МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 33538— 2015

ЗАЩИТА РАСТЕНИЙ

Методы выявления и учета поврежденных зерен злаковых культур клопами-черепашками

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «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 научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» (ФГБНУ «ВИЗР»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 29 сентября 2015 г. № 80-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	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 23 октября 2015 г. № 1624-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33538—2015 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2017 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

6 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Ноябрь 2018 г.

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, оформление, 2016, 2018

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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ЗАЩИТА РАСТЕНИЙ

Методы выявления и учета поврежденных зерен злаковых культур клопами-черепашками

Plant protection. Methods of detection and count of lesions on grains of cereal cultures caused by Eurygaster bugs

Дата введения — 2017—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает методы выявления повреждений зерен озимой и яровой пшеницы, ячменя и овса (далее — зерна) клопами-черепашками рода *Eurygaster* и количественного учета поврежденных зерен озимой и яровой пшеницы.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 61—75 Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия

ГОСТ OIML R 76-1—2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 1770—74 (ИСО 1042—83, ИСО 4788—80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 2603—79 Реактивы. Ацетон. Технические условия

ГОСТ 4159—79 Реактивы. Йод. Технические условия

ГОСТ 4233—77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ ИСО 5725-6—2003* Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике

ГОСТ 5962—2013 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 6259—75 Реактивы. Глицерин. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9147—80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 13586.3—2015 Зерно. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 17299—78 Спирт этиловый технический. Технические условия

ГОСТ 21507—2013 Защита растений. Термины и определения

ГОСТ 25706—83 Лупы. Типы, основные параметры. Общие технические требования

ГОСТ 26574—85 Мука пшеничная хлебопекарная. Технические условия

ГОСТ 26678—85 Холодильники и морозильники бытовые электрические компрессионные параметрического ряда. Общие технические условия

ГОСТ 27186—86 Зерно заготовляемое и поставляемое. Термины и определения

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства

* В Российской Федерации действует ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике».

Издание официальное

по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт 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 21507 и ГОСТ 27186, а также следующий термин с соответствующим определением:

3.1.1 **клопы-черепашки:** Насекомые рода *Eurygaster* из семейства *Scutelleridae* отряда *Heteroptera*, повреждающие зерно злаковых культур, представленные следующими видами: вредная черепашка *Eurygaster integriceps* Puton, австрийская черепашка *Eurygaster austriaca* Schrank и маврская черепашка *Eurygaster maura* Linnaeus.

3.2 В настоящем стандарте применены следующие сокращения:

ИЭТ — изоэлектрическая точка;

ИЭФ — изоэлектрическое фокусирование;

ПААГ — полиакриламидный гель;

РУКГт — глютенин, растворимый в уксусной кислоте;

НРУКГт — глютенин, нерастворимый в уксусной кислоте.

4 Отбор проб

Отбор проб проводят по ГОСТ 13586.3.

5 Биохимический метод выявления зерен, поврежденных клопами-черепашками

5.1 Сущность метода

Сущность биохимического метода заключается в выявлении изоэлектрическим фокусированием специфичных для клопов-черепашек сериновых протеиназ с ИЭТ от 6,0 до 7,5 в поврежденных зернах с помощью глютениновой реплики за счет гидролиза ими глютенина.

5.2 Средства измерений, аппаратура, реактивы, материалы и посуда

Весы неавтоматического действия высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,01 г.

Источник проходящего и рассеянного света.

Камера холодильная с диапазоном температур от 2 °С до 5 °С по ГОСТ 26678.

Качалка роторная.

Мешалка магнитная.

Мешалка роторная.

Прибор для горизонтального электрофореза с терморегулируемым столиком, программируемым источником питания с электрическим напряжением 2000 В.

Термостат воздушный с диапазоном рабочих температур от 28 °С до 55 °С и погрешностью стабилизации температуры в опорной точке рабочей камеры и установившемся режиме ± 0,25 °С.

Центрифуга лабораторная со скоростью вращения не менее 10000 об/мин с адаптером для пластиковых пробирок с крышкой вместимостью 0,5 $см^3$.

Центрифуга лабораторная со скоростью вращения не менее 5000 об/мин для пробирок вместимостью 50—250 $см^3$.

Фотоаппарат цифровой с возможностью макросъемки, разрешением матрицы не менее 0,3 мегапикселей и чувствительностью ISO не менее 100.

Ацетон по ГОСТ 2603.

Буфер Трис-HCl молярной концентрации 50 ммоль/$дм^3$ с pH 8,5.

Буферы электродные:

- анодный — стандартный раствор смеси аспарагиновой кислоты молярной концентрации 20 ммоль/дм^3 и глутаминовой кислоты молярной концентрации 20 ммоль/дм^3;

- катодный — стандартный раствор смеси лизина молярной концентрации 20 ммоль/дм^3 и аргинина молярной концентрации 20 ммоль/дм^3.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Глицерин по ГОСТ 6259.

Детергент, представляющий собой 0,01 %-ный раствор неионного поверхностно-активного вещества.

Йод по ГОСТ 4159.

Кислота уксусная по ГОСТ 61.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233.

Раствор цветных белков-маркеров ИЭТ — цитохрома *с* и миоглобина лошади с ИЭТ 10,6 и 7,3 соответственно.

Спирт этиловый по ГОСТ 17299 или ГОСТ 5962.

Бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026.

Зерна исследуемой злаковой культуры, заведомо поврежденные клопом-черепашкой (контрольная проба).

Мука пшеничная высшего сорта по ГОСТ 26574 или препарат клейковины для приготовления глютениновых реплик.

Пластины 5 %-ного ПААГ с 2 %-ными амфолитами-носителями, имеющими pH в диапазоне от 5,0 до 8,0 ед. pH и размерами 12,5 × 25,0 или 5,0 × 4,5 см (далее — пластины разделяющего геля).

Пленка пластиковая для накрывания геля.

Подложка пластиковая прозрачная с гидрофильной поверхностью размерами 25,0 × 12,5 см для приготовления глютениновых реплик.

Полоски электродные (фитили из фильтровальной бумаги по ГОСТ 12026, смоченные электродными буферами) размерами 25,0 × 0,5 × 0,1 см для пластины разделяющего геля размерами 12,5 × 25,0 см или 4,2 × 0,5 × 0,1 см для пластины разделяющего геля размерами 5,0 × 4,5 см.

Шаблон для нанесения анализируемых проб на пластиковую пленку.

Колбы мерные вместимостью 100 и 1000 см^3 по ГОСТ 1770.

Ступка фарфоровая по ГОСТ 9147.

Пипетки автоматические вместимостью 0,2—2,0; 1—10; 100 мкм^3 и 1 см^3 с наконечниками.

Пробирки пластиковые с крышкой вместимостью 0,5 см^3.

Допускается применение другого средства измерения и посуды по метрологическим характеристикам, а также аппаратуры, реактивов и материалов по техническим характеристикам не хуже вышеуказанных.

5.3 Подготовка к анализу

5.3.1 Приготовление растворов

5.3.1.1 Приготовление 70 %-ного раствора этилового спирта

В мерную колбу вместимостью 1000 см^3 вносят 700 см^3 95 %-ного этилового спирта, разбавляют дистиллированной водой до метки и перемешивают.

Срок хранения 70 %-ного раствора этилового спирта в плотно закрытой емкости — не более двух лет.

5.3.1.2 Приготовление 5 %-ного спиртового раствора йода

50 г йода растворяют в мерной колбе вместимостью 1000 см^3 в 700—800 см^3 этилового спирта, доводят объем раствора дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают.

Срок хранения 5 %-ного спиртового раствора йода в плотно закрытой емкости — не более трех лет.

5.3.1.3 Приготовление уксусной кислоты молярной концентрации 150 ммоль/дм^3

Для приготовления 100 см^3 раствора уксусной кислоты с молярной концентрацией 150 ммоль/дм^3 берут 1,1 см^3 уксусной кислоты, наливают в мерную колбу и доливают дистиллированную воду до отметки 100 см^3.

Срок хранения раствора уксусной кислоты в плотно закрытой емкости при температуре от 8 °С до 10 °С — не более одного месяца.

5.3.1.4 Приготовление 0,2 %-ного раствора хлористого натрия

В 100 см^3 дистиллированной воды растворяют 0,2 г хлористого натрия.

Срок хранения 0,2 %-ного раствора хлористого натрия в плотно закрытой емкости — не более 12 мес.

5.3.2 Подготовка анализируемой пробы

Лабораторную пробу, состоящую из зерен массой 1,00 г, размалывают в ступке. Из полученной муки отбирают анализируемую пробу массой 50 мг, помещают ее в пластиковую пробирку вместимостью 0,5 $см^3$, добавляют к ней пятикратный объем детергента, перемешивают и оставляют в течение 20 мин при комнатной температуре для экстракции белковых фракций, содержащих протеиназы. В качестве контроля используют один-два образца зерна, заведомо поврежденного клопами-черепашками.

Полученную смесь центрифугируют в течение 2 мин, осадок отбрасывают. Для концентрирования белков к надосадочной жидкости добавляют пятикратный объем ацетона, выдерживают в холодильной камере в течение 10 мин и центрифугируют. Надосадочную жидкость отбрасывают, а осадок растворяют в объеме детергента, эквивалентном массе анализируемой пробы.

Срок хранения анализируемой пробы при температуре 4 °С — не более двух дней.

При необходимости длительного хранения полученной анализируемой пробы к ней добавляют равный объем глицерина.

Срок хранения анализируемой пробы с глицерином при температуре от минус 24 °С до минус 80 °С — не более двух лет.

5.3.3 Приготовление глютениновых реплик

5.3.3.1 К 150 г муки или препарата клейковины добавляют 300 $см^3$ 0,2 %-ного NaCl, через 30 мин центрифугируют и отмывают клейковину в струе водопроводной воды. Полученную сырую клейковину массой 30 г измельчают вручную, добавляют 100 $см^3$ 70 %-ного этилового спирта и помещают на магнитную мешалку на 30 мин и центрифугируют (процедуру экстракции спиртом повторяют трижды для удаления большей части глиадинов).

К 40 г сырой разбухшей клейковины добавляют 150 $см^3$ уксусной кислоты по 5.3.1.3 и помещают колбу на роторную качалку на 2 ч. Затем полученную суспензию центрифугируют в течение 10 мин при 10000*g*. Надосадочную жидкость, преимущественно содержащую фракцию РУКГт-1, сохраняют. К осадку снова добавляют уксусную кислоту по 5.3.1.3 и повторяют процедуру перемешивания и центрифугирования два раза, получая фракции РУКГт-2 и РУКГт-3 в надосадочной жидкости. Оставшийся осадок используют для приготовления реплик, содержащих слой НРУКГт.

5.3.3.2 Для получения тонкого слоя НРУКГт к 7,5 г осадка глютенина в колбе, полученного по 5.3.3.1, добавляют 22,5 $см^3$ уксусной кислоты по 5.3.1.3 и ставят колбу на роторную мешалку до получения гомогенной суспензии.

5.3.3.3 На установленный горизонтально терморегулируемый столик прибора для электорфореза помещают пластиковую подложку гидрофильной стороной кверху. На подложку равномерно наливают суспензию глютенина НРУКГт по 5.3.3.2, доводят температуру до 50 °С и выдерживают до полного высыхания суспензии. В результате на подложке образуется равномерный тонкий белый непрозрачный слой НРУКГт.

5.3.3.4 Для получения тонкого слоя РУКГт-1, РУКГт-2 или РУКГт-3 30 $см^3$ соответствующего раствора по 5.3.3.1 также разливают по поверхности подложки и высушивают в соответствии с 5.3.3.3. В результате получают пластину с прозрачным тонким слоем растворимого в уксусной кислоте глютенина.

5.3.3.5 Срок хранения глютениновых реплик с НРУКГт и РУКГт при комнатной температуре — не более одного и шести месяцев соответственно.

5.4 Проведение анализа

5.4.1 Фракционирование белков методом ИЭФ проводят на пластине разделяющего геля с помощью прибора для горизонтального электрофореза.

Сначала по краям пластины разделяющего геля накладывают электродные полоски, смоченные анодным и катодным буферами.

На пластину разделяющего геля на расстоянии 1 см от анода накладывают в ряд (по шаблону, помещенному под пластину с гелем) полоски фильтровальной бумаги размерами 5,0 × 1,0 × 0,5 мм (ориентированные вдоль направления фракционирования) с интервалом 1,5 мм. Затем пипеткой на них наносят по 2,5 $мкм^3$ анализируемой пробы по 5.3.2. На крайние полоски, а также каждые кратные по счету пятые или десятые полоски наносят раствор белков-маркеров ИЭТ. На пластину разделяющего геля с анализируемыми пробами и белками-маркерами ИЭТ накладывают крышку с электродами анодом на электродную полоску, смоченную анодным буфером, катодом — катодным буфером.

На одной пластине разделяющего геля размерами 12,5 × 25,0 см анализируют до 45 проб, включая белки-маркеры ИЭТ. При расстоянии между электродами 10 см начальный ток должен быть 20 мА

при напряжении 400 В и максимальной мощности тока 8 Вт, конечное напряжение — 1700 В. При размерах пластины геля 5,0 × 4,5 см — 3 мА, 70 В, 3,5 Вт и 2000 В соответственно. Продолжительность разделения при использовании пластины разделяющего геля размерами 12,5 × 25,0 см и расстоянии между электродами 10 см — 2 ч, размерами 5,0 × 4,5 см — 30 мин.

В конце разделения полоса белка-маркера ИЭТ цитохрома *c* должна уйти из разделяющего геля или остаться на краю у катода (в зависимости от типа и фракции используемых амфолитов-носителей).

5.4.2 После ИЭФ на тыльной стороне пластины разделяющего геля фломастером отмечают позиции белков-маркеров ИЭТ.

5.4.3 Из приготовленных по 5.3.3 глютениновых реплик вырезают фрагменты, приблизительно соответствующие по размерам зоне градиента от 6,0 до 8,0 ед. pH в разделяющем геле, которая начинается на пластине разделяющего геля размерами 12,5 × 25,0 см в 4 см от позиции миоглобина в сторону анода и заканчивается в 1 см в сторону катода, на пластине разделяющего геля размерами 5,0 × 4,5 см — в 2,5 и 0,5 см соответственно.

5.4.4 При использовании реплики с тонким слоем глютенина, нерастворимого в уксусной кислоте, ее смачивают дистиллированной водой, накладывают белковой стороной на пластину разделяющего геля, находящуюся на терморегулируемом столике прибора для электрофореза, отмечают на ней со стороны пластиковой подложки позиции белков-маркеров ИЭТ. Затем накрывают пластину разделяющего геля и глютениновую реплику пластиковой пленкой для предотвращения высыхания и инкубируют на терморегулируемом столике прибора для электрофореза или в термостате в течение 30—50 мин при температуре 37 °С.

Затем снимают глютениновую реплику, погружают ее в уксусную кислоту на 10 мин для растворения частично гидролизованного глютенина, переносят в дистиллированную воду или трис-HCl буфер и добавляют несколько капель раствора йода. За счет следов крахмала, оставшихся в слое глютенина после отмывки, глютениновая реплика темнеет, за исключением зон, гидролизованных протеиназой. Протеиназам соответствуют прозрачные полосы на темном фоне. Глютениновую реплику фотографируют в проходящем свете.

5.4.5 В случае использования глютениновой реплики со слоем растворимого в уксусной кислоте глютенина ее смачивают в трис-HCl буфере, убирают фильтровальной бумагой излишек жидкости, накладывают на пластину разделяющего геля, накрывают пластину разделяющего геля и глютениновую реплику пластиковой пленкой и инкубируют на терморегулируемом столике прибора для электрофореза или в термостате в течении 40—60 мин при температуре 37 °С.

Затем снимают глютениновую реплику, погружают в трис-HCl буфер и через 10 мин фотографируют в рассеянном свете (источник света расположен сбоку снизу). Протеиназам соответствуют опалесцирующие полосы на темном фоне.

Контрастность компонентов, соответствующих протеиназам, может быть повышена погружением сфотографированной глютениновой реплики в дистиллированную воду или краткосрочным (в течение 5 с) погружением глютениновой реплики в уксусную кислоту по 5.3.1.3 с последующим переносом в буфер трис-HCl. В этом случае более эффективным может оказаться фотографирование в проходящем свете.

5.4.6 Одновременно проводят параллельный анализ контрольных проб в соответствии с 5.4.1—5.4.5.

5.5 Обработка результатов

Просматривают сфотографированную глютениновую реплику. Протеиназам клопов-черепашек соответствуют полосы с ИЭТ в интервале от 6,0 до 7,5 ед. pH, при этом наиболее заметные компоненты имеют ИЭТ около 7,0 ед. pH. В неповрежденных зернах компоненты протеиназ не выявляются. Для подтверждения результатов анализа сравнивают полосы ИЭТ анализируемой пробы с контрольной.

При более высокой чувствительности и разрешающей способности анализа (число выявляемых компонентов протеиназ), достигаемых использованием реплики с тонким слоем растворимого в уксусной кислоте глютенина, могут выявляться внутривидовые и межвидовые отличия повреждавших зерно клопов рода *Eurygaster* по компонентному составу гидролизующих глютенин протеиназ.

Полосы с ИЭТ вне интервала pH от 6,0 до 7,5 ед. pH могут свидетельствовать о присутствии в зерне протеиназ других видов насекомых или микроорганизмов.

6 Методы выявления и количественного определения зерен пшеницы, поврежденных клопами-черепашками

6.1 Визуальные методы

6.1.1 Диагностика повреждений колосьев пшеницы

В целях доуборочной оценки ущерба проводят диагностику повреждений колосьев пшеницы клопами-черепашками в период от выколашивания до молочно-восковой спелости зерна непосредственно в поле с помощью учетной рамки.

Диагностику допускается проводить совместно с учетом численности личинок клопов-черепашек.

Колос, поврежденный клопами-черепашками, — полностью или частично белый (белоколосость), без зерна. У неповрежденного колоса нижняя часть зеленая, с нормально развитым зерном.

Для выявления белоколосости на поле с помощью учетной рамки размерами 50 × 50 см определяют 16 учетных площадок с расстоянием между ними не менее 25 м (восемь площадок у края посевов, восемь — в центре) и подсчитывают в них число колосьев, поврежденных клопами-черепашками.

Массовую долю поврежденных колосьев на поле П, %, вычисляют по формуле

$$П = \frac{\Sigma П}{\Sigma о} 100\ \%, \qquad (1)$$

где $\Sigma П$ — число колосьев, поврежденных клопом-черепашкой, на 16 площадках, шт.;

$\Sigma о$ — общее число колосьев на 16 площадках, шт.

Полученное значение округляют до целого числа.

6.1.2 Определение поврежденности зерна пшеницы в лаборатории

6.1.2.1 В лабораторных условиях проводят визуальное и инструментальное определения зерен пшеницы, поврежденных клопами-черепашками, перед отправкой зерна потребителю или закладкой на хранение.

6.1.2.2 Средства измерений, аппаратура, материалы и посуда

Весы неавтоматического действия высокого класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с пределами допускаемой абсолютной погрешности не более ± 0,01 г.

Лупа зерновая по ГОСТ 25706, первой группы, с кратностью увеличения 4× — 5×.

Доска лабораторная (анализная).

Пинцет.

Шпатель.

Чашки для анализируемых проб.

Допускается применение другого средства измерения и посуды по метрологическим характеристикам, а также аппаратуры и материалов по техническим характеристикам не хуже вышеуказанных.

6.1.2.3 Проведение анализа

Из лабораторной пробы пшеницы массой 50 г, освобожденной от явно выраженной сорной и зерновой примесей, берут анализируемую пробу массой 10 г и взвешивают с точностью до второго десятичного знака. Анализируемую пробу переносят на лабораторную доску, шпателем равномерно распределяют по всей поверхности и осматривают с помощью лупы.

При осмотре с помощью пинцета отбирают зерна с наличием на поверхности:

- следов укола в виде темной точки, вокруг которой образуется резко очерченное светло-желтое пятно округлой или неправильной формы;
- резко очерченного светло-желтого пятна округлой или неправильной формы, в пределах которого имеются вдавленность или морщины без следов укола;
- резко очерченного светло-желтого пятна округлой или неправильной формы на зародыше без вдавленности или морщин и без следов укола.

У поврежденных клопами-черепашками зерен во всех случаях консистенция под пятном рыхлая и мучнистая.

Зерна пшеницы с желтыми пятнами, расположенными не у зародыша, без следов укола, вдавленности, а также без морщинистости в пределах пятен считаются поврежденными другими вредителями. Зерна, обнаруженные в анализируемой пробе и поврежденные клопами-черепашками, взвешивают с точностью до третьего десятичного знака.

Анализ проводят в двух повторностях.

Массовую долю зерен, поврежденных клопами-черепашками, X_n, %, вычисляют по формуле

$$X_n = \frac{m}{b} 100\ \%, \quad (2)$$

где m — масса зерен, поврежденных клопами-черепашками, г;

b — масса анализируемой пробы, равная 10 г.

6.1.2.4 Обработка результатов

За окончательный результат массовой доли зерен, поврежденных клопами-черепашками, принимают среднеарифметическое значение результатов вычислений двух параллельных анализов, выполненных в условиях повторяемости, округленное до второго десятичного знака.

В случае необходимости проводят анализ поврежденности зерна пшеницы в условиях воспроизводимости.

Проверку приемлемости результатов анализа проводят в соответствии с ГОСТ ИСО 5725-6.

6.2 Инфракрасная диагностика зерна пшеницы

6.2.1 Сущность метода

Сущность метода заключается в просмотре зерна пшеницы через микроскоп с инфракрасной насадкой. Инфракрасные лучи, проходящие через зерна, поглощаются, поэтому при просмотре через микроскоп можно обнаружить темные пятна, характеризующие пустоты, возникающие при нарушении консистенции эндосперма зерна в результате повреждения клопами-черепашками и их личинками.

6.2.2 Аппаратура и материалы

Микроскоп световой для биологических исследований с объективом 3,5$^{\times}$, окуляром 4$^{\times}$ и насадкой монокулярной визуальной.

Насадка инфракрасная для визуального исследования в поляризованных и неполяризованных инфракрасных лучах в пределах длин волн 0,75—1,20 мкм с электронно-оптическим преобразователем и лупой 4$^{\times}$ (окуляр).

Объектив 3,5$^{\times}$.

Осветитель для микроскопа с лампой накаливания.

Препаратоводитель с точностью отсчета при перемещении 0,1 мм.

Стекло предметное.

Допускается использование аппаратуры и материалов по техническим характеристикам не хуже вышеуказанных.

6.2.3 Проведение анализа

Перед началом работы проводят настройку аппаратуры согласно инструкции по эксплуатации. Для удобства настройки микроскопа используют осветитель, который затем отключают.

Из анализируемой пробы пшеницы массой 50 г, освобожденной от явно выраженной сорной и зерновой примесей, отбирают 100 зерен. Далее на предметном стекле просматривают каждое отобранное зерно. Отбирают и подсчитывают все зерна с характерными повреждениями в призародышевой (нижней) части эндосперма и на бочках зерна в соответствии с рисунком 1.

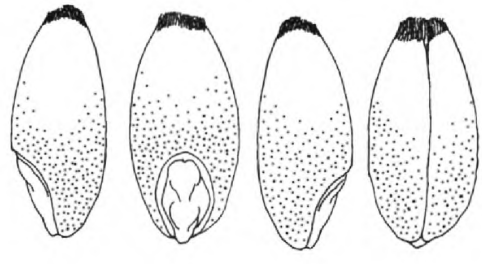

Рисунок 1 — Локализация повреждений на зернах пшеницы, вызванных уколами клопов-черепашек рода *Eurygaster*

Отобранные поврежденные зерна сортируют и подсчитывают их число отдельно по степени поврежденности в соответствии с таблицей 1, используя любой измерительный микроскоп.

Таблица 1

Баллы	Степень повреждения одного зерна
I	На зерне одно небольшое пятно площадью 0,75 мм^2
II	Площадь одного пятна или суммарная площадь нескольких пятен составляет 2—3 мм^2 (1/4—1/5 поверхности зерна)
III	Площадь пятна (пятен) составляет 4—6 мм^2 (1/3 поверхности зерна)
IV	Площадь пятна (пятен) составляет 7—10 мм^2 (более 1/3 поверхности зерна), зерно слабо деформировано
V	Зерно полностью черного цвета, грубо деформировано
Примечание — Зародыш клопами-черепашками не повреждается.	

Анализ проводят в двух повторностях.

6.2.4 Обработка результатов

За окончательный результат общего числа зерен, поврежденных клопами-черепашками, и их числа отдельно по баллам принимают среднеарифметическое значение результатов подсчета в двух параллельных анализах, выполненных в условиях повторяемости, округленное до второго десятичного знака.

6.3 Экспресс-метод сканирования зерен пшеницы

6.3.1 Сущность метода

Сущность метода заключается в получении путем сканирования с помощью фотосканера изображения зерен пшеницы, на котором отчетливо видны локализация и глубина повреждения зерен вредителями: поврежденные участки имеют иную окраску и более темные по тону.

6.3.2 Аппаратура

Компьютер с монитором не менее 37,5 см по диагонали и характеристиками, которые должны обеспечивать работу планшетного сканера и программного обеспечения по обработке фотографий: 32-разрядный (×86) или 64-разрядный (×64) процессор с тактовой частотой не менее 1 ГГц; 1 гигабайт (ГБ) (для 32-разрядной системы) или 2 ГБ (для 64-разрядной системы) оперативной памяти (ОЗУ); 16 ГБ (для 32-разрядной системы) или 20 ГБ (для 64-разрядной системы) пространства на жестком диске.

Обеспечение программное — графический редактор, позволяющий усилить контраст изображения (тональный и/или цветовой) для облегчения анализа результатов фотосканирования.

Сканер планшетный с функцией фотосканирования прозрачных материалов, формат А4, разрешение 1200 × 1200 dpi, интерфейс USB 2.0.

Допускается использование другой аппаратуры с техническими характеристиками не хуже вышеуказанных.

6.3.3 Проведение анализа

Режим проведения фотосканирования устанавливают в зависимости от типа применяемого планшетного сканера и особенностей анализируемого зерна (формы и размера зерна, плотности зерен и т. д.).

Отбирают анализируемую пробу, содержащую 100 зерен. Анализируемую пробу зерна размещают в один слой на стекле сканера, вдоль которого передвигается сканирующая каретка, и проводят фотосканирование. На сканере устанавливают режим фотосканирования прозрачных материалов, цветное изображение. Размер получаемого изображения — не менее 2000 пикселей по длинной стороне. При необходимости изменяют настройки сканера, добиваясь результата, при котором повреждения зерен видны наиболее отчетливо. Полученное цифровое изображение рассматривают на экране (при этом изображение должно занимать всю площадь экрана) и анализируют.

При анализе изображения подсчитывают зерна с повреждениями призародышевой (нижней) части эндосперма на спинке и бочках зерна в соответствии с рисунком 1.

Анализ проводят в пяти повторностях.

6.3.4 Обработка результатов

За окончательный результат числа зерен, поврежденных клопами-черепашками, принимают среднеарифметическое значение результатов подсчета в пяти параллельных анализах, выполненных в условиях повторяемости, округленное до второго десятичного знака.

УДК 632.7:006.354

МКС 01.040.65
65.020.20

Ключевые слова: защита растений, метод, выявление, учет, повреждение, зерно, злаковая культура, пшеница, клоп-черепашка

Редактор *М.И. Максимова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *С.В. Смирнова*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 30.11.2018. Подписано в печать 18.12.2018. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,12.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» 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