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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32294— 2013

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Определение токсичности для рыб на разных стадиях развития

(OECD, Test No 210:1992, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

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 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский центр стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ» (ФГУП «ВНИЦСМВ») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии документа, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 5 ноября 2013 г. № 61-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
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 780-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32294—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2014 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD, Test No 210:1992 «Определение токсичности для рыб на ранних стадиях развития» («Fish, Early-Life Stage Toxicity Test», IDT)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Декабрь 2019 г.

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»

© Стандартинформ, оформление, 2014, 2019

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 Термины и определения 1
3 Принцип теста 1
4 Информация об исследуемом веществе 1
5 Достоверность теста 2
6 Описание метода 2
6.1 Оборудование 2
6.2 Выбор видов 2
6.3 Содержание рыб 2
6.4 Обработка эмбрионов и личинок 2
6.5 Вода 3
6.6 Тестируемые растворы 3
7 Процедура тестирования 3
7.1 Условия воздействия 3
7.1.1 Продолжительность 3
7.1.2 Загрузка 3
7.1.3 Температура и освещение 4
7.1.4 Кормление 4
7.1.5 Тестируемые концентрации 4
7.1.6 Контрольные группы 4
7.1.7 Частота аналитических определений и измерений 4
7.1.8 Наблюдения 4
8 Данные и отчет о проведении теста 5
8.1 Обработка результатов 5
8.2 Интерпретация результатов 5
8.3 Отчет о проведении теста 5
Приложение А (рекомендуемое) Требования к кормлению и содержанию групп и тестовых особей рыб рекомендуемых видов 8
Приложение Б (рекомендуемое) Условия проведения теста, продолжительность и критерии выживаемости для особей рыб рекомендуемых видов 9
Приложение В (рекомендуемое) Некоторые химические характеристики воды, пригодной для проведения теста 10
Приложение Г (рекомендуемое) Требования к кормлению и содержанию групп и тестовых особей рыб рекомендуемых видов 11
Приложение Д (рекомендуемое) Условия проведения и продолжительность теста, критерии выживаемости для особей рыб рекомендуемых видов 13

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

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Определение токсичности для рыб на ранних стадиях развития

Testing of chemicals of environmental hazard. Fish, Early-Life Stage Toxicity Test

Дата введения — 2014—08—01

1 Область применения

Настоящий стандарт является руководством по определению токсичности химических веществ для рыбы на ранних стадиях развития (икра, личинки, эмбрионы и мальки). Тесты, проводимые на рыбе на ранних стадиях ее развития, направлены на определение летального и сублетального воздействия химических веществ. Информацию, полученную в ходе теста, используют для последующей оценки хронического летального и сублетального воздействия химических веществ.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины с соответствующими определениями:

2.1 **наименьшая наблюдаемая эффективная концентрация (LOEC):** Минимальная концентрация исследуемого вещества, при которой наблюдается статистически значимое воздействие (при $p < 0,05$) по сравнению с контрольным тестом в пределах установленного периода экспозиции. Все тестовые концентрации исследуемого вещества, превышающие LOEC, должны иметь токсический эффект, равный или больше наблюдаемого при LOEC.

2.2 **неэффективная наблюдаемая концентрация (NOEC):** Концентрация исследуемого вещества, находящаяся сразу под LOEC, которая не имеет никакого статистически значимого эффекта по сравнению с контрольным тестом в пределах установленного периода экспозиции.

3 Принцип теста

3.1 Рыба на ранних стадиях ее развития подвергается воздействию растворенного в воде исследуемого вещества в различных концентрациях в определенном диапазоне, предпочтительно в проточных условиях или, если это возможно, в полустатичных условиях. Тест начинают с того, что помещают оплодотворенную икру в тестовые сосуды, и продолжают, по крайней мере, до того момента, пока все рыбы из контрольной группы не перейдут на свободное питание. Затем оценивают летальные и сублетальные воздействия и сравнивают их с контрольными величинами для определения наименьшей наблюдаемой эффективной концентрации (LOEC) и неэффективной наблюдаемой концентрации (NOEC).

4 Информация об исследуемом веществе

4.1 Информация об исследуемом веществе должна содержать сведения о результатах испытаний на острую токсичность, проведенных на особях рыб выбранного вида (ГОСТ 32473). Также должны быть известны растворимость в воде и давление паров исследуемого вещества. Количественное определение исследуемого вещества в тестируемых растворах необходимо проводить с помощью достоверного аналитического метода с известной точностью и пределом обнаружения.

Издание официальное

4.2 Полезной может быть также информация о:
- структурной формуле исследуемого вещества;
- чистоте исследуемого вещества;
- стабильности в воде и на свету;
- константе диссоциации pK_a;
- коэффициенте распределения н-октанол/вода K_{ow};
- результатах испытания на потенциальную способность к биоразложению (ГОСТ 32295).

5 Достоверность теста

5.1 Тест считается достоверным в случае, если выполняются следующие условия:

- концентрация растворенного кислорода должна составлять от 60 до 100 % от степени насыщения воздуха при заданных условиях в течение всего теста;

- температура воды в тестовых сосудах во все последующие дни теста не должна отличаться более чем на ± 1,5 °С и должна сохраняться в диапазоне, рекомендуемом для тестовых видов рыб (приложения Б и Д);

- должно быть представлено подтверждение того, что концентрация исследуемого вещества в растворе удовлетворительно поддерживается в пределах ± 20 % от средних измеренных значений;

- полная выживаемость оплодотворенной икры в контрольной группе; в контрольном тесте с раствором, содержащим только солюбилизатор (растворитель, эмульгатор или диспергатор), выживаемость должна превышать пределы или быть равной пределам выживаемости, определенным в приложениях Б и Д;

- использование солюбилизатора (растворителя, эмульгатора или диспергатора) не должно оказывать существенное воздействие на выживаемость или являться причиной других негативных воздействий на ранние стадии развития рыбы.

6 Описание метода

6.1 Оборудование

6.1.1 Для проведения тестирования могут использоваться любые сосуды, изготовленные из стекла, нержавеющей стали или другого химически инертного материала. Все сосуды, используемые в тесте, должны быть изготовлены из одного и того же материала. Размеры сосудов должны обеспечивать соблюдение критериев загрузки, приведенных в п. 7.1.2. Тестовые сосуды нельзя подвергать нежелательному воздействию.

6.2 Выбор видов

6.2.1 Рекомендуемые для использования при тестировании виды рыб приведены в таблице 1. Помимо этого, можно также использовать и другие виды (примеры приведены в таблице 2), но в подобном случае тестовые процедуры необходимо адаптировать к соответствующим тестовым условиям. В отчете о проведении теста должно быть приведено обоснование выбора тестового вида и экспериментального метода.

6.3 Содержание рыб

6.3.1 Требования к кормлению и содержанию приведены в приложении А.

6.4 Обработка эмбрионов и личинок

6.4.1 Первоначально эмбрионы и личинки могут быть в пределах тестового сосуда помещены в небольшие контейнеры, изготовленные из стекла или нержавеющей стали и оснащенные сеткой или концевыми отверстиями для прохождения через них потока тестируемого раствора. Нетурбулентное течение потока тестируемого раствора через контейнеры может обеспечиваться путем остановки механизма, перемещающего контейнеры вверх и вниз. При этом рыбы должны быть постоянно погружены в тестируемый раствор.

Оплодотворенная икра лососевых рыб может быть размещена на подставках или сетках с отверстиями достаточно большого диаметра для того, чтобы личинки могли свободно проходить вниз после вылупливания.

6.4.2 Если для удержания икры в пределах тестового сосуда используются контейнеры, подставки или сетки, то данные ограничители необходимо удалять после вылупливания личинок (приложение А), за исключением тех случаев, когда сетки необходимо оставить для предотвращения уноса рыбы из тестового сосуда. Если при замене тестируемого раствора необходимо переносить личинки в другой тестовый сосуд, нельзя подвергать их воздействию воздуха, также нельзя использовать сетки для извлечения рыбы из контейнеров. Выбор времени для переноса личинок зависит от используемого вида, для некоторых видов перенос личинок не требуется.

6.5 Вода

6.5.1 Любая вода, в которой тестовые виды демонстрируют выживаемость, по крайней мере в пределах, указанных в приложениях Б и Д, является пригодной для проведения тестирования. Качество воды должно быть постоянным на протяжении всего теста. Для гарантии того, что вода не оказывает негативного воздействия на результаты теста (в частности, не способствует комплексообразованию исследуемого вещества) или на тестовый вид, необходимо периодически отбирать пробы воды для анализа. Если известно, что вода обладает постоянным качеством, анализы содержания тяжелых металлов (меди, свинца, цинка, ртути, кадмия, никеля), основных анионов и катионов (кальция, магния, натрия, калия, хлора и сульфат-иона), пестицидов, полного органического углерода и взвешенных частиц должны проводиться один раз в три месяца. Некоторые химические характеристики воды, пригодной для проведения теста, приведены в приложении В.

6.6 Тестируемые растворы

6.6.1 Для проведения теста в проточных условиях требуется система, которая непрерывно распределяет и разбавляет основной раствор исследуемого вещества (дозирующий насос, автоматический разбавитель) для обеспечения необходимой концентрации исследуемого вещества в тестовых сосудах. Расходы основного раствора и воды должны измеряться в определенные промежутки времени в течение теста и не должны изменяться более чем на 10 %. Подходящими считаются расходы, равные как минимум пяти объемам тестового сосуда, за 24 ч.

6.6.2 Для подготовки основного раствора соответствующей концентрации может потребоваться использование солюбилизатора (растворителя, эмульгатора или диспергатора).

6.6.3 При проведении теста в полустатичных условиях могут использоваться две различные процедуры обновления тестируемого раствора. Либо новый тестируемый раствор готовят в чистом сосуде и выжившую икру и личинки аккуратно переносят в новый сосуд, либо икру и личинки оставляют в тестовых сосудах, при этом пропорционально заменяя как минимум две трети тестируемого раствора.

7 Процедура тестирования

7.1 Условия воздействия

7.1.1 Продолжительность

Тест необходимо проводить как можно скорее после оплодотворения икры. Предпочтительно погружать эмбрионы в тестируемые растворы прежде, чем начнется разрыв бластодиска, или как можно раньше после этой стадии. Тест должен продолжаться по крайней мере до тех пор, пока все особи рыб в контрольном тесте не перейдут на свободное кормление. Продолжительность теста зависит от выбранного вида рыб. Рекомендуемая продолжительность теста для выбранного виды рыб приведена в приложениях Б и Д.

7.1.2 Загрузка

Количество оплодотворенной икры в начале теста должно быть достаточным для соблюдения статистических требований. Икра должна быть распределена между тестовыми сосудами случайным образом. Для тестирования одной концентрации необходимо использовать как минимум 60 икринок, разделенных на две равные порции между двумя параллельными тестовыми сосудами. Уровень загрузки (количество биомассы на объем тестируемого раствора) должен быть достаточно низким для того, чтобы концентрация растворенного кислорода в тестируемом растворе, составляющая как минимум 60 % от величины насыщения воздуха при данных условиях, могла поддерживаться без дополнительной аэрации. Для проведения теста в проточных условиях рекомендуется скорость загрузки, не превышающая 0,5 г/л тестируемого раствора в сутки (24 ч), загрузка не должна превышать 5 г/л раствора в любое время теста.

7.1.3 Температура и освещение

7.1.3.1 Параметры температуры и освещенности должны соответствовать выбранному виду рыб (приложение Б).

7.1.4 Кормление

7.1.4.1 Выбор корма и периодов кормления имеет большое значение. Важно, чтобы на каждой стадии тестирования рыбам предоставлялся правильный корм в подходящее время и в количестве, необходимом для поддержания нормального развития. Должно обеспечиваться свободное кормление с минимальными излишками пищи. Излишки пищи и отходы жизнедеятельности рыб необходимо вовремя убирать из тестового сосуда для того, чтобы предотвратить его загрязнение. Требования к кормлению и содержанию рыб приведены в приложении А, однако данные рекомендации непрерывно пересматриваются для улучшения кормления и оптимизации роста рыб.

7.1.5 Тестируемые концентрации

7.1.5.1 Используют пять концентраций исследуемого вещества, образующих геометрическую прогрессию со знаменателем, не превышающим 3.2. При выборе диапазона тестируемых концентраций необходимо учитывать кривую зависимости LC_{50} от периода экспозиции в испытании на острую токсичность. В пороговых тестах можно использовать менее пяти концентраций или более узкий диапазон концентраций. При использовании менее пяти концентраций в отчете о проведении теста должно приводиться соответствующее обоснование. Концентрации исследуемого вещества, превышающие LC_{50} (96 ч) или 10 мг/л, не тестируются.

7.1.5.2 При использовании солюбилизатора (растворителя, эмульгатора или диспергатора), его концентрация не должна превышать 0,1 мг/л и должна быть одинаковой во всех тестовых сосудах. Однако, следует по возможности избегать использования солюбилизатора (растворителя, эмульгатора или диспергатора).

7.1.6 Контрольные группы

7.1.6.1 В дополнение к основному тесту проводят один тест с раствором, не содержащим исследуемое вещество, и при необходимости один контрольный тест с солюбилизатором (растворителем, эмульгатором или диспергатором).

7.1.7 Частота аналитических определений и измерений

7.1.7.1 Во время теста для соблюдения критериев достоверности регулярно должны проверяться концентрации исследуемого вещества. Требуется проводить как минимум пять определений. В тестах, продолжающихся более 30 дней, определения должны проводиться как минимум один раз в неделю. Образцы необходимо фильтровать (например, с использованием фильтра с диаметром пор 0,45 мкм) или центрифугировать для гарантии того, что определения проводятся для вещества в истинном растворе.

7.1.7.2 Во время теста концентрация растворенного кислорода, pH, жесткость, соленость и температура должны измеряться во всех тестовых сосудах. Концентрация растворенного кислорода, соленость и температура должны измеряться еженедельно, pH и жесткость — в начале и конце теста. Для одного тестового сосуда предпочтительно постоянно измерять температуру. Для контрольных сосудов используются аналогичные параметры загрузки.

7.1.8 Наблюдения

7.1.8.1 Стадия эмбрионального развития: стадия эмбрионального развития при подвергании рыб воздействию исследуемого вещества должна быть проверена с максимальной точностью. Это может быть сделано с использованием репрезентативной пробы икры, сохраненной и очищенной надлежащим образом.

7.1.8.2 Вылупливание и выживаемость: наблюдения за вылупливанием и выживаемостью должны проводиться как минимум один раз в день, количество выживших рыб должно быть зарегистрировано. Мертвые эмбрионы, личинки и мальки должны удаляться из тестируемого раствора немедленно при обнаружении. При удалении мертвых рыб необходимо действовать особенно аккуратно с тем, чтобы не задеть или не повредить икру или личинок, являющихся чрезвычайно чувствительными. Используют следующие критерии гибели рыб:

- для икры: особенно на ранних стадиях развития, заметная потеря полупрозрачности и изменения в окраске, вызванные коагуляцией и осаждением белка, приводящими к непрозрачной белой окраске;
- для эмбрионов: отсутствие движения тела и отсутствие биения сердца;
- для личинок и мальков: неподвижность и отсутствие дыхательных движений, отсутствие биения сердца, белая непрозрачная окраска центральной нервной системы, отсутствие реакции на механические стимуляторы.

7.1.8.3 Аномальный внешний вид: количество личинок или рыб с необычной формой тела должно быть зарегистрировано в соответствующие периоды наблюдения в зависимости от продолжительности теста, природа отклонений должна быть описана. Следует отметить, что аномальные эмбрионы и личинки появляются естественным образом, и их количество в контрольной группе для некоторых видов может составлять несколько процентов. Аномальные эмбрионы и личинки должны удаляться из тестового сосуда только в случае их гибели.

7.1.8.4 Аномальное поведение: аномальное поведение, в частности гипервентиляция легких, отсутствие координации при плавании, нетипичная неподвижность и нетипичное пищевое поведение должны быть зарегистрированы в соответствующие периоды наблюдения в зависимости от продолжительности теста. Подобные признаки аномального поведения могут помочь в интерпретации данных о смертности и повлиять на решение относительно увеличения периода экспозиции сверх рекомендуемой продолжительности.

7.1.8.5 Вес: по окончании теста все выжившие рыбы должны быть взвешены. Предпочтительно измерять вес индивидуально, но если особи рыб очень малы, их можно взвешивать по группам из одного тестового сосуда. Предпочтительным является определение сухого веса (высушивание проводят при 60 °С в течение 24 ч).

7.1.8.6 Длина: по окончании теста рекомендуется проводить измерения индивидуальной длины рыб; могут использоваться стандартная длина по Смиту (длина рыбы от начала головы с закрытым ртом до выемки хвостового плавника) или полная длина. Если у рыб обнаружена эрозия хвостового плавника, то необходимо измерять стандартную длину.

Проведение наблюдений приводит к получению следующих данных, пригодных для статистической обработки:

- совокупная смертность;
- количество здоровых рыб по окончании теста;
- время начала и окончания вылупливания;
- количество вылупливающихся личинок в день;
- длина и вес выживших личинок;
- количество деформированных личинок;
- количество рыбы, демонстрирующей аномальное поведение.

8 Данные и отчет о проведении теста

8.1 Обработка результатов

8.1.1 Рекомендуется, чтобы специалист по статистической обработке данных участвовал в организации и проведении анализа результатов теста, поскольку в структуру теста могут вноситься изменения, например может изменяться количество тестовых сосудов, количество исследуемых концентраций, начальное количество оплодотворенной икры и требования к измеряемым параметрам.

8.1.2 Для статистической обработки результатов необходимо использовать дисперсионный анализ и таблицы статистической сопряженности признаков. Для того чтобы провести сравнение результатов для отдельных концентраций и контрольных тестов, необходимо использовать метод Даннетта, согласно которому изменчивость между тестовыми сосудами является достаточно низкой.

8.2 Интерпретация результатов

8.2.1 Результаты теста должны интерпретироваться с учетом того, что измеряемые концентрации исследуемого вещества могут находиться на уровне, близком к пределу обнаружения аналитического метода.

8.3 Отчет о проведении теста

8.3.1 Отчет о проведении теста должен содержать информацию об:

исследуемом веществе:

- агрегатное состояние, физическая природа и при необходимости физико-химические свойства;
- данные о химической идентификации.

тестируемых видах:

- научное наименование, штамм, источник и метод сбора оплодотворенной икры, дальнейшая обработка;

условиях проведения теста:

- используемая процедура теста (например, полустатичные, проточные условия, объем загрузки);
- периоды освещения;
- количество тестовых и параллельных сосудов;
- метод приготовления основных растворов и частота обновления тестируемого раствора (если используется растворитель, то могут быть указаны его наименование и концентрация);
- номинальные тестовые концентрации, средние значения измеряемых величин концентраций и их стандартные отклонения для тестовых сосудов и метода, при использовании которого они были получены, а также доказательства того, что измерения относятся к концентрациям исследуемого вещества в истинном растворе;
- характеристики воды: pH, жесткость, температура, концентрация растворенного кислорода, остаточное содержание хлора (если измеряется), полный органический углерод, содержание взвешенных частиц, соленость тестируемого раствора (если измеряется) и любые другие измеряемые параметры;
- качество воды в тестовых сосудах: pH, жесткость, температура и концентрация растворенного кислорода;
- подробные сведения о кормлении (например, тип корма, источник, количество и частота кормления).

Результаты теста:

- подтверждение того, что контрольные группы полностью удовлетворяют критериям выживаемости для различных тестируемых видов рыб (приложения Б и Д);
- данные о смертности и выживаемости для икры, эмбрионов и личинок и общий показатель выживаемости;
- дни вылупливания и количество личинок;
- данные о длине и весе рыб;
- описание морфологических отклонений, если они присутствуют;
- описание поведенческих отклонений, если они присутствуют;
- статистический анализ и обработка данных;
- неэффективная наблюдаемая концентрация (NOEC);
- наименьшая наблюдаемая эффективная концентрация (LOEC) для каждого отклика;
- зависимость концентрация — отклик и прочие кривые.

Обсуждение результатов.

Таблица 1 — Виды рыб, рекомендуемые для использования при тестировании

Пресная вода	Соленая вода
Oncorhynchus mykiss Форель радужная	**Cyprinodon variegates** Карпозубик изменчивый
Pimephales promelas Гольян бычеголовый	
Brachydanio rerio Данио рерио	
Oryzias latipes Медка японская	

Таблица 2 — Утвержденные виды рыб, подходящие для использования при тестировании[1)]

Пресная вода	Соленая вода
Oncorhynchus kisutch Кижуч	**Menidia menidia** Менидия атлантическая
Oncorhynchus tschawytscha Чавыча	**Menidia peninsulae** Tidewater silverside
Salmo trutta Кумжа	
Salmo salar Лосось благородный	
Salvelinus fontinalis Голец американский	
Salvelinus namaycush Голец-кристивомер озерный	
Esox lucius **Щука обыкновенная**	
Catostomus commersoni **Чукучан белый**	
Lepomis macrochirus **Солнечник синежаберный**	
Ictalurus punctatus **Сомик канальный**	
Jordanella floridae **Иорданелла флоридская**	
Gasterosteus aculeatus **Колюшка трехиглая**	
Cyprinus carpio **Карп**	

[1)] Требования к кормлению и содержанию групп и тестовых особей рыб, условия проведения теста, его продолжительность, критерии выживаемости для данных видов рыб приведены в приложениях А, Б, Г и Д.

Приложение А
(рекомендуемое)

Требования к кормлению и содержанию групп и тестовых особей рыб рекомендуемых видов

Таблица А.1 — Требования к кормлению и содержанию групп и тестовых особей рыб рекомендуемых видов

Вид	Питание					Время переноса после вылупливания	Время первого кормления
	потомство	суточные личинки	мальки				
			тип	количество	частота		
Пресная вода:							
Форель радужная Oncorhynchus mykiss	Trout food	нет[1]	Trout starter	4 % от массы тела в день	2—4 кормления в день	14—16 дней	19 дней
						после вылупливания или начала плавания	
Гольян бычеголовый Pimephales promelas	FBS[2]	BSN[3]	BSN48	—	Не ограничена	сразу после вылупливания 90 %	в течение 2 дней после вылупливания
Данио полосатый Brachydanio rerio	FSN48[4], flake food	протозоа[5], протеин[6]	BSN48	—	—	нет необходимости	6—7 дней после вылупливания
Медка японская Oryzias latipes	Flake food	BSN, flake food (протозоа или коловратки)	BSN48, flake food (или коловратки)	—	BSN — один раз в день; flake food — два раза в день, коловратки — один раз в день	от вылупливания до плавания	в течение 24 ч после вылупливания/начала плавания
Соленая вода:							
Карпозубик изменчивый Cyprinodon variegates	FBS или flake food	BSN	BSN48	—	2—3 кормления в день	не применяется	в течение одного дня после первого вылупливания

[1] Предличинки не требуют корма.

[2] — FBS — замороженные артемии; взрослые особи Artemia sp.

[3] — BSN — науплии; после вылупливания.

[4] — FSN48 — науплии; в возрасте 48 ч.

[5] Отфильтрованный от примесей других культур.

[6] Гранулы от процесса ферментации.

Приложение Б
(рекомендуемое)

Условия проведения теста, продолжительность и критерии выживаемости для особей рыб рекомендуемых видов

Таблица Б.1 — Условия проведения теста, продолжительность и критерии выживаемости для особей рыб рекомендуемых видов

Вид	Условия проведения теста			Рекомендуемая продолжительность теста	Выживаемость в контрольной группе (min, %)	
	температура, °С	минерализация, ‰	период освещенности, ч		вылупливание	после вылупливания
Пресная вода:						
Форель радужная Oncorhynchus mykiss	10 ± 2(а) 12 ± 2 (б)[1]		(в)	2 недели после свободного питания контрольных особей рыб (или 60 дней после вылупливания)	> 66 %	70 %
Гольян бычеголовый Pimephales promelas	25 ± 2		16	32 дня (или 28 дней после вылупливания)	> 66 %	70 %
Данио полосатый Brachydanio rerio	25 ± 2		12—16[4]	30 дней после вылупливания		70 %
Медак Oryzias latipes	24 ± 1(а) 23 ± 2 (б)[2]		12—16[4]	30 дней после вылупливания		80 %
Соленая вода:						
Cyprinodon variegates Карпозубик изменчивый	25 ± 2	15—30[3]	12—16[4]	32 дня (или 28 дней после вылупливания)	> 75 %	80 %

(а) — для эмбрионов;

(б) — для личинок и мальков;

(в) — темнота для личинок в течение одной недели после вылупливания, за исключением времени проверки, затем приглушенный свет в течение всего теста (световой период — 12 — 16 ч[4]).

[1] Для определенных видов радужной форели могут потребоваться другие температурные условия. Потомство должно содержаться при температуре содержания икры;

[2] Заменяет требования температурного контроля, ранее приведенные в стандарте.

[3] Для любого теста данный показатель должен соблюдаться на уровне ± 2 ‰.

[4] Для любых условий теста световой режим должен быть постоянным.

Приложение В
(рекомендуемое)

Некоторые химические характеристики воды, пригодной для проведения теста

Таблица В.1 — Некоторые химические характеристики воды, пригодной для проведения теста

Вещество	Концентрация
Взвешенные вещества	< 20 мг/л
Полный органический углерод	< 2 мг/л
Неионизированный аммоний	< 1 мг/л
Остаточный хлор	< 20 мг/л
Органофосфорные пестициды	< 50 нг/л
Органохлорные пестициды + полихлорированные бифенилы	< 50 нг/л
Полный органический хлор	< 25 нг/л

Приложение Г
(рекомендуемое)

Требования к кормлению и содержанию групп и тестовых особей рыб рекомендуемых видов

Таблица Г.1 — Требования к кормлению и содержанию групп и тестовых особей рыб рекомендуемых видов

Вид	Питание					Время переноса после вылупливания (при необходимости)	Время первого кормления
	потомство	суточные личинки	мальки				
			тип	количество	частота		
Пресная вода:							
Кижуч Oncorhynchus kisutch	Trout food	нет (а)	Trout starter	4 % от массы тела в день	2—4 кормления в день	26—36 дней после вылупливания или при плавании	при плавании после переноса
Чавыча Oncorhynchus tshawytscha	Trout food	нет	Trout starter	4 % от массы тела в день	2—4 кормления в день	26—36 дней после вылупливания или при плавании	23 дня после вылупливания при плавании
Кумжа Salmo trutta	Trout food	нет	Trout starter	4 % от массы тела в день	5 кормлений в день	21 день после вылупливания или при плавании	после начала плавания
Кумжа Salmo trutta	Trout food	нет	Trout starter	4 % от массы тела в день	5 кормлений в день	21 день после вылупливания или при плавании	после начала плавания
Лосось благородный Salmo salar	Trout food	нет	Trout starter	4 % от массы тела в день	5 кормлений в день	21 день после вылупливания или при плавании	после начала плавания
Голец американский Salvelinus fontinalis	Trout food	нет	Trout starter	4 % от массы тела в день	5 кормлений в день	21 день после вылупливания или при плавании	после начала плавания
Голец-кристивомер озерный Salvelinus namaycush	Trout food	нет	Trout starter	4 % от массы тела в день	5 кормлений в день	21 день после вылупливания или при плавании	после начала плавания
Щука обыкновенная Esox lucius	Мелкие гольяны	BSN48	Личинки рыб	—		ежедневный перенос личинок	1 неделя после вылупливания или плавания предличинок
Чукучан белый Catostomus commersoni	FBS	нет	BSN48	—	3 кормления в день	один перенос всех эмбрионов	7—8 дней после вылупливания или при плавании

Окончание таблицы Г.1

Вид	Питание				Время переноса после вылупливания (при необходимости)	Время первого кормления
	потомство	суточные личинки	мальки			
			тип	частота		
Пресная вода:						
Солнечник синежаберный Lepomis macrochirus	FBS, trout food	BSN	BSN48	3 кормления в день	—	после начала плавания
Сомик канальный Ictalurus punctatus	Catfish food	modified Oregon	modified Oregon	3 кормления в день	6—7 дней при 26 °С[1]	в течение 48 часов после плавания
Иорданелла флоридская Jordanella floridae	FBS, flake food, BSN	BSN48, flake food или протозоа/коловратки	BSN48, flake food	науплии — 1; flake food — 2/flake food и протозоа/коловратки — 1 раз в день	от вылупливания до плавания	в течение 24 часов после плавания
Колюшка трехиглая Gasterosteus aculeatus	тетрамин FBS	коловратки	BSN48, тетрамин	BSN48: 2—3 раза в день; тетрамин: 1 раз в день	несколько часов после вылупливания[1]	в течение 24 часов после плавания
Карп Cyprinus carpio	трубочник сублимационной сушки или trout food	BSN	BSN48, земля; Trout starter или flake food	3—4 кормления в день	после завершения первого вылупливания	36—48 часов после вылупливания
Соленая вода:						
Менидия атлантическая Menidia menidia	BSN48, flake food	дни 1—8, дни 9—11, дни 11	(б) BSN48 и (б)BSN48	2 кормления в день 2 кормления в день	не применяется	в течение 24 часов после первого вылупливания
Менидия атлантическая Menidia menidia	BSN48, flake food	дни 1—8, дни 9—11, дни 11	(б) BSN48 и (б) BSN48	2 кормления в день 2 кормления в день	не применяется	в течение 24 часов после первого вылупливания

FBS — замороженные артемии; взрослые особи Artemia sp.

BSN — науплии; после вылупливания;

BSN48 — науплии; в возрасте 48 часов;

(а) — предличинки не требуют корма;

(б) — коловратки *Brachionus plicatilis*.

[1] Рыба может быть отловлена стеклянной сифонной трубкой с внутренним диаметром 6 мм.

Приложение Д
(рекомендуемое)

Условия проведения и продолжительность теста, критерии выживаемости для особей рыб рекомендуемых видов

Таблица Д.1 — Условия проведения и продолжительность теста, критерии выживаемости для особей рыб рекомендуемых видов

Вид	Условия проведения теста		Рекомендуемая продолжительность теста	Выживаемость в контрольной группе (min %)	
	температура, °С	период освещенности, ч		вылупливание	выживаемость после вылупливания
Пресная вода:					
Кижуч Oncorhynchus kisutch	10 (а), 12 (б)	(в)	60 дней после вылупливания	> 66 %	70 %
Чавыча Oncorhynchus tshawytscha	10 (а), 12 (б)	(в)	60 дней после вылупливания	> 66 %	70 %
Кумжа Salmo trutta	10	(в)	60 дней после вылупливания	> 66 %	70 %
Лосось благородный Salmo salar	10	(в)	60 дней после вылупливания	> 66 %	70 %
Голец американский Salvelinus fontinalis	10	(в)	60 дней после вылупливания	> 66 %	70 %
Щука обыкновенная Esox lucius	7	(в)	32 дня после начала теста	> 66 %	70 %
Голец-кристивомер озерный Salvelinus namaycush	12—18	16	60 дней после вылупливания	> 66 %	70 %
Чукучан белый Catostomus commersoni	15	16	32 дня после начала теста	> 66 %	80 %
Солнечник синежаберный Lepomis macrochirus	28	16	32 дня после начала теста		75 %

Окончание таблицы Д.1

Вид	Условия проведения теста		Рекомендуемая продолжительность теста	Выживаемость в контрольной группе (min %)	
	температура, °С	период освещенности, ч		вылупливание	выживаемость после вылупливания
Сомик канальный Ictalurus punctatus	26	16	32 дня после начала теста		65 % (общее)
Иорданелла флоридская Jordanella floridae	24—26	16			
Колюшка трехиглая Gasterosteus aculeatus	18—20	12—16	28 дней	80 %	80 %
Карп Cyprinus carpio	21—25	12—16	28 дней после вылупливания	> 80 %	75 %
Соленая вода:					
Менидия атлантическая (г) Menidia menidia	22—25		28 дней	> 80 %	60 %
Менидия атлантическая (г) Menidia menidia	22—25		28 дней	> 80 %	60 %

(а) — для эмбрионов;

(б) — для личинок и мальков;

(в) — темнота для личинок в течение одной недели после вылупливания, за исключением времени проверки, затем приглушенный свет в течение всего теста (световой период — 12—16 часов, но постоянный режим для определенного теста);

(г) — соленость 20 ‰.

УДК 658.382.3:006.354 МКС 71.040.50

Ключевые слова: химическая продукция, воздействие на окружающую среду, окружающая среда, острая токсичность, личинки рыб, рыбы

Редактор *Г.Н. Симонова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.В. Бучная*
Компьютерная верстка *Е.А. Кондрашовой*

Сдано в набор 28.11.2019. Подписано в печать 04.12.2019. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 2,10.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,

117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31. к. 2.
gost.e-ecolog.ru stinfo.ru

gost.e-ecolog.ru