ГОСТ 30360—96

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

СЕМЕНА ЭФИРОМАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР

Методы определения зараженности болезнями

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2010

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Институтом эфиромасличных и лекарственных растений

ВНЕСЕН Государственным комитетом Украины по стандартизации, метрологии и сертификации

2 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол МГС № 9 от 12 апреля 1996 г.)

За принятие проголосовали:

Наименование государства	Наименование национального органа по стандартизации
Азербайджанская Республика	Азгосстандарт
Республика Армения	Армгосстандарт
Республика Беларусь	Госстандарт Беларуси
Грузия	Грузстандарт
Республика Казахстан	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизская Республика	Киргизстандарт
Республика Молдова	Молдовастандарт
Российская Федерация	Госстандарт России
Республика Таджикистан	Таджикгосстандарт
Туркменистан	Главная государственная инспекция Туркменистана
Республика Узбекистан	Узгосстандарт
Украина	Госстандарт Украины

3 Постановлением Государственного комитета Российской Федерации по стандартизации и метрологии от 23 сентября 1999 г. № 305-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 30360—96 введен в действие непосредственно в качестве государственного стандарта Российской Федерации с 1 июля 2000 г.

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

5 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Июнь 2010 г.

© ИПК Издательство стандартов, 1996
© СТАНДАРТИНФОРМ, 2010

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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

СЕМЕНА ЭФИРОМАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР

Методы определения зараженности болезнями

Seeds of essential oil crops.
Methods for determination of disease infestation

Дата введения 2000—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на семена эфиромасличных культур, предназначенные к посеву, и устанавливает методы определения их зараженности болезнями. Виды болезней и методы их определения приведены в приложении А.

Требования этого стандарта являются обязательными.

2 Нормативные ссылки

В этом стандарте приведены ссылки на такие стандарты:

ГОСТ 5777—84 Калий марганцовокислый технический. Технические условия

ГОСТ 5962—67* Спирт этиловый ректификованный. Технические условия

ГОСТ 6672—75 Стекла покровные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 6709—72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9284—75 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 12026—76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 12036—85 Семена сельскохозяйственных культур. Правила приемки и методы отбора проб

ГОСТ 12046—85 Семена сельскохозяйственных культур. Документы о качестве

ГОСТ 17299—78 Спирт этиловый технический. Технические условия

ГОСТ 19569—89** Стерилизаторы паровые медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 21241—89 Пинцеты медицинские. Общие технические требования и методы испытаний

ГОСТ 30025—93 Семена эфиромасличных культур. Метод определения чистоты и отхода семян.

3 Отбор проб и навесок

3.1 Отбор проб — согласно ГОСТ 12036.

3.2 Отбор навесок — согласно ГОСТ 30025.

4 Аппаратура, материалы и реактивы

4.1 Для проведения анализа применяют:

весы лабораторные общего назначения IV класса точности с предельной массой взвешивания 500 г — согласно действующей нормативной документации;

шкаф сушильный лабораторный;

стерилизатор — согласно ГОСТ 19569;

---

* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652—2000.

** На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51935—2002.

Издание официальное

центрифугу ЦВР-1;
термостат для проращивания семян;
микроскопы биологические марок МБИ и МБР;
пипетки — согласно действующей нормативной документации;
колбы, пробирки, стаканы (стеклянные), спиртовки — согласно действующей нормативной документации;
камеру Горяева М 851;
пинцеты — согласно ГОСТ 21241;
скальпель;
иглы препаровальные;
баню водяную;
розетки;
стекла предметные — согласно ГОСТ 9284;
стекла покровные — согласно ГОСТ 6672;
плитки керамические;
совки лабораторные;
часы песочные;
бумагу фильтровальную — согласно ГОСТ 12026;
марлю;
вату;
калий марганцовокислый — согласно ГОСТ 5777;
спирт этиловый ректификат — согласно ГОСТ 5962 или спирт этиловый гидролизный высшей очистки — согласно ГОСТ 17299;
воду дистиллированную — согласно ГОСТ 6709;
формалин.

5 Макроскопический метод

5.1 Метод применяют для внешнего осмотра отобранной согласно 3.1 пробы семян по признакам, видимым невооруженным глазом. При тщательном осмотре семян выявляют патологические отклонения от нормы по цвету и запаху.

5.2 Анализ проводят одновременно с определением чистоты семян согласно ГОСТ 30025.

5.3 Макроскопическим методом определяют зараженность мучнистой росой семян аниса, кориандра и тмина.

5.4 Результаты осмотра записывают в рабочий бланк установленной формы: по цвету — нормальный, потемневший; по запаху — нормальный, плесневелый.

6 Метод определения спор

6.1 Метод основан на смывании спор водою с поверхности семян и дальнейшем их определении под микроскопом. Его применяют для определения наличия спор рамуляриоза — на семенах кориандра, спор ржавчины — на семенах аниса, спор и мицелия церкоспороза — на семенах фенхеля.

6.2 Отбор проб

6.2.1 Для проведения анализа отобранной из разных мест навески согласно 3.2 отсчитывают подряд две пробы по 100 семян каждая.

6.3 Порядок проведения анализа

6.3.1 Каждую пробу кладут в пробирку, заливают 5 $см^3$ воды и взбалтывают в течение 5 минут. После взбалтывания воду от каждой пробы семян сливают в отмеченные пробирки центрифуги и центрифугируют в течение 3 минут. Количество оборотов центрифуги должно быть не менее 150 об/мин. Если в центрифуге не все пробирки заняты промывной водой, то свободные заполняют чистой водой до того же уровня, что и в занятых, для равновесия. По окончании центрифугирования надосадочную жидкость из пробирок с промывной водой сливают, осадок перемешивают стеклянной палочкой и из него готовят пять препаратов для микроскопии. Препараты просматривают под микроскопом и по морфологическим признакам обнаруженных спор устанавливают вид гриба, к которому они относятся (приложение Б). Подсчет спор в суспензии проводят в камере Горяева.

6.4 Правила обработки результатов анализа

Зараженность спорами одного семени (X) в штуках вычисляют по формуле

$$X = \frac{N \cdot 5}{100}, \quad (1)$$

где N — количество спор в 1 см^3 суспензии, шт.;

5 — объем воды, взятой для смыва, см^3;

100 — количество семян, взятых для анализа, шт.

Величину (N) рассчитывают, умножая обнаруженное число спор в пяти больших квадратах камеры Горяева на 50000. Если же подсчет ведут по всей площади камеры, то обнаруженное число спор умножают на 1111.

Результаты анализа заносят в документ о качестве семян согласно ГОСТ 12046.

7 Биологический метод

7.1 Метод основан на стимуляции развития и роста микроорганизмов в зараженных семенах и последующем учитывании признаков их зараженности. Его применяют для выделения внешней и внутренней зараженности семян болезнями.

Под внешней зараженностью семян болезнями понимают наличие признаков зараженности микроорганизмами на поверхности семян без их предварительной дезинфекции.

Под внутренней зараженностью семян болезнями понимают наличие признаков зараженности микроорганизмами на поверхности семян после их дезинфекции.

7.2 Зараженность семян кориандра — альтернариозом, фузариозом, бактериозом, фомозом, септориозом, семян тмина — фузариозом, септориозом, семян базилика и шалфея — фузариозом, семян аниса, шалфея и фенхеля — бактериозом определяют при проращивании их во влажной камере.

7.3 Анализ семян во влажной камере

При проращивании семян во влажной камере, заболевания, вызванные бактериями, выявляют по размягчению и ослизнению тканей семени, по каплям жидкости (бактериальный экссудат); заболевания, вызываемые грибами на проросших и непроросших семенах, проявляются в виде пятен различной формы и окраски, уродливости или отмирания частей проростков.

7.3.1 Отбор проб

7.3.1.1 Из средней пробы, предназначенной для анализа семян на зараженность болезнями во влажной камере и отобранной согласно 3.1, выделяют навеску. Из семян основной культуры навески отбирают четыре пробы по 50 штук. Семена берут подряд без выбора.

7.3.2 Порядок подготовки к проведению анализа

7.3.2.1 Для проращивания семян во влажной камере применяют промытые сухие чашки Петри. На дно чашек помещают кружки из марли в три слоя или фильтровальную бумагу в два слоя, положенную на гигроскопическую вату толщиной слоя не более 0,25 см.

7.3.2.2 Чашки Петри, марля, фильтровальная бумага с ватой, пипетки, а также вода, применяемая для анализа, должны быть стерильными. Стекло, на котором выделяют навески и отсчитывают семена, совки, чашки весов и другие предметы дезинфицируют спиртом. Чашки Петри с марлевыми кружочками, ватой или фильтровальной бумагой, а также пипетки заворачивают в бумагу и стерилизуют в сушильном шкафу при температуре 130 °С в течение 1 ч (при немедленном использовании их стерилизуют без завертывания в бумагу) или в стерилизаторе под давлением 0,09807 МПа (1 атм) в течение 40—50 мин. Металлические предметы (пинцеты, препаровальные иглы и другое оборудование) стерилизуют над пламенем спиртовой или газовой горелки в процессе работы. Воду стерилизуют в стерилизаторе в течение 30 мин под давлением 0,1471 МПа (1,5 атм) или в течение 50 мин под давлением 0,09807 МПа (1 атм), в кипятильнике или водяной бане — в два приема по 1 ч через сутки. Допускается применять свежекипяченую воду. Воду кипятят в химических колбах, закрытых ватными пробками. Продолжительность кипения — 30 мин.

7.3.2.3 Для выявления внутренней инфекции перед закладкой во влажную камеру семена предварительно должны быть продезинфицированы в 0,5 %-ном растворе марганцовокислого калия в течение 10 мин — аниса, в течение 15 мин — тмина. Семена кориандра, фенхеля, базилика, шалфея дезинфицируют в 96 %-ном растворе спирта в течение 1—3 мин. После дезинфекции семена (кроме семян шалфея) должны быть промыты стерилизованной или свежекипяченой остуженной водой и просушены между листами стерильной фильтровальной бумаги.

Термостат предварительно тщательно промывают и дезинфицируют формалином, для чего в стеклянную чашку наливают 40 %-ный формалин и ставят ее открытой в термостат. Затем термостат плотно закрывают на 10—12 ч, после чего чашку с формалином убирают и термостат хорошо проветривают (не менее 6 ч).

7.3.3 Проведение анализа

7.3.3.1 Марлю и фильтровальную бумагу в чашках Петри увлажняют до полной влагоемкости пипеткой, слегка приоткрывая при этом с одного края крышку чашки.

Увлажнение считают нормальным, если при наклоне чашки с марлевых кружков или фильтровальной бумаги по ним стекают мелкие капли воды.

Закрытые чашки Петри с заложенными в них семенами помещают в термостат для проращивания.

7.3.3.2 Проращивание проводят в термостате при температуре 20—25 °С.

Первый просмотр проводят на пятый день, второй на десятый день проращивания семян. По истечении указанного срока на семенах появляются характерные признаки болезней.

7.3.3.3 Внешние признаки фузариоза

На проросших и непроросших семенах кориандра, тмина, шалфея, базилика фузариоз обнаруживается в виде нежной белой или бледно-розовой грибницы со спорами. Макроконидии бесцветные, веретеновидно-серповидные, с ясно выраженной ножкой или сосочком, с 3—5 перегородками. Микроконидии и хламидоспоры обильные, бесцветные.

7.3.3.4 Внешние признаки бактериоза

На поверхности семян аниса, кориандра, фенхеля, шалфея с темными, вдавленными и маслянистыми пятнами, выделяются капли бактериального экссудата. На проростках образуются штрихи, язвочки, уродливость, побурение, стекловидность, загнивание или перетяжка гипокотиля и первичного корня.

7.3.3.5 Внешние признаки фомоза

На семенах кориандра гриб образует черные пикниды шаровидные или приплюснутые, тонкостенные, с выраженным отверстием. Конидии одноклеточные, бесцветные, яйцеобразные или цилиндрические.

7.3.3.6 Внешние признаки септориоза

На семенах кориандра и тмина образуются черные пикниды гриба чечевицеобразной формы. Пикниды тонкостенные с выраженным отверстием и выходящей лентой конидий. Конидии бесцветные, одно-, двухклеточные, нитевидные, изогнутые. На семенах часто образуется налет.

7.3.3.7 Внешние признаки альтернариоза

На семенах кориандра гриб образует оливково-серый, темно-серый, оливково-черный налет. Конидиеносцы простые или разветвленные, коричневые. Конидии в цепочках обратно-булавовидные, обратно-грушевидные, от бледно- до умеренно коричневых, с 1—8 поперечными перегородками.

На семенах часто образуются налеты различной окраски, вызываемые сапрофитными грибами, рисунки спор которых приведены в приложении В.

Вид возбудителя уточняют при просмотре семян и проростков с плодоношениями грибов под микроскопом.

7.3.4 Правила обработки результатов анализа

При первом просмотре (7.3.3.2) подсчитывают количество проросших семян, на проростках которых появились пятна в виде красных штрихов, язвочек, уродливость, отмирание нижней части проростка. Проросшие зараженные семена удаляют.

При втором просмотре (7.3.3.2) подсчитывают общее количество проросших и непроросших семян, на которых образовались колонии паразитных бактерий и грибов.

Результаты вычислений зараженности семян при первом и втором подсчетах суммируют.

Общую зараженность семян (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{N}{m} \cdot 100 , \qquad (2)$$

где N — количество зараженных семян в 4 пробах, шт.;

m — количество семян, взятых для анализа, шт.

Результаты анализа заносят в документ о качестве семян согласно ГОСТ 12046.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(справочное)

Таблица А.1

Название болезни	Возбудитель болезни	Наименование культуры	Способ передачи	Внешние признаки заражения	Метод анализа семян
Рамулариоз	Ramularia coriandri	Кориандр	Споры на семенах	Семена коричневого, темно-коричневого цвета, часто недоразвитые	Определение спор
Бактериоз	Erwinia corotovora	Анис Кориандр Шалфей Фенхель	Бактерии на семенах	Семена темные, маслянистые, вдавленные, сморщенные, выделяют бактериальный экссудат	Биологический (влажная камера)
Фузариоз	Fuzarium oxysporum	Кориандр Тмин Базилик Шалфей	Споры на семенах	Бело-розовая плесень на семенах	То же
Фомоз	Fhoma onethi	Кориандр	Мицелий на семенах	Плодовые тела на семенах	»
Альтернариоз	Alternaria tenuissima	Кориандр	Споры на семенах, мицелий в оболочке семени	Оливково-черная плесень на семенах	»
Септориоз	Septoria umbelliferarum	Кориандр Тмин	Споры на семенах, мицелий на семенах	Плодовые тела на семенах	»
Церкоспороз	Cercospora depressa Wass	Фенхель	Споры на семенах, мицелий на семенах	Плодовые тела на семенах	Определение спор
Ржавчина	Puccinia pimpinella Mart	Анис	Споры на семенах	Плодовые тела на семенах	То же
Мучнистая роса	Erysiphe umbelliferarum	Анис Кориандр Тмин	Мицелий и плодовые тела на семенах	Плодовые тела на семенах	Макроскопический

ПРИЛОЖЕНИЕ Б
(справочное)

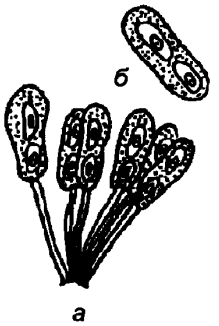
Споры патогенных грибов





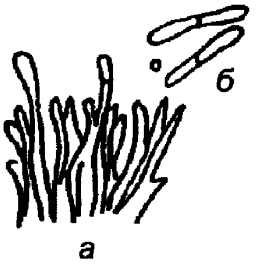
а — пучок конидиеносцев с конидиями
б — конидии более увеличенные

Рисунок Б.1 — Рамулярия кориандра (Ramularia coriandri)



а — телейтоспоры
б — телейтоспора (увеличено)

Рисунок Б.2 — Ржавчина аниса (Puccinia pimpinellae Mart)



а — пучок конидиеносцев с конидиями
б — конидии (увеличено)

Рисунок Б.3 — Церкоспора прижатая (Cercospora depressaWass)

ПРИЛОЖЕНИЕ В
(справочное)

Спороношение плесневых грибов, развивающихся на семенах

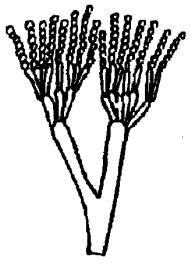


Рисунок В.1 — Пенициллиум (Penicillium Link)

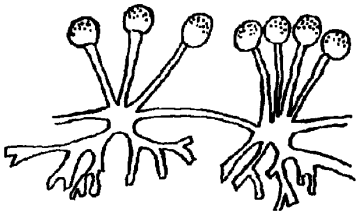


Рисунок В.2 — Ризопус (Rhizopus Ehrent)



Рисунок В.3 — Трихотециум (Trichothecium Link)



Рисунок В.4 — Кладоспориум (Cladosporium Link)

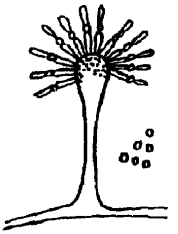


Рисунок В.5 — Аспергиллус (Aspergillus Mich)

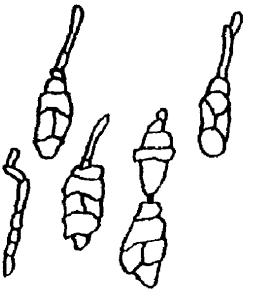


Рисунок В.6 — Альтернария (AlternariaNess)

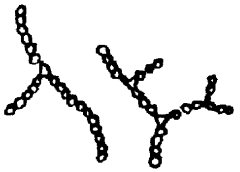
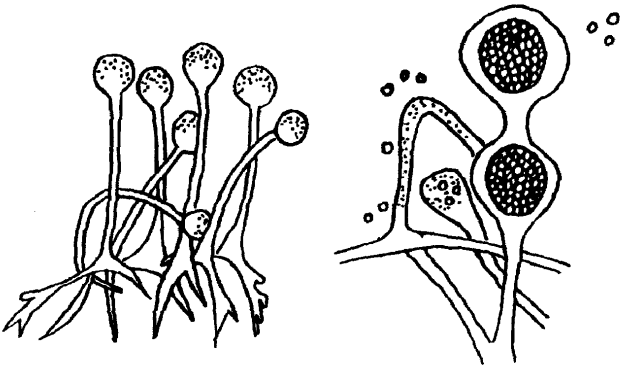


Рисунок В.7 — Монилия (MoniliaPers)



а *б*

а — спорангиеносцы со спорангиями
б — увеличенные спорангии и споры

Рисунок В.8 — Мукор (Mucor Mich)

УДК (633.81:631.53)011.5:632.3/4:006.354 МКС 65.020.20 67.200.20 С09 ОКСТУ 9726

Ключевые слова: эфиромасличные культуры, семена, зараженность болезнями, метод определения

gost.e-ecolog.ru