагмент застывшей смеси помещают на предметное стекло с лункой и подогревают на нагревательном столике до расплавления. В каплю помещают гениталии, осторожно расправляют, накрывают покровным стеклом и снова подогревают, чтобы жидкость заполнила все пространство под покровным стеклом.

Микропрепараты могут быть исследованы под микроскопом через 2—3 ч после приготовления, полного высыхания при этом еще не происходит.

Готовые микропрепараты в горизонтальном положении сушат в сушильном шкафу либо на нагревательном столике при температуре 40 °С в течение 24—48 ч. Края покровного стекла очищают от излишков жидкости и дважды покрывают лаком* для защиты микропрепарата от высыхания.

Микропрепараты маркируют в соответствии с 5.3.4 и направляют для идентификации морфологическим методом.

11 Правила подготовки вредных организмов к идентификации молекулярно-генетическими методами

11.1 Общие положения

11.1.1 Выделение ДНК из насекомых или клещей проводят методом обработки протеиназой К с последующим удалением белков без экстракции органическими растворителями, с помощью набора реагентов для выделения ДНК.

11.1.2 Живых насекомых и клещей предварительно лишают жизнеспособности путем помещения в 70 %-ный раствор этилового спирта.

Примечания

1 Допускается использование раствора этилового спирта концентрацией от 90 % до 95 % (см. Б.2, приложение Б), но при этом вредный организм будет непригоден для идентификации морфологическим методом.

2 Не допускается лишение жизнеспособности живого насекомого или клеща с помощью хлороформа, этилацетата и растворов формальдегида, включая формалин, из-за их негативного воздействия на результаты молекулярно-генетических анализов.

11.1.3 Высушенных насекомых (в том числе отобранных с поверхности клеевых ловушек в соответствии с 7.2.4) и клещей необходимо тщательно просмотреть под стереомикроскопом с падающим светом и убедиться в отсутствии мицелия грибов.

В случае если высушенные насекомые или клещи загрязнены субстратом или иными веществами, проводят их очистку с помощью кисточки, смоченной в 95 %-ном растворе этилового спирта.

11.1.4 Замороженные насекомые и клещи не нуждаются в дополнительной обработке.

Примечание — Не допускается хранение насекомых и клещей под воздействием прямых солнечных лучей или под включенным прибором с ультрафиолетовым излучением из-за их негативного воздействия на результаты молекулярно-генетических анализов.

11.1.5 От имаго насекомого отбирают ногу целиком (при наличии) или ее фрагмент (предпочтительнее бедро или голень), или голову (или ее фрагмент) с удаленными ротовыми частями.

Примечание — В случае выделения ДНК из насекомых, отобранных с поверхности клеевых ловушек в соответствии с 7.2.4, рекомендуется отбирать часть ноги с минимальным содержанием энтомологического клея.

От сильно поврежденных имаго насекомых отбирают фрагмент груди с мышцами или брюшка с тканями, по возможности не затрагивая кишечник.

От личинок насекомых отбирают фрагмент груди с мышечными тканями, не затрагивая кишечник.

От куколок насекомых отбирают фрагмент внутренних тканей без склеротизированных покровов.

11.2 Средства измерений, оборудование, реактивы, посуда и материалы

11.2.1 При подготовке вредных организмов к выделению ДНК используют следующие средства измерений, оборудование, реактивы, посуду и материалы:

- дозаторы одноканальные варьируемого объема (20—200 мм^3) в комплекте со сменными одноразовыми наконечниками с фильтром или без фильтра;
- гомогенизатор (пестик) тефлоновый;
- микроскоп стереоскопический (стереомикроскоп) с увеличением не менее чем в 50 раз с падающим светом;
- рециркулятор;
- раствор ректификованного этилового спирта 70 %-ный;
- пробирки конические микроцентрифужные с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1,5 см^3;

* Возможно использование бесцветного лака для ногтей, лака для изделий из дерева и др.

- пробирки энтомологические стеклянные;
- чашки Петри пластиковые или стеклянные;
- держатели (штативы) для пробирок конических микроцентрифужных с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1,5 $см^3$;
- булавки энтомологические;
- иглы препаровальные;
- кисточку акварельную № 1;
- пинцет с прямыми острыми концами, длиной не более 150 мм.

11.2.2 При выделении ДНК из вредных организмов используют следующие средства измерений, оборудование, реактивы, посуду и материалы:

- дозаторы одноканальные варьируемого объема (1—10; 20—200; 100—1000 $мм^3$) в комплекте со сменными одноразовыми наконечниками с фильтром или без фильтра;
- встряхиватель (шейкер) лабораторный для пробирок конических микроцентрифужные с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1,5 $см^3$;
- камеру морозильную, способную поддерживать температуру до минус 10 °С;
- камеру холодильную диапазоном температур от 2 °С до 8 °С;
- микроспектрофотометр;
- микроцентрифугу лабораторную для пробирок конических микроцентрифужные с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1,5 $см^3$, со скоростью вращения не менее 13 000 об./мин;
- ПЦР-бокс;
- рециркулятор;
- термостат твердотельный для пробирок конических микроцентрифужных с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1,5 $см^3$ диапазоном температур от 18 °С до 99 °С;
- набор реагентов для выделения ДНК;
- протеиназу К;
- раствор дезинфицирующий, вызывающий деградацию ДНК (например, хлорсодержащий);
- пробирки конические микроцентрифужные с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1,5 $см^3$;
- держатели (штативы) для пробирок конических микроцентрифужных с крышкой типа Эппендорф вместимостью 1,5 $см^3$.

11.2.3 Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству не хуже указанных.

11.3 Подготовка вредных организмов к выделению ДНК

11.3.1 Насекомое помещают с помощью пинцета в чашку Петри и разрушают его с помощью энтомологических булавок или препаровальных игл, затем необходимую часть (см. 11.1.5) переносят с помощью пинцета в пробирку вместимостью 1,5 $см^3$, пробирку закрывают и маркируют в соответствии с 5.3.4.

Фрагмент насекомого (см. 11.1.5) переносят с помощью пинцета в пробирку вместимостью 1,5 $см^3$, пробирку закрывают и маркируют в соответствии с 5.3.4.

Клеща переносят с помощью энтомологических булавок или дозатора в пробирку вместимостью 1,5 $см^3$, пробирку закрывают и маркируют в соответствии с 5.3.4.

11.3.2 Насекомых, их фрагменты или клещей растирают в пробирке с помощью гомогенизатора (пестика).

Клещей также можно разместить в капле 70 %-ного раствора этилового спирта на стенке пробирки и растереть с помощью энтомологической булавки.

11.4 Выделение ДНК из вредных организмов

11.4.1 В пробирку с насекомым, его фрагментом или клещом добавляют 20 $мм^3$ буферного раствора из набора реагентов для выделения ДНК в соответствии с инструкцией изготовителя.

В случае необходимости выделения ДНК из насекомых и клещей без их разрушения (например, для последующей идентификации морфологическим методом или для хранения в справочной коллекции) к необходимому фрагменту насекомого или клещу добавляют 300 $мм^3$ буферного раствора из набора реагентов для выделения ДНК в соответствии с инструкцией изготовителя с добавлением 1 $мм^3$ меркаптоэтанола и 10 $мм^3$ раствора протеиназы К.

11.4.2 Пробирку плотно закрывают и помещают в твердотельный термостат на 24 ч при температуре 56 °С, затем выделение ДНК проводят в соответствии с инструкцией изготовителя набора реагентов.

11.4.3 После выделения ДНК проводят измерение ее концентрации с помощью микроспектрофотометра.

Примечание — Рекомендуемая концентрация ДНК для последующего проведения ПЦР должна находиться в пределах от 0,1 до 130,0 нг/мм^3, при необходимости ДНК может быть разведена до рекомендуемой концентрации.

11.4.4 Выделенную ДНК хранят в морозильной камере при температуре не более минус 10 °С.

Приложение А
(справочное)

Последовательность применения методов выделения вредных организмов из образцов подкарантинной продукции

Последовательность применения методов выделения вредных организмов из образцов подкарантинной продукции в зависимости от ее вида, а также вредные организмы, которые могут быть выделены из образцов подкарантинной продукции в зависимости от их таксономической принадлежности, стадии жизненного цикла, вида подкарантинной продукции и метода выделения, приведены в таблицах А.1—А.8.

Примечание — Перечни семейств (надсемейств, подсемейств) вредных организмов в таблицах А.1 — А.8 приведены в справочных целях и не являются исчерпывающими.

Таблица А.1

Вид подкарантинной продукции	Метод выделения для обнаружения явной зараженности			Метод выделения для обнаружения скрытой зараженности				
	Метод просеивания	Визуальный метод	Метод фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена)	Метод окрашивания «пробочек»	Микролюминесцентный метод	Флотационный метод	Метод рентгенографии	Метод кондиционирования (хранения)[1)]
Зерно, крупа и семена	Bostrichidae (имаго, личинки), Bruchinae (имаго), Curculionidae (имаго), Dermestidae (имаго, личинки)		Bostrichidae (имаго, личинки), Curculionidae (имаго), Dermestidae (имаго, личинки)	Curculionidae (личинки)		Bruchinae (личинки, куколки), Curculionidae (личинки, куколки)		Bostrichidae, Bruchinae, Curculionidae, Dermestidae
Мука, отруби	Bostrichidae (имаго, личинки)			—	—	—	—	Bostrichidae, Dermestidae
Жмых, шрот, комбикорм и т.д.	Bostrichidae (имаго, личинки), Dermestidae (имаго, личинки)			—	—	—	—	Bostrichidae, Dermestidae
Фрукты, овощи, грибы, сушеные	Bostrichidae (имаго, личинки), Dermestidae (имаго, личинки)			—	—	—	—	Bostrichidae, Dermestidae
Орехи, ядра орехов, косточки абрикосов, персиков, слив и их ядра, зерна кофе, какао-бобы	Bostrichidae (имаго, личинки), Dermestidae (имаго, личинки)			—	—	—	—	Bostrichidae, Dermestidae

[1)] Данный метод применяют для выделения вредных организмов на стадиях яйца и личинки первого возраста.

Таблица А.2

Вид вредного организма		Метод выделения								Вид подкарантинной продукции
Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства, подсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Метод просеивания	Визуальный метод	Метод фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена)	Метод окрашивания «пробочек»	Микролюминесцентный метод	Флотационный метод	Метод рентгенографии	Метод кондиционирования (хранения)	
Отряд Sarcoptiformes (Саркоптиформные клещи)										
Acaroidea (Акароидные клещи)	Яйцо	–	–	–	–	–	–	–	+	Зерно, мука, отруби и семена
	Личинка, нимфа	+[1)]	+[1)]	+[1)]	–	–	–	–	+	
	Имаго	+	+	+	–	–	–	–	–	
Отряд Coleoptera (Жесткокрылые)										
Bostrichidae (Капюшонники) Dermestidae (Кожееды)	Яйцо	–	–	–	–	–	–	–	+	Зерно, семена; сушеные фрукты, овощи, грибы
	Личинка	+	+	+	–	–	–	–	–	
	Куколка	+[1)]	+[1)]	–	–	–	–	–	–	
	Имаго	+[1)]	+[1)]	+	–	–	–	–	–	
Bruchinae (Зерновки)	Яйцо	–	+	–	–	–	–	–	–	Зерно и семена бобовых культур
	Личинка	–	–	–	–	–	+[1)]	+[1)]	+	
	Куколка	–	–	–	–	–	+[1)]	+[1)]	+	
	Имаго	+	+	–	–	–	–	–	–	
Curculionidae (Долгоносики)	Яйцо	–	–	–	+	+	–	–	+	Зерно и семена зерновых культур
	Личинка	–	–	–	+	+	+[1)]	+[1)]	+	
	Куколка	–	–	–	+	+	+[1)]	+[1)]	+	
	Имаго	+	+	+	–	–	+	+	–	
Отряд Lepidoptera (Чешуекрылые)										
Gelechiidae (Выемчатокрылые моли)	Гусеница	–	–	–	–	–	–	+[1)]	–	Семена хлопчатника
	Куколка	–	–	–	–	–	–	+[1)]	–	

Окончание таблицы А.2

[1] Идентификация возможна молекулярно-генетическими методами.

Примечание — В настоящей таблице использованы следующие обозначения:

«+» — метод применим;

«–» — метод не применим.

Таблица А.3

Вид подкарантинной продукции	Метод выделения для обнаружения явной зараженности			Метод выделения для обнаружения скрытой зараженности
	Метод стряхивания	Визуальный метод	Метод фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена)	Метод разрезания
Срезанные цветы, срезанные ветви, декоративная зелень, вегетативные части растений, за исключением цветов сложной формы и бутонов	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Thripidae (имаго, личинки), Pseudococcidae (имаго, личинки), Pentatomidae (имаго, личинки, нимфы), Tingidae (имаго, личинки, нимфы), Chrysomelidae (имаго), Noctuidae (гусеницы), Tortricidae (гусеницы), Agromyzidae (имаго)	Eriophyoidea (имаго, личинки), Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Aleyrodidae (личинки, псевдопупарии), Coccidae (имаго самок, личинки), Diaspididae (имаго самок, личинки), Pseudococcidae (имаго, личинки), Agromyzidae (личинки, пупарии)	Thripidae (имаго, личинки), Pseudococcidae (личинки), Pentatomidae (личинки, нимфы), Tingidae (личинки, нимфы), Noctuidae (гусеницы), Tortricidae (гусеницы), Agromyzidae (имаго)	Curculionidae (личинки), Carposinidae (гусеницы)
Цветы сложной формы и бутоны	—	—	—	Thripidae (имаго, личинки)
Рождественские деревья	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Tortricidae (гусеницы)	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Coreidae (личинки, нимфы, имаго)	—	Tortricidae (гусеницы)
Саженцы с открытой корневой системой				
Хвойные	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Tortricidae (гусеницы)	Buprestidae (имаго), Cerambycidae (имаго), Curculionidae (имаго)	—	Buprestidae (личинки, куколки), Cerambycidae (личинки, куколки), Curculionidae (личинки, куколки)

Продолжение таблицы А.3

Вид подкарантинной продукции	Метод выделения для обнаружения явной зараженности			Метод выделения для обнаружения скрытой зараженности
	Метод стряхивания	Визуальный метод	Метод фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена)	Метод разрезания
Лиственные	—	Coccidae (личинки), Diaspididae (имаго самок, личинки), Pseudococcidae (имаго, личинки), Tephritidae (личинки, пупарии)	—	Phylloxeridae, Buprestidae (личинки, куколки), Cerambycidae (личинки, куколки), Carposinidae (гусеницы)
Саженцы с закрытой корневой системой и бонсаи[1)]				
Хвойные	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Coreidae (имаго, личинки, нимфы)	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Coreidae (имаго, личинки, нимфы)	—	Buprestidae (личинки, куколки), Cerambycidae (личинки, куколки), Curculionidae (личинки, куколки), Carposinidae (гусеницы)
Лиственные	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Tingidae (имаго, личинки, нимфы), Noctuidae (гусеницы)	Eriophyoidea (имаго), Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Aleyrodidae (псевдопупарии), Margarodidae (цисты), Buprestidae (имаго), Cerambycidae (имаго, личинки, куколки), Elateridae (личинки, куколки), Noctuidae (гусеницы)	—	Phylloxeridae Buprestidae (личинки, куколки), Cerambycidae (личинки, куколки), Carposinidae (гусеницы)
Горшечные растения[2)]	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Thripidae (имаго, личинки), Pseudococcidae (имаго, личинки), Noctuidae (гусеницы), Tineidae (гусеницы), Agromyzidae (имаго)	Eriophyoidea (имаго, личинки), Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Aleyrodidae (псевдопупарии), Coccidae (имаго самок), Diaspididae (имаго самок, личинки), Gelechiidae (гусеницы), Agromyzidae (личинки)	—	Eriophyoidea (имаго, личинки), Curculionidae (личинки, куколки)

Окончание таблицы А.3

Вид подкарантинной продукции	Метод выделения для обнаружения явной зараженности			Метод выделения для обнаружения скрытой зараженности
	Метод стряхивания	Визуальный метод	Метод фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена)	Метод разрезания
Рассада[2)]	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Thripidae (имаго, личинки), Pseudococcidae (имаго, личинки), Noctuidae (гусеницы), Tineidae (гусеницы), Agromyzidae (имаго)	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Curculionidae (личинки, куколки), Scarabaeidae (личинки), Gelechiidae (гусеницы), Agromyzidae(личинки)	—	—
Клубни картофеля и другие корнеплоды	—	Chrysomelidae (личинки, имаго), Gelechiidae (гусеницы, куколки)	—	Curculionidae (личинки, куколки), Elateridae (личинки)
Луковицы, корневища и другие подземные части растений	—	Thripidae (имаго, личинки), Curculionidae (личинки, куколки), Elateridae (личинки, куколка), Scarabaeidae (личинки), Noctuidae (гусеницы)	—	Curculionidae (личинки), Elateridae (личинки)
Газоны в рулонах	—	Curculionidae (личинки, куколки), Elateridae (личинки, куколки), Scarabaeidae (личинки), Noctuidae (гусеницы)	Elateridae (личинки), Scarabaeidae (личинки), Noctuidae (гусеницы)	—

[1)] Выделение методом стряхивания не проводят для саженцев без листьев.

[2)] Выделение методом стряхивания не проводят для рассады и горшечных растений в кассетах.

Таблица А.4

Вид вредного организма		Метод выделения				Доращивание	Вид подкарантинной продукции
Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Метод стряхивания	Визуальный метод	Метод фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена)	Метод разрезания		
Отряд Trombidiformes (Тромбидиформные клещи)							
Eriophyoidea (Четырехногие клещи)	Личинка, нимфа	–	(+)	+	+[1)]	+	Срезанные цветы, горшечные растения
	Имаго	–	(+)	+	+	–	
Tetranychoidea (Паутинные клещи)	Яйцо	–	+[1)]	–	–	+	Срезанные цветы, срезанные ветви, рассада и горшечные растения, рождественские деревья, саженцы
	Личинка, нимфа	+	+[1)]	+	–	+	
	Имаго	+	+	+	–	–	
Отряд Thysanoptera (Трипсы)							
Thripidae (Трипсы)	Личинка (нимфа)	+[1)]	+[1)]	+	++	+	Срезанные цветы, срезанные ветви лиственных культур, рассада и горшечные растения, саженцы лиственных культур с закрытой корневой системой
	Имаго	+	–	+	++	–	
Отряд Homoptera (Равнокрылые)							
Aleyrodidae (Белокрылки)	Личинка	–	+[1)]	–	–	+	Срезанные цветы, срезанные ветви, рассада и горшечные растения, саженцы с закрытой корневой системой
	Псевдопупарий	–	+	–	–	–	
Coccidae (Ложнощитовки)	Личинка	–	+[1)]	–	–	–	Горшечные растения, саженцы с закрытой корневой системой
	Имаго самок	–	+	–	–	–	
Diaspididae (Щитовки)	Личинка	–	+[1)]	–	–	–	Горшечные растения, черенки, саженцы
	Имаго самок	–	+	–	–	–	
Margarodidae (Цистообразующие червецы)	Цисты	–	+[1)]	–	–	–	Саженцы винограда
	Имаго самок	–	+	–	–	–	

Продолжение таблицы А.4

Вид вредного организма		Метод выделения				Доращивание	Вид подкарантинной продукции
Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Метод стряхивания	Визуальный метод	Метод фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена)	Метод разрезания		
Pseudococcidae (Мучнистые червецы)	Яйцо	–	+[1)]	–	–	–	Срезанные цветы, срезанные ветви, черенки, рассада и горшечные растения, саженцы с закрытой корневой системой
	Личинка	+[1)]	+[1)]	+	–	+	
	Имаго самок	+	+	+	–	–	
Phylloxeridae (Филлоксеры)	Личинка (нимфа)	–	(+)	–	+[1)]	–	Саженцы винограда
	Имаго самок	–	(+)	–	+	–	
Отряд Hemiptera (Полужесткокрылые)							
Coreidae (Краевики)	Личинка, нимфа	–	+	–	–	–	Срезанные ветви хвойных культур, рождественские деревья
	Имаго	–	+	–	–	–	
Pentatomidae (Настоящие щитники)	Личинка	+	–	+	–	–	Саженцы лиственных культур
	Имаго	+	–	+	–	–	
Tingidae (Кружевницы)	Личинка	+[1)]	–	+	–	+	Срезанные цветы, срезанные ветви, саженцы с закрытой корневой системой
	Имаго	+	–	+	–	–	
Отряд Hymenoptera (Перепончатокрылые)							
Cynipidae (Орехотворки)	Личинка, куколка	–	(+)	–	+[1)]	–	Саженцы рода *Castanea* (Каштан)
Отряд Coleoptera (Жесткокрылые)							
Buprestidae (Златки)	Личинка	–	(+)	–	+	–	Саженцы-крупномеры, бонсаи
	Куколка	–	(+)	–	+[1)]	–	
Cerambycidae (Усачи)	Личинка	–	(+)	–	+	–	Саженцы-крупномеры, бонсаи
	Куколка	–	(+)	–	+[1)]	–	
Chrysomelidae (Листоеды)	Личинка	–	+	–	–	–	Клубни картофеля, корнеплоды
	Имаго	–	+	–	–	–	

Продолжение таблицы А.4

Вид вредного организма		Метод выделения				Доращивание	Вид подкарантинной продукции
Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Метод стряхивания	Визуальный метод	Метод фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена)	Метод разрезания		
Curculionidae (Долгоносики), за исключением Scolytinae (Короеды)	Личинка	–	(+)	–	+[1)]	–	Газоны в рулонах, рассада, саженцы хвойных и лиственных культур, клубни картофеля
	Куколка	–	(+)	–	+[1)]	–	
	Имаго	+	+	–	+	–	
Elateridae (Щелкуны)	Личинка	–	+	+	+	–	Клубни картофеля, корнеплоды, подземные части растений, газоны в рулонах
	Куколка	–	(+)	+	+[1)]	–	
	Имаго	+	+	+	–	–	
Scarabaeidae (Пластинчатоусые)	Личинка	–	+	+	+	–	Срезанные цветы, рассада, подземные части растений, газоны в рулонах
	Куколка	–	+	–	+	–	
	Имаго	–	–	+	–	–	
Scolytinae (Короеды)	Личинка, куколка	–	(+)	–	+[1)]	–	Саженцы-крупномеры, бонсаи, срезанные ветви, рождественские деревья
Отряд Lepidoptera (Чешуекрылые)							
Carposinidae (Садовые моли)	Гусеница	–	(+)	–	+[1)]	–	Срезанные ветви, фрукты, саженцы лиственных культур
Gelechiidae (Выемчатокрылые моли)	Гусеница	–	(+)	–	+	+	Клубни картофеля, саженцы и рассада семейства Solanaceae (Пасленовые)
	Куколка	–	(+)	–	+	+	
Lasiocampidae (Коконопряды)	Яйцо, гусеница	–	+	–	–	+[1)]	Саженцы лиственных культур
Noctuidae (Совки)	Гусеница	+	+	+	+	+	Саженцы лиственных культур
	Куколка	–	+	–	+	+	
Pyralidae (Настоящие огневки)	Гусеница	–	(+)	–	+[1)]	–	Саженцы груши
	Куколка в коконе	–	(+)	–	+	–	

Окончание таблицы А.4

Вид вредного организма		Метод выделения				Доращивание	Вид подкарантинной продукции
Научное и общепринятое наименование семейства (надсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Метод стряхивания	Визуальный метод	Метод фототермоэклекции (Берлезе — Тульгрена)	Метод разрезания		
Tineidae (Настоящие моли)	Гусеница, куколка	–	(+)	–	+[1)]	+	Горшечные растения, рассада
Tortricidae (Листовертки)	Гусеница, куколка	–	(+)	–	+[1)]	+	Срезанные ветви, рождественские деревья, саженцы хвойных и лиственных культур
Отряд Diptera (Двукрылые)							
Agromyzidae (Минирующие мухи)	Личинка	–	(+)	–	+[1)]	+	Срезанные цветы, срезанные ветви, рассада и горшечные растения, саженцы (кроме хвойных культур)
	Пупарий	–	(+)	–	+[1)]	+	
	Имаго	+	–	+	–	–	
Tephritidae (Пестрокрылки)	Пупарий	–	+[1)]	–	–	–	Саженцы плодовых культур

[1)] Идентификация возможна молекулярно-генетическими методами.

Примечание — В настоящей таблице использованы следующие обозначения:

«+» — метод применим;

«++» — метод применим для цветов сложной формы и бутонов;

«(+)» — метод применим, могут быть обнаружены признаки скрытой зараженности;

«–» — метод не применим.

Таблица А.5

Вид подкарантинной продукции	Метод выделения для обнаружения явной зараженности		Метод выделения для обнаружения скрытой зараженности	
	Метод стряхивания	Визуальный метод	Метод разрезания	Флотационный метод
Фрукты	—	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы, яйца), Thripidae (имаго, личинки)	Carposinidae (гусеницы), Tortricidae (гусеницы), Tephritidae (личинки)	Tephritidae (личинки), Drosophilidae (личинки)
Виноград	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Pseudococcidae (имаго, личинки), Thripidae (имаго, личинки)	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Pseudococcidae (имаго, личинки), Thripidae (имаго, личинки)	Tephritidae (личинки), Drosophilidae (личинки)	—
Овощи, за исключением зеленных	—	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы, яйца), Thripidae (имаго, личинки), Gelechiidae (гусеницы, куколки)	Chrysomelidae (личинки), Curculionidae (личинки), Elateridae (личинки)	—
Зеленные овощи (салаты, листовая капуста, листья лука репчатого и лука-порея и т. п.)	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы), Thripidae (имаго, личинки), Agromyzidae (имаго)	Aleyrodidae (псевдопупарии), Noctuidae (гусеницы), Agromyzidae (личинки)	—	—
Клубни картофеля, корнеплоды	—	Chrysomelidae (личинки), Gelechiidae (гусеницы, куколки)	Curculionidae (личинки), Elateridae (личинки)	—
Луковицы и корневища	—	Thripidae (имаго, личинки)	Elateridae (личинки)	—
Грибы	—	Phoridae (имаго)	Phoridae (имаго)	Phoridae (личинки)
Плоды ягодных и бахчевых культур	—	Tetranychoidea (имаго, личинки, нимфы, яйца), Thripidae (имаго, личинки, куколки)	—	Tephritidae (личинки), Drosophilidae (личинки), Phoridae (личинки)

Таблица А.6

Вид вредного организма		Метод выделения				Доращивание	Вид подкарантинной продукции
Научное и общепринятое наименование семейства вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Метод стряхивания	Визуальный метод	Метод разрезания	Флотационный метод		
Отряд Trombidiformes (Тромбидиформные клещи)							
Tetranychoidea (Паутинные клещи)	Яйцо	–	+	–	–	+	Овощи (включая зеленные), фрукты, плоды ягодных и бахчевых культур и др.
	Личинка, нимфа	+	+	–	–	+	
	Имаго	+	+	–	–	–	
Отряд Thysanoptera (Трипсы)							
Thripidae (Трипсы)	Личинка (нимфа)	+	+[1)]	–	–	+	Овощи (включая зеленные), фрукты, плоды ягодных и бахчевых культур
	Имаго	+	+	–	–	–	
Отряд Homoptera (Равнокрылые)							
Aleyrodidae (Белокрылки)	Личинка	–	+[1)]	–	–	+	Овощи (включая зеленные), фрукты
	Псевдопупарий	–	+	–	–	–	
Coccidae (Ложнощитовки)	Личинка	–	+[1)]	–	–	–	Фрукты
	Имаго (самка)	–	+	–	–	–	
Diaspididae (Щитовки)	Личинка	–	+[1)]	–	–	–	Фрукты
	Имаго (самка)	–	+	–	–	–	
Pseudococcidae (Мучнистые червецы)	Яйцо	–	+[1)]	–	–	–	Фрукты
	Личинка	+	+[1)]	–	–	–	
	Имаго (самка)	+	+	–	–	–	
Отряд Coleoptera (Жесткокрылые)							
Chrysomelidae (Листоеды)	Личинка, куколка	–	–	+[1)]	–	–	Клубни картофеля
Curculionidae (Долгоносики)	Личинка	–	–	+[1)]	–	–	Клубни картофеля, корнеплоды, луковицы, корневища
	Куколка	–	–	+[1)]	–	–	

Продолжение таблицы А.6

Вид вредного организма		Метод выделения				Доращивание	Вид подкарантинной продукции
Научное и общепринятое наименование семейства вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Метод стряхивания	Визуальный метод	Метод разрезания	Флотационный метод		
Elateridae (Щелкуны)	Личинка, куколка	–	–	+[1)]	–	–	Клубни картофеля, корнеплоды, луковицы, корневища
Отряд Lepidoptera (Чешуекрылые)							
Carposinidae (Садовые моли)	Гусеница	–	+	+	–	+	Фрукты
Gelechiidae (Выемчато-крылые моли)	Гусеница	–	+	–	–	+	Клубни картофеля, плоды томата
	Куколка	–	+	–	–	+	
Noctuidae (Совки)	Гусеница	+	+	+	–	+	Овощи, фрукты
	Куколка	–	+	+	–	+	
Pyralidae (Настоящие огневки)	Гусеница	–	+	+	–	+	Груша
	Куколка	–	+	+	–	+	
Tortricidae (Листовертки)	Гусеница	–	+	+	–	+	Фрукты
	Куколка	–	+	+	–	+	
Отряд Diptera (Двукрылые)							
Agromyzidae (Минирующие мухи)	Личинка	–	+	+[1)]	–	+	Зеленные овощи
	Пупарий	–	+	+[1)]	–	+	
	Имаго	+	–	–	–	–	
Drosophilidae (Плодовые мушки)	Личинка	–	+	+[1)]	+[1)]	+	Фрукты, овощи, плоды ягодных и бахчевых культур
	Пупарий	–	+	+[1)]	+[1)]	+	
Phoridae (Горбатки)	Личинка	–	–	+[1)]	–	+	Овощи, фрукты, плоды ягодных культур, грибы
	Пупарий	–	–	+[1)]	–	+	
	Имаго	–	+	–	–	–	
Tephritidae (Пестрокрылки)	Личинка	–	(+)	+[1)]	+[1)]	–	Фрукты, овощи, плоды ягодных и бахчевых культур

Окончание таблицы А.6

[1] Идентификация возможна молекулярно-генетическими методами.

Примечание — В настоящей таблице использованы следующие обозначения:

«+» — метод применим;

«(+)» — метод применим, могут быть обнаружены признаки скрытой зараженности;

«–» — метод не применим.

Таблица А.7

Вид подкарантинной продукции	Метод выделения для обнаружения явной зараженности		Метод выделения для обнаружения скрытой зараженности
	Визуальный метод	Метод просеивания	Метод расщепления
Круглая древесина, пиломатериалы, древесные упаковочные и крепежные материалы, продукты переработки древесины (изолированная кора, щепа)	Buprestidae (имаго, личинки, куколки), Cerambycidae (имаго, личинки, куколки), Scolytinae (имаго, личинки, куколки)	—	Buprestidae (имаго, личинки, куколки), Cerambycidae (имаго, личинки, куколки), Scolytinae (имаго, личинки, куколки)
Продукты переработки древесины (опилки, мелкая стружка)	—	Buprestidae (имаго), Cerambycidae (имаго), Scolytinae (имаго)	—

Таблица А.8

Вид вредного организма		Метод выделения			Вид подкарантинной продукции
Научное и общепринятое наименование семейства (подсемейства) вредного организма	Стадия жизненного цикла вредного организма	Визуальный метод	Метод просеивания	Метод расщепления	
Buprestidae (Златки)	Личинка	+	–	+	Круглая древесина, пиломатериалы, древесные упаковочные и крепежные материалы, продукты переработки древесины (изолированная кора, щепа)
	Куколка	+[1)]	–	+	
	Имаго	+	–	+	
Cerambycidae (Усачи)	Личинка	+	–	+	
	Куколка	+	–	+	
	Имаго	+	–	+	
Scolytinae (Короеды)	Личинка	+[1)]	–	+	
	Куколка	+[1)]	–	+	
	Имаго	+	–	+	
Buprestidae (Златки) Cerambycidae (Усачи) Scolytinae (Короеды)	Имаго	–	+	–	Продукты переработки древесины (опилки, мелкая стружка)

[1)] Идентификация возможна молекулярно-генетическими методами.

Примечание — В настоящей таблице использованы следующие обозначения:

«+» — метод применим;

«–» — метод не применим.

Приложение Б
(обязательное)

Правила приготовления растворов для выделения, доращивания и подготовки вредных организмов к идентификации морфологическим методом

Б.1 Средства измерений, оборудование, реактивы, посуда и материалы

При приготовлении растворов для выделения, доращивания и подготовки вредных организмов к идентификации морфологическим методом используют следующие средства измерений, оборудование, реактивы, посуду и материалы:

- весы высокого класса точности с пределом допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более ± 0,01 г;
- горелку спиртовую или столик нагревательный, или термостат твердотельный;
- шкаф вытяжной с принудительной вентиляцией;
- воду дистиллированную;
- глицерин, ч.;
- гуммиарабик сухой, ч.;
- желатин, ч.;
- калий марганцовокислый, ч.;
- калия гидроокись или натрия гидроокись, ч. д. а.;
- ксилол, ч. д. а. или Histo-Clear;
- купорос медный, х. ч.;
- натрия нитрат, ч.;
- натрия хлорид, ч.;
- спирт этиловый ректификованный;
- фенол, ч.;
- фуксин кислый, ч.;
- хлоралгидрат, ч.;
- банки стеклянные или пластиковые с плотными крышками вместимостью 0,25 и 0,50 $дм^3$;
- бюксы;
- воронку типа В-56;
- капельницы типа ПЭНП вместимостью 50 и 100 $см^3$;
- палочки стеклянные;
- стаканы химические стеклянные и пластиковые вместимостью от 50 до 1000 $см^3$;
- ступку фарфоровую с пестиком;
- цилиндры мерные вместимостью 50 и 100 $см^3$;
- чашу выпаривательную плоскодонную типа ЧВП-2-1000;
- бумагу индикаторную;
- сетку асбестовую;
- фильтры обеззоленные диаметром 90 мм;
- шпатели металлические и пластиковые.

Допускается применение других средств измерений и посуды с метрологическими характеристиками, оборудования и материалов с техническими характеристиками, а также реактивов по качеству не хуже указанных.

Б.2 Правила разведения этилового спирта

Для разведения этилового спирта используют дистиллированную воду с pH от 5,0 до 7,0. Уровень pH проверяют с помощью индикаторной бумаги. Если добавление воды не меняет окраску индикатора, то ее pH близок к заданному. Необходимые объемы дистиллированной воды и этилового спирта отмеряют до смешивания, добавление компонентов не рекомендуется.

Этиловый спирт и дистиллированную воду тщательно перемешивают. Разведенный спирт хранят в банках с завинчивающимися пробками с маркировкой с указанием его концентрации. Для проведения энтомологических исследований спирт разливают в капельницы, указывая на них концентрацию спирта.

Пропорции разведения спирта различной концентрации при температуре 20 °С (по Фертману) приведены в таблице Б.1.

Таблица Б.1

Концентрация разводимого этилового спирта (1000 см^3, %)	Необходимая концентрация этилового спирта после разведения, %												
	90	85	80	75	70	65	60	55	50	45	40	35	30
95	64	133	209	295	391	501	629	779	957	1174	1443	1785	2239
90	—	65	138	218	310	414	535	677	847	1052	1306	1630	2061
85	—	—	68	144	231	329	443	578	738	932	1172	1478	1884
80	—	—	—	72	153	246	353	480	630	812	1039	1327	1709
75	—	—	—	—	76	163	264	382	523	694	906	1177	1535
70	—	—	—	—	—	81	175	285	417	577	774	1027	1360
65	—	—	—	—	—	—	88	190	311	460	644	878	1189
60	—	—	—	—	—	—	—	95	207	344	514	730	1017
55	—	—	—	—	—	—	—	—	103	229	384	583	845
50	—	—	—	—	—	—	—	—	—	114	255	436	674
45	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	127	290	505
40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	144	335
35	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	167

Примечание — Цифра в месте пересечения вертикальной и горизонтальной строк показывает объем дистиллированной воды в см^3 при температуре 20 °С, который следует добавить к 1000 см^3 этилового спирта имеющейся концентрации, для разведения до необходимой концентрации. В качестве примера для получения 60 %-ного раствора этилового спирта из имеющегося 1000 см^3 90 %-ного раствора спирта необходимо к 1000 см^3 добавить 535 см^3 дистиллированной воды.

Б.3 Правила приготовления 1 %-ного раствора марганцовокислого калия

Марганцовокислый калий в количестве 10 г растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды и перемешивают.

Б.4 Правила приготовления 30 %-ного раствора хлорида натрия

Хлорид натрия в количестве 300 г растворяют в 700 см^3 дистиллированной воды и перемешивают.

Б.5 Правила приготовления 50 %-ного раствора нитрата натрия

Нитрат натрия в количестве 500 г растворяют в 500 см^3 дистиллированной воды и перемешивают.

Б.6 Правила приготовления насыщенного раствора нитрата натрия

Нитрат натрия в количестве 689,4 г растворяют в 310,6 см^3 дистиллированной воды и перемешивают.

Б.7 Правила приготовления насыщенного раствора хлорида натрия

Хлорид натрия в количестве 40 г растворяют в 100 см^3 дистиллированной воды, перемешивают и нагревают до кипения. Используют в охлажденном виде прозрачный раствор над осадком.

Б.8 Приготовление 10 %-ного раствора калия гидроокиси или натрия гидроокиси

Гидроокись калия или гидроокись натрия в количестве 10 г растворяют в 90 см^3 охлажденной дистиллированной воды и перемешивают.

Б.9 Приготовление жидкостей Хойера и Фора — Берлезе

Б.9.1 Состав жидкости Хойера*

При приготовлении жидкости Хойера используют:

- глицерин — 20 см^3;
- гуммиарабик сухой — 50 г;

* Допускается использование модифицированных вариантов жидкости Хойера и Фора — Берлезе при условии надлежащей валидации методики их применения.

- воду дистиллированную — 50 см^3;
- хлоралгидрат — 200 г.

Б.9.2 Состав жидкости Фора — Берлезе*

- глицерин — 20 см^3;
- гуммиарабик сухой — 30 г;
- воду дистиллированную — 50 см^3;
- хлоралгидрат — 200 г.

Б.9.3 Правила приготовления жидкостей Хойера и Фора — Берлезе

В плотно закрывающийся стеклянный сосуд вместимостью 500 см^3 наливают дистиллированную воду, добавляют гуммиарабик и помещают ее в термостат (или ставят на нагревательный столик) при температуре от 40 °С до 56 °С до полного растворения гуммиарабика (не менее 1 сут).

Затем добавляют хлоралгидрат и глицерин и выдерживают при температуре от 40 °С до 56 °С до полного растворения хлоралгидрата (1 — 2 сут).

Готовую смесь хранят в темном месте и в темной посуде. Для применения небольшую порцию отливают в небольшой, плотно закрывающийся сосуд с завинчивающейся крышкой.

Примечание — Работы проводят в вытяжном шкафу.

Б.10 Приготовление смеси глицерина и желатина

Желатин в количестве 40 г помещают в 210 см^3 дистиллированной воды на 2 ч. Затем добавляют 250 г глицерина и 5 см^3 расплавленного фенола. Смесь нагревают при постоянном перемешивании в течение 10—15 мин, пока она не станет однородной.

Смесь глицерина и желатина хранят в холодильнике при температуре от 0 °С до 5 °С и перед применением подогревают.

Б.11 Приготовление 50 %-ного раствора молочной кислоты

В мерную колбу вместимостью 200 см^3 наливают 60 см^3 дистиллированной воды и 100 см^3 молочной кислоты концентрацией 80 % и перемешивают.

Б.12 Приготовление смеси фенола и ксилола или фенола и Histo-Clear

Фенол в количестве 22 г растворяют в 100 см^3 ксилола и перемешивают. Ксилол может быть заменен на Histo-Clear.

Примечание — Работы проводят в вытяжном шкафу.

Б.13 Правила приготовления абсолютного этилового спирта

Б.13.1 Правила прокаливания медного купороса

Медный купорос (крупные кристаллы перед прокаливанием размельчают в фарфоровой ступке) прокаливают в фарфоровой чашке на асбестовой сетке над спиртовой горелкой, перемешивая стеклянной палочкой, пока синие кристаллы не приобретут белый цвет. При перекаливании кристаллы приобретают серый цвет и для обезвоживания спирта не подходят.

Прокаливание медного купороса допускается проводить также на нагревательном столике или в термостате при температуре от 60 °С до 70 °С. Для этого мелкоизмельченный медный купорос рассыпают тонким слоем на листе картона в течение трех недель (при ежедневном перемешивании), а при температуре 100 °С прокаливание проводят в фарфоровой чашке и завершают за 2 сут.

Прокаленный медный купорос хранят в стеклянном сосуде с притертой пробкой.

Прокаливание проводят с соблюдением правил техники безопасности: мелко-измельченный медный купорос небольшими порциями прокаливают на малом огне через асбестовую сетку в фарфоровой чашке при постоянном помешивании фарфоровой или стеклянной лопаткой.

Примечание — Не допускается пользоваться металлическим шпателем или проводить прокаливание в металлической посуде.

Б.13.2 Приготовление абсолютного этилового спирта

Обезвоженный медный купорос насыпают на дно стеклянного сосуда слоем 0,5 см и наливают этиловый спирт так, чтобы слой спирта превышал толщину слоя медного купороса не больше чем в четыре-пять раз. Содержимое сосуда ежедневно взбалтывают в течение четырех-пяти дней, добиваясь посинения всей массы оседающего медного купороса. Обезвоживание лучше проводить последовательно в двух или трех сосудах с завин-

* Допускается использование модифицированных вариантов жидкости Хойера и Фора — Берлезе при условии надлежащей валидации методики их применения.

чивающимися или притертыми пробками. При этом в последнем сосуде медный купорос остается белым и почти безводным. Абсолютный спирт над ним может храниться в течение длительного периода времени.

Примечание — Медный купорос, бывший в употреблении, для повторного прокаливания непригоден.

Б.14 Приготовление кислого фуксина

Кислый фуксин в количестве 0,5 г растворяют в 100 $см^3$ дистиллированной воды и перемешивают.

УДК 632.7:006.354

МКС 01.040.65
65.020.20

Ключевые слова: карантин растений, образец, лабораторная проба, энтомологические исследования, подкарантинная продукция, вредный организм

Редактор *Н.В. Таланова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *С.И. Фирсова*
Компьютерная верстка *Е.А. Кондрашовой*

Сдано в набор 17.10.2022. Подписано в печать 22.10.2022. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 9,30. Уч.-изд. л. 8,37.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «РСТ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru