

Практична робота № 7-8.

Методи визначення енергії проростання та лабораторної схожості насіння сільськогосподарських культур

Визначення чистоти і відходу насіння

Середню пробу висипають на гладку поверхню, ретельно перемішують, визначають стан насіння за кольором, блиском, запахом, наявністю плісняви та іншими органолептичними ознаками. Якщо виявлено крупні домішки (грудки ґрунту, камінці, уламки стебел тощо) які не можуть рівномірно розподілитись у середній пробі їх виділяють і зважують до сотої долі грама. При цьому перемішують насіння середнього зразка висипають на рівну гладку поверхню, розрівнюють у вигляді прямокутника шаром товщиною до 1 см. за допомогою совочка в одній руці (або двох совочків, спрямованих назустріч один одному відбирають з різних місць в шаховому порядку невеликі порції насіння по товщині всього шару. Відбирають стільки порцій (але не менш як з п'яти місць), скільки необхідно для отримання робочої проби.

Норми граничної маси для визначення чистоти насіння такі:

Пшениця, гречка – 120 г

Тритікале, жито, квасоля, горох – 100 г

Аналізують робочу пробу, розділяючи її на дві половини (субпроби).

Аналіз проби окремих культур починають з просіювання робочої проби на ситах.

Назва культури.	Розмір отворів, мм.	Тривалість одного просіювання, хв.
Пшениця	1.7 x 20	1
Пшениця, ячмінь	1.5 x 20	1
Жито, тритікале, овес	1.5 x 20	3

Субпроби після просіювання розбирають на насіння основної культури і відхід.

До насіння основної культури відносять:

- непошкоджене насіння (зернівки, сім'янки, плоди);
- зернівки злакових культур з квітковими лусками;
- обрушені насінини;
- насіння, яке залишилось на підсівному решеті;
- насіння (плоди), які в результаті механічного руйнування чи пошкодження втратили менше ніж половину свого розміру, а також з мікротравмами.

До відходу (домішки) відносять:

- залишки насіння (плодів), що втратили половину та більше свого розміру;
- насіння бобових без насіннєвої оболонки;
- порожні колоски, луски колоскові та квіткові;
- зігниле насіння, проросле;
- грибкові утвори (сажкові мішечки, грудочки), гали нематоди;
- грудочки ґрунту, камінці, пісок, екскременти, комахи;
- насіння, яке пройшло крізь підсівне сито;
- насіння інших культур.

Маси складників складають і суму порівнюють з початковою масою робочої проби. Якщо різниця між ними не перевищує 5% (від маси робочої проби), то результати аналізування вважають достовірними. Якщо ж перевищує аналізування повторюють. Вміст кожного складника обчислюють у відсотках з точністю до одного десяткового знака.

При аналізуванні двох половинних (субпроб) обчислення в % ведуть до другого десяткового знака і визначають розбіжність.

Згідно норм вказаних в ДСТУ. У протилежному випадку аналіз повторюють.

У відході двох субпроб визначають вміст інших культур (культурних і дикорослих) і підраховують в штуках переводячи в масу на 1 кг.

Аналіз результатів досліджень:

I субпроба

Відхід:

- порожні колоски 0,02г- 0,03%
- проросле 0,01г- 0,02%
- ґрунт 0,06г-0,1%
- насіння ін.культур - 0,15г-0,25%
- всього 0,24г -0,40%

$$Ч = 100 - В\% \quad Ч_1 = 100 - 0,40 = 99,6\%$$

II субпроба

- порожні колоски 0,03г- 0,05%
- проросле 0,02г- 0,03%
- ґрунт 0,07г-0,12%
- насіння ін.культур 0,14г-0,23%
- всього 0,26г -0, 43

$$Ч = 100 - В\% \quad Ч_1 = 100 - 0,43 = 99,57\%$$

Отже чистота даної партії насіння $(99,6 + 99,57) / 2 = 99,58\%$

Визначення життєздатності насіння

Життєздатність – це здатність насіння до проростання.

Для аналізу беруть дві проби по 100 насінин, відібраних з насіння основної культури після визначення чистоти; або аналізують окремі насінини (тверді), що залишились у стані спокою наприкінці аналізування схожості.

Щоб полегшити просякання насінин розчином тетразолу, їх попередньо намочують та оголюють тканини органів.

Попереднє замочування проводять розкладаючи насіння на вологому субстраті для культур, насіння яких розтріскується у воді, а також для старого та дуже сухого насіння або занурюючи у воду за температури $(20 \pm)$

2) °C, (свіжозібраного насіння 10-15°C, сої, льону та рицини) термін підбирають в залежності від культури:

- | | |
|---------------------------|-------------------------|
| - кукурудза - 18 год. | - жито - 6 – 8 год. |
| - горох - 15 - 18 год. | - пшениця - 6 – 18 год. |
| - соняшник - 15 - 18 год. | - ячмінь - 6 – 18 год. |
| - овес - 6 - 18 год. | |

Перед забарвлюванням вологе насіння оголюють такими способами:

- видаляють або розкривають насіннєві оболонки;
- наколюють насіннєві оболонки;
- розрізають насінини навпіл: для злакових культур - вздовж зародкової осі на $\frac{3}{4}$ довжини ендосперму, для дводольних без ендосперму з прямим зародком – по середині осі дистальної половини сім'ядолей, залишаючи зародкову вісь нерозрізаною, а для насіння, у якого зародок оточений ендоспермом – вздовж зародка;
- насіння (зародки) промивають на ситечку проточною водою.

Тривалість забарвлювання згідно таблиці №1.

Культура	Підготування насіння до забарвлення	Забарвлення при t 30 °C	
		Концентрація розчину	Експозиція годин
Жито	1. Розрізати уздовж зародок і $\frac{3}{4}$ ендосперму.	0.5	2 - 3
	2. Виділити зародок зі щитком.	1.0	6 - 24
Кукурудза	1. Розрізати уздовж зародок та $\frac{3}{4}$ ендосперму.	0.5	4 - 6
	2. Надрізати поперек біля зародка.	0.5	16 - 24
Горох	1. Розрізати на дві сім'ядолі уздовж корінця.	0.5	3 - 4
Овес	1. Видалити колоскові луски та розрізати навпіл уздовж зародок і $\frac{3}{4}$ ендосперму.	0.1 – 0.5	2
	2. Розрізати поперек біля зародка.	1.0	6 - 24
Пшениця	1. Розрізати навпіл уздовж зародок і $\frac{3}{4}$ ендосперму.	0.5	2 - 4
	2. Виділити зародок зі щитком.	1.0	6 - 24
Ячмінь	1. Розділити навпіл уздовж зародок та $\frac{3}{4}$ ендосперму.	0.5	3
	2. Виділити зародок зі щитком.	1.0	6
Соняшник	Видалити плодову оболонку; розрізати ядро на дві половинки.	0.5	3 - 4

Уразі потреби термін можна подовжити, не допускаючи надлишкової забарвленості. Насінини повинні бути повністю занурені у розчин. Щоб полегшити роботу з дрібним насінням його після попереднього зволоження розкладають на фільтрувальному папері, який звертають і занурюють у розчин. Після закінчення процесу забарвлювання насіння виймають, промивають проточною водою і переходять до оцінювання.

Поділяють насіння на життєздатне і нежиттєздатне, оглядаючи кожную насінину та оцінюючи її за характером забарвленості життєво важливих структур; доцільно використовувати збільшувальну оптику та освітлення.

До життєздатних відносять насінини органи яких повністю забарвленні або мають невеликі некротичні ділянки.

Результати аналізування заносять у робочі бланки (картки) установленної форми.

Життєздатність насіння виражають у відсотках, обчислених, як середньоарифметичне за результатами повторів.

Достовірність аналізування оцінюють згідно з даними таблиці №2.

Таблиця №2.

Середньоарифметичне значення життєздатності обчислене за результатами аналізування двох проб, %	Допустимий відхил між результатами аналізування двох проб насіння, %
99 або 1	2
98 або 2	4
97 або 3	5
від 95 до 96 або 4-5	6
від 93 до 94 або 6-7	7
від 90 до 92 або 8-10	8
від 88 до 89 або 11-12	9
від 84 до 87 або 13-16	10
від 79 до 83 або 17-21	11
від 74 до 78 або 22-26	12
від 65 до 73 або 27-35	13
або 36 - 64	14

У разі недостовірності аналізування повторюють на заново відібраних пробах. Результати аналізування обчислюють у відсотках округлюють до найближчої цілої цифри.

Аналіз результатів досліджень:

Життєздатних насінин:

В 1 пробі 97 штук - 97%

В 2 пробі 95 штук - 95%

Середнє арифметичне між двома пробами - 96%

Допустима розбіжність – 6%

Фактична розбіжність - 2%

Визначення схожості насіння

Аналізування схожості проводять на насінні основної культури, виділеному під час визначення чистоти. Для цього довільно відраховують 400 насінин по 100 або 50 (для крупнонасінних культур) штук у кожному повторі. Насіння рівномірно розміщується на зволоженому субстраті.

Під час аналізування використовують фільтрувальний папір (Ф) та пісок (П). Фільтрувальний папір, як субстрат для ложе використовують за двома варіантами: “на папері” (нФ) та “в папері” (вФ). Для зволоження папір занурюють у воду; виймають і дають стекти надлишку води.

Під час аналізування “на папері” насіння розкладають на одному чи декількох шарах зволоженого паперу, укладеного у ростильні або чашки Петрі, верхні ростильні покривають скляними пластинами або порожніми ростильними, а чашки Петрі - накривками.

Під час аналізування “в папері” насіння розкладають між двома шарами зволоженого паперу. Папір можна використовувати у вигляді конвертів, рулонів, “гофрів” різного профілю (W, M, тощо), вкладати його горизонтально чи вертикально (насінини розміщують зародками донизу).

Пісок як субстрат для вирощування насіння (просіяний через решето з отворами діаметром 1 мм, промитий, прожарений до обвуглювання шматка

паперу вкладеного в нього) використовують за такими варіантами: “на піску” (нП) – насіння втискають у поверхню піску на їхню товщину (діаметр); або “в піску” (вП) - розкладене на ложі насіння покривають шаром піску товщиною 1-2 см.

Насіння кукурудзи, соняшнику та інших крупнонасінних культур розміщують зародком до низу.

Перед аналізуванням пісок зволожують до 60% від його повної вологомісткості (для зернових культур до 80%, рису –100%). Вологомісткість (В) визначають у металевому циліндрі висотою 30 см, діаметром 8 см, кружок змоченого фільтрувального паперу і зважують (m). Циліндр на $\frac{3}{4}$ наповнюють свіжим, прожареним піском (беруть від середньої проби аналізованого піску), знову зважують (m_1) і ставлять у посудину з водою, щоб вона була на рівні. Коли вода замочить поверхню піску, циліндр виймають з посудини, дають стекти зайвій воді, стінки зовні висушують фільтрувальним папером і зважують (m_2).

Вологомісткість піску обчислюють за формулою:

$$B = m_2 - m_1 / m_1 - m \times 100$$

Після закінчення аналізування пісок промивають, просушують, просівають, прожарюють і зберігають для повторного використання.

Під час аналізування протруєного насіння дотримуються відповідних правил безпеки, а пісок повторно не використовують.

Насіння у підготовлені ростильні розкладають за допомогою лічильника – розкладника або вручну, використовуючи маркер, після чого загортають і загладжують трамбівкою.

Під час аналізування свіжозібраного насіння з незавершеним періодом фізіологічного досягання вживають заходів, щодо подолання стану спокою, а саме: попереднє охолодження, прогрівання, промивання, обробку можна проводити хімічними речовинами.

Таблиця №3 Тривалість аналізування

Культура	Температура	Терміни обліку діб		Додаткові умови
		Першого	Остаточного	
Жито	20	4	7	По, Пп, ГК
Кукурудза	20, 25, 20-30	4	7	По, О
Овес	20	5	10	Пп (30-35 ⁰ С) По, ГК
Пшениця	20	4	8	По, Пп (30-35 ⁰ С), ГК
Ячмінь	20	4	7	По, Пп (30-35 ⁰ С), ГК

Під час першого обліковування окремі оцінюють і враховують нормально пророслі насінини, а також насінини з вираженими ознаками аномалій та зігнилі. Дві останні групи видаляють, а нормально пророслі - у разі потреби.

До нормальних проростків відносять такі, у яких найбільш важливі структури (корінці підсім'ядольне та надсім'ядольне коліна, брунечка, сім'ядолі, колеоптиль) добре і пропорційно розвинуті, цілі, здорові, а також з незначними дефектами тих структур, що не впливають на нормальний розвиток проростка. До них відносять й нормально розвинуті проростки з ознаками поверхневої інфекції, набутої від сусідніх хворих насінин.

У культур, насіння яких проростає кількома зародковими корінцями (зернові колосові культури) до нормально пророслих зернівок відносять ті, що мають не менше двох нормально розвинутих корінців, більших за довжину зерна й росток розміром, не меншим половини його довжини. У насінні ячменю і вівса довжину ростка (кільчика) визначають за тією його частиною, що вийшла за межі квіткових лусок.

У насінні гороху, кукурудзи, проса та інших культур, які проростають одним корінцем, до нормально пророслих відносять зернівки, що мають розвинутий головний зародковий корінець, розміром не меншим, ніж довжина (діаметр) зерна й сформований росток не менший половини

довжини (діаметра) насінини. У нормально пророслих насінин соняшнику сім'ядолі повинні легко звільнитися від плодової й насінневої оболонки.

До аномальних проростків відносять такі, які неспроможні розвинути у повноцінної рослини навіть за сприятливих умов.

До них відносять:

- проростки, у яких відсутня або сильно пошкоджена будь-яка структура, що робить неможливим подальший пропорційний їх розвиток;
- слаборозвинені проростки внаслідок фізіологічних порушень, а також проростки з деформованими структурами;
- зігнуті проростки.

Правила оформлення результатів аналізування.

Результати аналізування заносять у робочі картки установленної форми.

Отриманні під час аналізування схожості результати виражають у відсотках за кожною з виявлених категорій (нормальні й аномальні проростки, проросле і непроросле насіння, зокрема тверде, мертво.) Достовірність аналізування встановлюють порівнюючи крайні значення повторів з середньоарифметичним.

Результат вважають достовірним, якщо різниця між ними і середньоарифметичним значенням, яке обчислюють до цілого числа, не перевищує гранично допустимих відхилів.

Якщо результати одного з повторів мають відхили більші ніж допустимі, то схожість обчислюють за трьома повторами. Енергію проростання у цьому випадку визначають за тими самими трьома повторами. У випадку, коли результати двох повторів з чотирьох виходять за межі допустимих відхилів, схожість визначають повторно.

Якщо ж результати і другого аналізування перевищують допустимі відхили, то середнє значення обчислюють за обома аналізуваннями.

Повторне аналізування проводять також тоді, коли:

- допущені методичні порушення у ході аналізування;

- виявлені проростки, які важко оцінити, до яких груп їх віднести;
- значна поширеність інфекції або фітотоксичності;
- аналізування виявило, що насіння перебуває у стані фізіологічного спокою;
- відхили схожості від нормативної у бік зменшення не перевищує 5%.

Аналізування повторюють одним або декількома альтернативними методами. У документі вказують кращий результат (у відсотках) і метод.

Аналіз результатів досліджень

Культура	Проба	Схожість %	Відхилення від середньоарифметичні схожості, %
пшениця	I	93	93-93=0
	II	94	93-94=-1
	III	92	93-92=1
	IV	92	93-92=1

Середньоарифметичне значення схожості: $(93+94+92+92)/4=93\%$

Схожість даної проби відповідає вимогам ДСТУ 2240-93. Не менше 92%

МЕТОДИ АНАЛІЗУВАННЯ ЗАРАЖЕНОСТІ НАСІННЯ ХВОРОБАМИ

Велику шкоду сільському господарству наносять хвороби рослин, знижуючи величину урожаю і погіршуючи його якість. Зараженість насіння хворобами — наявність на поверхні чи всередині насіння або у міжнасіньному просторі життєздатних патогенів, які спричинили або здатні за сприятливих умов спричинити ураженість насіння, проростків і рослин, які вегетують, хворобами з характерними симптомами.

Визначаючи зараженість насіння хворобами, встановлюють наявність або відсутність грибних і бактеріальних хвороб, їх збудників видовий склад і ступінь зараженості.

Основний показник зараженості насіння хворобами — відношення кількості зараженого насіння до облікового, виражене у відсотках. В окремих видів хвороб він виражається кількістю патогена (його утворень) у грамах або штуках на одиницю маси або площі поверхні насінини чи одну насінину.

Стандарт встановлює такі методи визначення зараженості насіння збудниками хвороб:

- макроскопічний;
- обмивання насіння і центрифугування суспензії спор;
- відбитків;
- аналізування зародків;
- біологічний;
- люмінесцентний.

Макроскопічний метод

Метод застосовують з метою візуально виявити у насінні сажкові утворення, ріжки злаків та інші гриби, а також гали пшеничної нематоди.

Аналізування проводять одночасно з визначанням чистоти насіння

Зараженість насіння сажковими утворами і ріжками злаків виражають у відсотках від маси проби, а галами пшеничної нематоди — у штуках на 1 кг насіння.

Метод обмивання насіння і центрифугування суспензії спор

Застосовують для визначання зараженості насіння хворобами, збудники яких у вигляді спор чи міцелію перебувають на його поверхні:

- тверда і стеблова сажки пшениці і жита;
- тверда (кам'яна) і чорна сажки ячменю;
- летюча сажка кукурудзи;
- звичайна сажка проса;
- гельмінтоспоріоз, фузаріоз і сажка рису.

Для аналізування з середньої проби виділяють чотири робочі проби по 100 насінин у кожній.

Кожну пробу поміщають у пробірку, заливають 10 см³ води і збовтують. Насіння з гладенькою поверхнею (пшениця, жито) збовтують протягом 5 хв, насіння з шорсткою поверхнею (насіння льону) — 1 хв. Одержані суспензії обстежують під мікроскопом, щоб розпізнати патогени. За дуже низьких концентрацій спор у суспензіях проводять їх центрифугування. У цьому випадку промивальну воду від кожної проби насіння зливають в окремі пробірки центрифуги і центрифугують 10—15 хв за 2000—2500 об/хв. Після закінчення центрифугування із пробірок обережно видаляють 9 см³ надосадової рідини. Осад, який залишився, скаламучують піпеткою із кожної пробірки готують по 5 препаратів. Щоб визначити вид гриба, препарати проглядають під мікроскопом.

Кількісне обліковування спор проводять у камері Горяєва.

Зараженість спорами однієї насінини (C_n) у штуках обчислюють за формулами:

А) без попереднього центрифугування:

$$C_n = C_1 * 10 / 100$$

Б) з центрифугуванням:

$$C_n = C_1 / 100$$

C_1 — кількість спор у 1 см³ суспензії, шт/см³;

10 — об'єм води, взятої для змиву, см³;

100 — кількість насіння, яка взята для аналізування, шт.

Величину C_1 обчислюють множенням виявленої кількості спор у великих квадратах камери Горяєва на 250 тис., у малих - на 400 тис.; якщо ж підраховують на всій площі камери, то виявлену кількість спор множать на 1111.

Результатом аналізування є середньоарифметичне із чотирьох проб.

Методи відбитків

Застосовують замість методу обмивання насіння і центрифугування суспензії спор, щоб визначити поверхневу заспореність насіння зернових культур сажковими грибами.

Метод відбитків всієї поверхні насіння

З середньої проби виділяють 25 насінин. Кожну з них обгортають відрізком прозорої клейкої стрічки розміром 1 см², щільно притискуючи по всій поверхні насінини. Потім пінцетом стрічку відклеюють і кладуть на предметному склі, щоб ідентифікувати патоген і підрахувати кількість спор під мікроскопом. Спори підраховують у 10 полях зору мікроскопа у тих місцях відрізка стрічки, які торкалися насінини, і визначають середньоарифметичну кількість спор в одному полі зору мікроскопа.

Біологічний метод

Застосовують, щоб виявляти зовнішню і внутрішню зараженість насіння хворобами. Він заснований на стимулюванні росту і розвитку патогенних мікроорганізмів у зараженому насінні.

Зараженість насіння визначають під час пророщування у вологій камері, у рулонах фільтрувального паперу, на піску або на живильних середовищах.

Під час пророщування насіння у вологій камері бактеріальні хвороби виявляють за розм'якістю і ослизненістю тканин насіння. Грибні хвороби проявляються на пророслому і непророслому зерні як плями різної форми і забарвленості, наліт грибниці, потворність, деформація або відмирання частин проростків.

Щоб контролювати правильність розпізнавання патогенів застосовують мікроскопування.

З середньої проби виділяють чотири повтори по 50 або 100 насінин залежно від виду

Для пророщування насіння у вологій камері використовують стерильні сухі чашки Петрі, Коха або склянки, накриті склом. На їх дно кладуть три шари марлі або два шари фільтрувального паперу.

Марлю чи фільтрувальний папір у чашках Петрі або Коха зволожують водою з піпетки, трохи відкриваючи при цьому з одного боку накривку чашки. Зволоження стає нормальне, коли нахилиючи чашку з марлевих чи паперових кружків стікає декілька крапель води.

Насіння пінцетом розкладають на відстані 1—2 см одне від одного залежно від його крупності.

Закриті чашки Петрі, Коха чи склянки із закладеним у них насінням ставлять у термостати для пророщування.

Термостати перед аналізуванням ретельно миють гарячою водою з мийними засобами дезінфікують 1 %-м розчином марганцевокислого калію через кожні 10 днів. Перед кожним фітопатогенним аналізуванням їх дезінфікують 96 %-м етиловим спиртом або бактерицидною лампою протягом 30 хв. Щомісячно термостати дезінфікують бактерицидними лампами протягом 8 год.

Чашки Петрі, марля, фільтрувальний папір, піпетки, які призначені для аналізування, повинні бути стерильні. Руки, скло, на якому виділяють наважки і відраховують насіння, совки, чашки ваг, ростильні й інші предмети дезінфікують спиртом. Чашки Петрі і Коха з марлевими кружками або фільтрувальні папером, а також піпетки обгортають папером і стерилізують у сушильній шафі за температури $(130 \pm 2)^\circ$ протягом 1 год (у разі термінового використання їх стерилізують не загортаючи у папір) або автоклаві під тиском 0,09807 МПа (1 атм) протягом 40-50 хв. Металеві предмети (пінцети, препарувальні голки тощо) стерилізують над полум'ям спиртового або газового пальника у процесі роботи. Їх стерилізують в автоклаві протягом 30 хв під тиском 0,09807 МПа (1 атм). Можна використовувала свіжокип'ячену воду, її кип'ятять у хімічних колбах, закритих ватними пробками, протягом 30 хв., починаючи з моменту закипання. Для аналізування воду охолоджують до кімнатної температури.

Під час аналізування насіння у рулонах фільтрувального паперу використовують два його шари, зволожені до повної вологонасиченості.

Відбирають чотири проби по 50 або 100 насінин. Для кожної проби використовують смужки фільтрувального паперу розміром відповідно 55 см х 10 см або 110 см х 10 см (± 2 см).

Насіння розкладають в одну лінію з інтервалом 1 см на відстані 2-3 см від верхнього і бокових країв паперової смужки. Насіння кладуть зародками донизу, а округле -довільно.

Розташоване на папері насіння накривають такою самою за розміром смужкою зволоженого фільтрувального паперу, на яку накладають корекс або смужку поліетиленової плівки, і скручують у рулон. Рулони ставлять вертикально у посудини і поміщають у термостат за температури 22-25 °С. У процесі пророщування насіння не допускають підсихання рулонів. Воду в піддоні термостата міняють кожні 3-5 діб.

Насіння аналізують у строки, передбачені для визначання його схожості.

Під час аналізування насіння на живильних середовищах виділяють чотири проби по 50 або 100 насінин у кожній і поміщають у стерильний посуд з живильним середовищем на картопляному, картопляно-глюкозному агарах або середовищі Чапека.

Для аналізування у стерильні чашки Петрі діаметром 95-100 мм наливають 10 см³ простерилізованого агару висотою 3-4 мм. Розливання живильних середовищ у чашки і закладання насіння проводять у бактеріологічній камері (стерильному боксі).

Насіння промивають струменем води протягом 1-2 год і дезінфікують 1 %-м розчином азотнокислого срібла або 96%-м спиртом протягом 1-2 хв. Потім насіння промивають у стерильній або прокип'яченій воді і просушують між листками стерильного фільтрувального паперу. Проби насіння у кількості 50-100 шт. поміщають у чашки Петрі (по 10-25 шт. залежно від культури), розкладають який періодично стерилізують обпалюванням на спиртівці, на застигле живильне середовище ставлять їх на пророщування у

термостат за температури 22-25 °С. Пророщування і аналізування насіння проводять протягом строку, який передбачено для визначання схожості.

Щоб контролювати правильність визначання хвороб насіння, невелику частину колонії патогена, яка розвилась на живильному середовищі, досліджують під мікроскопом у краплі води.

Люмінесцентний метод

Люмінесцентний метод використовують як експрес-метод для попереднього аналізування зараженості насіння деякими хворобами.

З середньої проби беруть чотири повтори по 100 насінин, розкладають на чорний папір і проглядають під ультрафіолетовим освітлювачем. За характером світіння насіння роблять висновок про наявність чи відсутність у ньому збудника захворювання.

Здорове насіння пшениці світиться синьо-блакитним або синьо-фіолетовим світлом, а заражене летючою сажкою - темне, тьмяне.

Насіння гороху в місцях зараження аскохітозом або фузаріозом світиться тьмним коричнево-червоним світлом.

Насіння кукурудзи, яке заражене фузаріозом, світиться яскравим оранжевим або малиновим світлом.

Зараженість насіння хворобами визначають на основі первинних даних аналізування. У кожній пробі підраховують загальну кількість зараженого певними хворобами насіння, у тому числі бактеріальними. За наявності на насінні та проростках одночасно двох і більше хвороб, зараженість кожної насінини обліковують за переважною за ознаками хворобою. Якщо хвороби проявились приблизно в однаковій кількості, то їх обліковують за більш шкідливою.

Зараженість насіння сапрофітними грибами, обліковують окремо і до загальної зараженості не долучають.

Методи аналізування заселеності насіння шкідниками

Аналізування заселеності насіння шкідниками треба проводити не пізніше 2 діб після отримання проби. У холодний період року пробу перед аналізуванням витримують за кімнатної температури протягом 1,5-2 год. Щоб привести кліщі у рухомий стан, пробу підігрівають протягом 20-30 хв. за температури 25-28 °С.

Заселеним шкідниками вважають насіння, в якому виявлено живих шкідників: яйця, личинки, лялечки, дорослі особини в явній і прихованій формах .

Заселеність насіння в явній формі визначають за наявності живих шкідників у міжнасінневому просторі, у прихованій — всередині окремих насінин.

Визначання заселеності насіння комірними шкідниками в явній формі

Пробу насіння просівають через два решета з круглими отворами діаметром 1,5 і 2,5 мм. Для дрібнонасінних культур решето з отворами діаметром 1,5 мм замінюють решетом з отворами діаметром 1 мм. Просіювання проводять протягом 3 хв.

Відсів висипають на чорне скло, переглядають на наявність кліщів . Кількість живих кліщів підраховують і визначають їх вміст в екземплярах на 1 кг насіння. Якщо даний показник перевищує 20 екз./кг., подальше аналізування щодо цього шкідника припиняють.

У насінні, яке залишилось на решетах з діаметром отворів 1,5 або 1,0 мм, визначають наявність довгоносиків, точильників, борошноїдів, хрущаків і їхніх личинок, а на решеті з отворами діаметром 2,5 мм - великого хрущака, молі, вогнівки, інших комах та їхніх личинок. Коли виявляють першого живого шкідника, то аналізування припиняють.

Визначання заселеності насіння довгоносиками у прихованій формі

Якщо у пробі насіння живих шкідників в явній формі не виявлено, але є мертві довгоносики або пошкоджені ними насінини, то визначають приховану форму заселеності насіння.

Щоб визначити приховану форму заселеності насіння пшениці, жита, тритікале, рису і ячменю довгоносиком, виділяють робочі проби по 200 насінин і аналізують їх одним з двох способів:

- поздовжнє розрізання насінини навпіл;
- забарвлювання насіння марганцевокислим калієм з подальшим розрізанням.

У першому випадку розрізане гострим скальпелем насіння розглядають крізь лупу для виявлення личинок, лялечок і дорослих особин шкідника. У другому насіння висипають на металеву сітку і опускають на 1 хв. у чашку з водою за температури 30 °С. Потім його переносять на 1 хв. у розчин марганцевокислого калію, промивають водою і розкладають на фільтрувальний папір. Пробочки на насінинах діаметром 0,5 мм, які закривають вхід шкідника в їх середину, забарвлюються у чорний колір.

Насіння із забарвленими пробочками відбирають і розтинають. Насіння пшениці і жита, яке має на поверхні плями, подібні на пробочки, але відрізняється відсутністю опуклості, розпливчастістю форми забарвленої плями, коричневим кольором, є незаселене.

Коли виявляють першого живого шкідника, то аналізування припиняють. Явну заселеність насіння бобових культур зернівками, проса - просяним комариком, кукурудзи - зерновою міллю, конюшини, люцерни, лядвенцю рогатого, житняка, - насіннеїдами (додатки І) визначають у процесі аналізування чистоти візуальним оглядом насіння. Якщо у наважках живих шкідників не виявили, то аналізують залишок середньої проби. Коли виявили першого живого шкідника (яйце, личинки, лялечки, дорослі особини) у міжнасінневому просторі, аналізування припиняють.

Приховану заселеність визначають у тому випадку, коли живих шкідників в явній формі не виявлено.