ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 58138— 2018

Удобрения органические

МЕТОДЫ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Методы определения личинок синантропных мух

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина» (ФГБНУ ВНИИП им. К.И. Скрябина) и Федеральным государственным бюджетным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт органических удобрений и торфа» (ФГБНУ ВНИИОУ)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 025 «Качество почв, грунтов и органических удобрений»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10 мая 2018 г. № 241-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «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, 2018

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Основные положения 2
4 Требования безопасности 2
5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы 3
6 Отбор, хранение и транспортирование проб 5
7 Приготовление растворов 6
8 Методы определения наличия яиц, личинок и куколок синантропных мух 7
9 Методы определения количества личинок и куколок синантропных мух в навозе 11
10 Методы определения жизнеспособности личинок синантропных мух 12
11 Метод установления количества личинок и куколок синантропных мух (интенсивность инвазии) . . 13
12 Метод исследования почвы на наличие личинок и куколок синантропных мух 13
Приложение А (справочное) Результаты паразитологического анализа органических удобрений 15
Библиография 16

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Удобрения органические

МЕТОДЫ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Методы определения личинок синантропных мух

Organic fertilizers. Methods of parasitological analysis.
Methods for determination of larvae of synanthropic flies

Дата введения — 2020—01—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на все виды органических удобрений, производимых на основе отходов животноводства, и содержит методы определения личинок синантропных мух.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 2 Селитра аммиачная. Технические условия

ГОСТ 12.1.007 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.018 Система стандартов безопасности труда. Пожаровзрывобезопасность статического электричества. Общие требования

ГОСТ 12.1.019 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 12.4.011 Система стандартов безопасности труда. Средства защиты работающих. Общие требования и классификация

ГОСТ 244 Натрия тиосульфат кристаллический. Технические условия

ГОСТ 490 Добавки пищевые. Кислота молочная Е270. Технические условия

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

ГОСТ 3118 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 3760 Реактивы. Аммиак водный. Технические условия

ГОСТ 4168 Реактивы. Натрий азотнокислый. Технические условия

ГОСТ 4174 Реактивы. Цинк сернокислый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 4233 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 4523 Реактивы. Магний сернокислый 7-водный. Технические условия

ГОСТ 4529 Реактивы. Цинк хлористый. Технические условия

ГОСТ 5556 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия

ГОСТ 5789 Реактивы. Толуол. Технические условия

ГОСТ 5962 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия

ГОСТ 6259 Реактивы. Глицерин. Технические условия

ГОСТ 6672 Стекла покровные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 6709 Вода дистиллированная. Технические условия

Издание официальное

ГОСТ 6995 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия

ГОСТ 9147 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 9284 Стекла предметные для микропрепаратов. Технические условия

ГОСТ 9412 Марля медицинская. Общие технические условия

ГОСТ 12026 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 16317 Приборы холодильные электрические бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 18481 Ареометры и цилиндры стеклянные. Общие технические условия

ГОСТ 19126 Инструменты медицинские металлические. Общие технические условия

ГОСТ 21239 (ИСО 7741—86) Инструменты хирургические. Ножницы. Общие требования и методы испытаний

ГОСТ 22867 Реактивы. Аммоний азотнокислый. Технические условия

ГОСТ 23932 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Общие технические условия

ГОСТ 25336 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 26713 Удобрения органические. Метод определения влаги и сухого остатка

ГОСТ 28498 Термометры жидкостные стеклянные. Общие технические условия. Методы испытаний

ГОСТ 29227 (ИСО 835-1—81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ Р 55878 Спирт этиловый технический гидролизный ректификованный. Технические условия

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

3 Основные положения

3.1 Паразитологический анализ органических удобрений проводят по показателям:

- общего количества обнаруженных личинок синантропных мух* в каждой анализируемой пробе (экз./кг, экз./см^3);
- количества жизнеспособных личинок синантропных мух определенных видов в количественном или процентном отношении к общей численности обнаруженных.

3.2 При обнаружении личинок синантропных мух их жизнеспособность определяют и подтверждают в соответствии с требованиями настоящего стандарта.

3.3 Классификация органических удобрений по результатам паразитологического анализа:

- чистые удобрения, которые не содержат жизнеспособных личинок синантропных мух различных видов в 100 г твердой фракции и осадка лабораторной пробы, массой не более 1 кг, или в 1—10 дм^3 жидкой консистенции лабораторной пробы, отбираемых в зависимости от технологий и степени очистки и анализируемых в трехкратной повторности;
- загрязненные удобрения, содержащие любое количество жизнеспособных личинок синантропных мух различных видов в 100 г твердой фракции и осадка лабораторной пробы, массой не более 1 кг, или в 1—10 дм^3 жидкой консистенции лабораторной пробы, отбираемых в зависимости от технологий и степени очистки и анализируемых в трехкратной повторности.

4 Требования безопасности

4.1 Сотрудники, выполняющие работу по отбору, доставке и анализу проб, должны иметь рабочую специальную одежду: халаты, фартуки, перчатки, резиновую обувь по ГОСТ 12.4.011. Рабочие халаты подлежат обмену на чистые по истечении каждой рабочей недели. Специальную одежду и обувь хранят в шкафах.

---

* Описание синантропных мух приведено в [1], [2].

Сотрудники должны быть обеспечены средствами и условиями для личной гигиены и обязаны соблюдать санитарно-гигиенические требования.

4.2 Требования безопасности при работе с химическими реактивами — по ГОСТ 12.1.007, с электрооборудованием — по ГОСТ 12.1.019.

Требования пожарной безопасности — по ГОСТ 12.1.018.

4.3 Помещение, в котором проводят анализы, должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией. Работы необходимо проводить в вытяжном шкафу с применением резиновых перчаток.

5 Средства измерений, вспомогательное оборудование, посуда, материалы и реактивы

Шкаф вытяжной.

Холодильник электрический бытовой, любого класса, позволяющий поддерживать температуру от минус 6 °С до плюс 5 °С, по техническим характеристикам и условиям эксплуатации соответствующий требованиям ГОСТ 16317.

Термостат электрический (ТС-1/80 СПУ или аналогичный), позволяющий поддерживать температуру от 20 °С до 60 °С с допустимой погрешностью ±0,4°С.

Центрифуга напольная (типа ЦЛС-31 М со сменным ротором) с частотой вращения от 1500 до 2500 об/мин.

Аппарат Бермана.

Столик с гнездами, в которые вставляют воронки.

Воронки стеклянные диаметром от 10 до 15 см по ГОСТ 25336.

Трубки резиновые длиной от 20 до 30 см.

Пробирки короткие по ГОСТ 1770.

Ситечки металлические.

Микроскоп биологический, предназначенный для исследования прозрачных препаратов в проходящем свете в светлом поле, обеспечивающий 100- и 400-кратное увеличение.

Столик нагревательный к микроскопу (столик Морозова).

Весы лабораторные с пределами допустимой абсолютной погрешности однократного взвешивания $\pm$5 мг и $\pm$10 мг.

Пинцеты анатомические.

Пинцеты хирургические.

Набор ареометров АОН-1 типа 1 (А1) с пределами измерений от 1,000 до 1,600 кг/см^3 по ГОСТ 18481.

Сита почвенные с размером диаметра ячеек 0,5; 0,25 и 0,3 мм^2.

Стаканы пластмассовые емкостью 30 см^3.

Петли металлические паразитологические диаметром от 8 до 9 мм.

Штатив лабораторный для пробирок.

Кюветы эмалированные.

Кюветы почковидные.

Спиртовка СЛ-1 по ГОСТ 25336.

Камеры счетные Горяева, ВИГИС.

Часы песочные на 3—5 мин или сигнальные.

Шпатели пластмассовые и металлические по ГОСТ 19126.

Ножницы анатомические.

Ножницы хирургические по ГОСТ 21239.

Прибор для уравновешивания центрифужных пробирок вместимостью от 10 до 100 см^3 (типа ПЦП).

Прибор вакуумного фильтрования ПВФ-142/ЭМ, ПВФ-142/Э.

Пробоотборник А.А. Черепанова.

Термометры технические стеклянные с пределом измерения температуры от 0 °С до 100 °С и от 100 °С до 200 °С по ГОСТ 28498.

Совки, лопаты портативные, пробоотборники.

pH-метр, обеспечивающий измерения с погрешностью не более 0,01 ед. pH.

Дозаторы пипеточные.

Шкаф сушильный лабораторный, обеспечивающий поддержание температуры от 0 °С до 105 °С с допустимой погрешностью ±2 °С.

Карандаши по стеклу (стеклографы).

Груши резиновые разных размеров.

Перчатки резиновые.

Фартук клеенчатый.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Бумага пергаментная.

Емкости для отбора проб воды, органических удобрений, навоза, навозных стоков, осадков, пригодные для обеззараживания из нейтральных материалов, канистры, ведра вместимостью 80 $дм^3$, тазы.

Клеенка, пленка полиэтиленовая, пакеты, мешки.

Вата медицинская по ГОСТ 5556.

Марля медицинская по ГОСТ 9412.

Стекла предметные размерами 25 × 75, 60 × 120 мм по ГОСТ 9284.

Стекла покровные размерами 18 × 18 мм, 24 × 24 мм по ГОСТ 6672.

Чашки биологические Петри по ГОСТ 25336.

Стаканы стеклянные лабораторные вместимостью 400 и 1000 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Чашки выпарные плоскодонные сферические вместимостью 1000 и 2500 $см^3$ по ГОСТ 25336.

Пипетки градуированные вместимостью от 1 до 10 $см^3$ и 50 $см^3$ по ГОСТ 29227.

Пипетки глазные.

Воронки стеклянные по ГОСТ 25336.

Цилиндры измерительные с носиком вместимостью 1,25 и 500 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Колбы конические вместимостью 50, 100 и 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Стекла часовые разных размеров по ГОСТ 23932.

Цилиндры градуированные с носиком на 100, 200, 500 и 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Палочки стеклянные.

Банки стеклянные с притертыми пробками разной вместимостью (не более 1000 $см^3$).

Ступки и пестики фарфоровые разных размеров по ГОСТ 9147.

Эксикаторы с притертой крышкой.

Стаканы стеклянные высокие с носиком (ВН) вместимостью 50, 100 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Стаканы аптечные вместимостью 50 и 100 $см^3$.

Пробирки центрифужные градуированные (ПЦГ) вместимостью 10 $см^3$ по ГОСТ 1770.

Кристаллизаторы стеклянные.

Натрия гидроокись по ГОСТ 4328.

Натрий хлористый по ГОСТ 4233.

Натрий хлористый, х.ч. на изотоническом растворе с массовой долей 0,85 % (жидкость Барбагалло).

Натрий азотнокислый по ГОСТ 4168.

Аммоний азотнокислый по ГОСТ 22867 или гранулированная аммиачная селитра по ГОСТ 2.

Цинк хлористый по ГОСТ 4529.

Формальдегид 40 %-ный.

Кислота соляная по ГОСТ 3118, х.ч.

Глицерин по ГОСТ 6259.

Аммиак.

Эфир этиловый (диэтиловый, серный).

Метиленовый синий, х.ч.

Карбол-фуксин.

Цинк сернокислый 7-водный по ГОСТ 4174.

Натрия тиосульфат по ГОСТ 244.

Толуол по ГОСТ 5789.

Спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ Р 55878.

Спирт этиловый ректификованный пищевой по ГОСТ 5962.

Спирт метиловый по ГОСТ 6995.

Кислота молочная по ГОСТ 490.

Индикаторы бумажные для определения pH 6-8 с интервалом деления 0,2 ед. pH.

Допускается применение других средств измерений, вспомогательного оборудования, не уступающих вышеуказанным по метрологическим и техническим характеристикам и обеспечивающих необходимую точность измерения, а также реактивов и материалов, по качеству не уступающих вышеуказанным.

6 Отбор, хранение и транспортирование проб

6.1 Точечные пробы отбирают не менее чем из трех точек (мест) партии органического удобрения на разных участках технологической линии производства, хранения, применения органических удобрений.

6.2 Отбор проб твердых видов органических удобрений

6.2.1 Точечные пробы твердых видов органических удобрений (подстилочного навоза, помета, компостов, твердой фракции бесподстилочного навоза, сухого навоза) отбирают из разных слоев штабелей, буртов. Предварительно по всей длине штабелей, буртов намечают сечения, из которых планируется отбор проб. Глубина отбора проб из каждого слоя — не менее 20 см. Точечные пробы отбирают из пяти точек каждого слоя. Масса точечных проб — не менее 100 г каждая. При отборе проб используют почвенные пробоотборники, лопаты, совки, шпатели. Точечные пробы помещают в ведра.

6.2.2 Из точечных проб составляют объединенную пробу, которую высыпают на клеенку, полиэтиленовую пленку, кальку или оберточную бумагу, удаляют посторонние включения, тщательно перемешивают и методом квартования сокращают до лабораторной пробы не более 1 кг, предназначенной для разных видов паразитологического анализа.

Лабораторную пробу органического удобрения помещают в полиэтиленовый мешок, снабжают этикеткой, тщательно изолированной от удобрения. На этикетке указывают:

- вид удобрения;
- обозначение настоящего стандарта;
- место отбора проб;
- дату отбора проб;
- номер объединенной пробы;
- количество точечных проб;
- массу удобрения, от которого отобрана проба;
- массу пробы;
- фамилию и подпись ответственного за отбор проб.

6.2.3 После отбора проб почвенные пробоотборники, лопаты, совки, шпатели, ведра тщательно очищают от остатков удобрений и дезинфицируют кипящей водой в течение 20 мин.

6.2.4 В процессе транспортирования и хранения лабораторных проб принимают меры по предупреждению возможности их загрязнения.

6.2.5 Паразитологический анализ лабораторных проб твердых видов органических удобрений проводят в день их доставки в лабораторию. При невозможности немедленного проведения анализов лабораторные пробы хранят в холодильнике при температуре не выше 5 °С не более 1 мес, предварительно определив влажность органического удобрения по ГОСТ 26713, либо при температуре от 0 °С до 20 °С в течение 2 сут, предварительно добавив в удобрения от 3 до 5 капель толуола по ГОСТ 5789.

Для предупреждения высыхания и гибели личинок синантропных мух удобрения увлажняют водой по мере потери влаги и вновь помещают для хранения в холодильник.

Допускается хранение лабораторных проб удобрений более 1 мес при применении консервирующих средств. удобрения пересыпают кристаллизатором, заливают раствором формалина с массовой долей 3 %, приготовленным на изотоническом растворе натрия хлористого с массовой долей 0,85 % (жидкость Барбагалло), или раствором соляной кислоты с массовой долей 3 %, после чего помещают в холодильник.

6.2.6 Из лабораторной пробы методом квартования готовят анализируемые пробы, предназначенные для проведения конкретного вида паразитологического анализа.

6.3 Отбор проб бесподстилочного навоза (помета)

6.3.1 Точечные пробы полужидкого, жидкого навоза (помета), навозных (пометных) стоков, жидкой фракции бесподстилочного навоза (помета) отбирают с помощью пробоотборника конструкции

А.А. Черепанова либо пробоотборника типа ПВК-1 с разной глубины навозохранилища, отстойников-накопителей, приемных резервуаров различных сооружений по обработке бесподстилочного навоза (помета). Объем точечной пробы — не менее 1 $дм^3$. Количество точечных проб — не менее шести. Перед отбором проб бесподстилочный навоз (помет) тщательно перемешивают механическими или пневматическими устройствами в течение 30 мин.

6.3.2 Отбор точечных проб бесподстилочного навоза (помета) возможен непосредственно из цистерны или разливочно-раздаточного устройства машины для внесения удобрений.

6.3.3 Точечные пробы бесподстилочного навоза (помета) сразу после отбора сливают в ведро либо емкость, тщательно перемешивают. Полученную объединенную пробу отстаивают не менее 30 мин. При хранении образуются осадок и надосадочная фракция (фильтрат 1), которую сливают в отдельное ведро. Осадок переносят на двойной марлевый фильтр и промывают водой. Полученный фильтрат 2 отстаивают 30 мин. Надосадочную фракцию (фильтрат 3) объединяют с фильтратом 1. Отстаивают 30 мин. Сливают (удаляют) 2/3 верхнего слоя отстоявшейся надосадочной фракции. Оставшуюся часть надосадочной фракции объединяют с осадками. Полученную таким образом лабораторную пробу объемом 1 $дм^3$ помещают в герметично закрывающуюся емкость.

6.3.4 Упакованные лабораторные пробы, снабженные этикетками (см. 6.2.2), доставляют в лабораторию для проведения анализов в день их отбора. Лабораторные пробы транспортируют в ящиках, имеющих гнезда для посуды.

6.4 Отбор и подготовка проб почвы

Точечные пробы с поверхности почвы (на глубине от 1 до 3 см) берут из затененных и освещенных солнцем участков шпателем, а с глубины не более 20 см — лопаточкой или буром. С каждого обследуемого участка одновременно по диагонали отбирают три—пять точечных проб по 100 г каждая.

Из точечных проб, взятых с одного участка на одной глубине, путем перемешивания получают объединенную пробу.

Из объединенной пробы получают лабораторные пробы массой от 50 до 100 г.

Лабораторные пробы помещают в банки с крышкой или целлофановые пакеты. Каждая проба должна иметь этикетку с указанием места отбора, даты, глубины, характера исследуемого участка (в тени или под солнцем, состав почвы, наличие растительности и другие). В лаборатории пробы помещают в холодильник или каждую из них пересыпают в кристаллизатор, заливают жидкостью Барбагалло.

В холодильнике почву хранят не более 1 мес при температуре 4 °С, периодически аэрируя и увлажняя ее.

7 Приготовление растворов

7.1 Приготовление флотационных растворов

В качестве флотационных растворов, с помощью которых из анализируемых проб фекалий выделяют личинок синантропных мух, используют насыщенные растворы солей. Наибольшей флотационной способностью обладают растворы солей при температуре от 20 °С до 22 °С. Плотность растворов устанавливают ареометрами по ГОСТ 18481. Правильность приготовленных растворов устанавливают также по образованию кристаллической пленки на поверхности раствора и выпадению кристаллов на дно сосуда.

7.1.1 Приготовление насыщенного раствора хлористого натрия плотностью от 1,18 до 1,19 г/ $см^3$

Растворяют в 1 $дм^3$ кипящей дистиллированной воды 420 г хлористого натрия по ГОСТ 4233.

Затем раствор охлаждают и фильтруют через воронку с ватой или двуслойной марлей в чистую стеклянную посуду. Ареометром проверяют плотность раствора, которая должна быть от 1,18 до 1,19 г/ $см^3$.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.2 Приготовление раствора нитрата аммония плотностью от 1,28 до 1,29 г/$см^3$

Растворяют в 1 $дм^3$ горячей дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в эмалированной посуде при постоянном размешивании и подогревании 1500 г нитрата аммония по ГОСТ 22867 или аммиачной селитры по ГОСТ 2.

Затем раствор охлаждают и фильтруют в чистую посуду. Ареометром проверяют плотность раствора, которая должна быть от 1,28 до 1,29 г/см^3.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.3 Приготовление раствора сульфата магния плотностью от 1,28 до 1,29 г/см^3

Растворяют в 1 дм^3 дистиллированной воды и остужают 920 г сульфата магния по ГОСТ 4523.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.4 Приготовление смеси хлористого натрия и нитрата аммония плотностью от 1,27 до 1,28 г/ см^3

Растворяют в 1 дм^3 кипящей дистиллированной воды 250 г хлористого натрия по ГОСТ 4233 и 550 г нитрата аммония по ГОСТ 22867.

Остывший раствор фильтруют в чистую посуду, ареометром проверяют плотность, которая должна быть от 1,27 до 1,28 г/ см^3.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.5 Приготовление смеси азотнокислого натрия и сернокислого магния плотностью от 1,27 до 1,28 г/см^3

Растворяют в 1 дм^3 кипящей дистиллированной воды 500 г азотнокислого натрия по ГОСТ 4168 и 960 г сернокислого магния по ГОСТ 4523.

Остывший раствор фильтруют в чистую посуду, ареометром проверяют плотность, которая должна быть от 1,27 до 1,28 г/см^3.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

7.1.6 Приготовление раствора сернокислого цинка плотностью 1,24 г/см^3

Растворяют в 1 дм^3 горячей дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в эмалированной посуде при постоянном размешивании и подогревании 400 г сернокислого цинка по ГОСТ 4174. Через 24 ч раствор может дать осадок, и его плотность понизится.

Раствор готовят непосредственно перед определением.

8 Методы определения наличия яиц, личинок и куколок синантропных мух

Примечание — Описание личинок и куколок синантропных мух приведено в [3].

8.1 Визуальный метод определения личинок и куколок синантропных мух

Метод основан на установлении наличия яиц, личинок и куколок синантропных мух в образцах органических удобрений и навоза при просмотре под лупой или микроскопом, используя соответствующий определитель*.

8.1.1 Пробу массой 10 г по частям перемещают в чашки Петри и просматривают под лупой или микроскопом, перебирая содержимое препаравальной иглой и пинцетом. Найденные при исследовании яйца, личинки и куколки мух собирают отдельно, используют для дальнейшего культивирования и видовой идентификации.

Яйца синантропных мух имеют размеры 1 × 0,8 мм, личинки 1-го возраста длиной 2 мм, 2-го возраста — 4 мм и 3-го возраста — от 1 до 2 см, куколки — от 0,8 до 1,4 см.

8.2 Ларвоскопические методы определения личинок синантропных мух

Ларвоскопические методы основаны на выделении личинок синантропных мух в навозе от разных видов животных и в определении по ним видовой принадлежности. Методы ларвоскопии для определения личинок синантропных мух по исполнению несложные. Пробы навоза обрабатывают различными способами, выделяют личинок синантропных мух разного возраста, которых исследуют под лупой или микроскопом.

8.2.1 Метод Бермана-Орлова для определения личинок синантропных мух

Из доставленных в лабораторию проб навоза отбирают 10 г, заворачивают в кусочек марли и помещают в воронку на металлическое сито. Предварительно в воронку наливают дихлорированную воду температурой 40 °С. Заполненный пробами навоза и водой аппарат оставляют при комнатной температуре на 3 ч. Лучше материал заложить в конце рабочего дня и оставить до утра следующего дня. Ввиду того что личинки мух обладают термотропностью, они перемещаются из пробы навоза в теплую

* См. [4].

воду и оседают на дно пробирки. Перед исследованием пробирки осторожно разъединяют с резиновой трубкой и быстрым движением, не встряхивая осадок на дне, сливают жидкость из пробирки до осадка. Таким образом снимают все пробирки в аппарате и ставят их в штатив. Осадок разливают на часовые или предметные стекла и микроскопируют. При осмотре под микроскопом личинки мух подвижные, поэтому их легко найти.

Эффективность данного метода для выявления личинок мух составляет более 90 %.

8.2.2 Метод Вайда для установления наличия личинок синантропных мух разного возраста

Метод достаточно прост. На часовое или предметное стекло кладут 5 г навоза, взятого из навозохранилища, и добавляют небольшое количество теплой воды (приблизительно 40 °С). По истечении 40 мин навоз удаляют, оставшуюся жидкость на стекле исследуют под микроскопом на наличие личинок синантропных мух. Эффективность этого метода для выявления личинок синантропных мух разного возраста при интенсивной инвазии составляет 70 %.

8.2.3 Метод Шильникова представляет собой упрощенный метод Бермана, который прост и удобен для выполнения в любых условиях. Для постановки проб используют обыкновенные медицинские градуированные стаканчики емкостью 30 $см^3$, имеющие форму усеченного конуса и сферическое дно, выпуклость дна направлена кверху. Пробы навоза от 5 до 10 г заворачивают в марлевые салфетки, раскладывают по стаканчикам, заливают теплой водой и оставляют на 8—10 ч, причем предпочтительнее закладывать пробы в стаканчики в конце рабочего дня и утром следующего дня исследовать. По истечении отмеченного времени пробы осторожно вынимают, а жидкость отстаивают в течение от 10 до 15 мин. Затем стаканчики медленно наклоняют, сливают воду до появления мути и дают отстояться остатку жидкости на протяжении от 5 до 10 мин. После этого стаканчик наклоняют и из него пипеткой отсасывают верхний прозрачный слой воды до тех пор, пока в пипетку не начнет всасываться осадок на дне. После удаления лишней воды на дне стаканчика остается от 0,5 до 1 $см^3$ жидкости, которую пипеткой каплями наносят на предметное или часовое стекло и исследуют под микроскопом.

Когда в стаканчике получается густой осадок, наливают воду, осадок взбалтывают, дают отстояться в течение от 10 до 15 мин, а затем воду сливают. Осадок лучше просматривать порциально, каплями, так как при этом затрачивается меньше времени и концентрация личинок на единицу площади в них довольно большая.

Эффективность метода для выявления личинок синантропных мух разного возраста приближается к методу Бермана и составляет 80 %.

8.3 Седиментационные методы определения личинок и куколок синантропных мух

Седиментационные методы основаны на осаждении личинок и куколок синантропных мух в процессе обработки проб навоза дистиллированной водой или другими жидкостями и исследовании осадка.

Данные методы применяют для определения личинок и куколок синантропных мух в навозе жвачных животных, реже — других животных.

8.3.1 Метод последовательного промывания для определения личинок и куколок синантропных мух в навозе жвачных животных

В навозе крупного рогатого скота помимо яиц гельминтов, цист паразитических простейших (буксгонеллы), ооцист кокцидий могут содержаться личинки и куколки мух. Анализируемую пробу навоза массой 5 г помещают в стакан вместимостью от 50 до 100 $см^3$, вливают небольшое количество дистиллированной воды и палочкой размешивают до получения жидкой кашицеобразной массы, затем добавляю дистиллированную воду порциями до объема 50 $см^3$ при постоянном размешивании.

Смесь фильтруют, пропуская через ситечко в другой стакан, и отстаивают в течение 5 мин до образования осадка, после чего верхний слой жидкости сливают до осадка, а к осадку добавляют снова такое же количество дистиллированной воды и отстаивают в течение 5 мин, после чего жидкость снова сливают до осадка.

Такие операции повторяют до тех пор, пока надосадочный слой воды не будет прозрачным. Последний раз верхний слой сливают или отбирают спринцовкой, опустив наконечник в стакан, не доводя до дна от 1,5 до 2,0 см, а осадок поочередно разливают на часовые или предметные стекла и исследуют под лупой или микроскопом. Найденные при исследовании личинки и куколки синантропных мух собирают отдельно в чашки Петри для культивирования с помощью пипетки, а для подсчета и хранения с помощью пинцета. Хранят личинок мух в 70-градусном этиловом спирте в колбах с плоским дном.

8.3.2 Метод формалин-эфирной или уксусной седиментации

В основе методов седиментации (осаждения) лежит разность удельного веса используемых химических реактивов и личинок и куколок синантропных мух, удельный вес которых высокий, и они концентрируются в осадке.

Следует тщательно перемешать пробу навоза массой 5 г с 10%-ным раствором формалина в стакане вместимостью от 50 до 100 $см^3$. В центрифужную пробирку необходимо поместить воронку, на нее — два слоя марли (можно также использовать металлические или пластмассовые ситечки). Следует профильтровать не менее 8 мл суспензии из чашки (если объем фильтрата будет меньше, необходимо добавить 10%-ный раствор формалина не более 8 мл). Должны долить в пробирку 2 мл эфира и закрыть пробкой. Далее следует энергично встряхивать пробирку не менее 30 с, после чего центрифугировать при 1500 об/мин в течение 2 мин или 2000 об/мин в течение 1 мин. После центрифугирования образуются четыре слоя: осадок, раствор формалина, коагулированный белок, фекальный детрит — «пробка», а сверху эфир с растворенными в нем жирами. Верхние три слоя необходимо удалить опрокидыванием пробирки, пипеткой отобрать нижнюю часть осадка, поместить на предметное стекло и микроскопировать при малом, затем при большом увеличении. В методе формалин-эфирной седиментации формалин можно заменить 5 %-ным водным раствором уксусной кислоты. Ход исследования остается без изменений.

8.4 Флотационные методы

Флотационные методы основаны на определении наличия яиц и личинок синантропных мух, всплывающих на поверхность флотационного раствора с испытуемым материалом, с помощью микроскопа.

При определении наличия личинок синантропных мух под микроскопом используют соответствующий определитель*.

8.4.1 Метод Фюллеборна для определения личинок синантропных мух

Анализируемую пробу массой 3 г заливают в ступке 10 $см^3$ насыщенного раствора хлористого натрия по 7.1.1, тщательно размешивают стеклянной палочкой и по мере размешивания добавляют раствор, доводя раствор до 45 $см^3$. Затем процеживают через крупноячеистое сито в чистый стакан и отстаивают в течение 30 мин. За время флотации личинки синантропных мух, удельный вес которых меньше веса насыщенного раствора хлористого натрия, всплывают на поверхность и концентрируются на поверхностной пленке.

Затем, прикасаясь металлической петлей к разным местам поверхностной взвеси, снимают три капли раствора, наносят на предметное стекло и исследуют под микроскопом. Для недопущения быстрого высыхания и кристаллизации капель на предметных стекла к ним добавляют по небольшой капле 50 %-ного водного раствора глицерина.

Металлическую петлю обжигают над пламенем спиртовки в начале и конце испытаний. При массовых исследованиях каплю на предметном стекле покровным стеклом не накрывают, а металлическую петлю промывают резкими движениями в стаканчике с дистиллированной водой.

8.4.2 Метод Котельникова-Хренова для определения личинок синантропных мух

Исследования проводят с помощью флотационного раствора нитрата аммония по 7.1.2 с изменением времени отстаивания после фильтрования жидкости до 10—15 мин.

8.4.3 Комбинированный флотационный метод для определения личинок синантропных мух

Исследования проводят с помощью комбинированного флотационного раствора по 7.1.4 с изменением времени отстаивания после фильтрования жидкости до 10—15 мин.

8.5 Комбинированные (седиментационно-флотационные) методы

Комбинированные (седиментационно-флотационные) методы основаны на комбинации противоположных приемов обработки проб навоза — седиментации и флотации, благодаря чему происходит обогащение осадка или поверхностной пленки личинками мух и удаление излишних посторонних частиц взвеси, которые значительно мешают исследованию.

Методы более трудоемкие, однако для обнаружения некоторых личинок мух более информа-тивные.

---

* См. [3].

8.5.1 Метод Черепанова

Лабораторные пробы жидкого навоза, жидкой фракции и иловой смеси отстаивают, сливают надосадочный слой, осадок промывают и удаляют грубые включения через двойной марлевый фильтр. Если первичное промывание осадка проводят на месте отбора проб, то его сразу переносят в центрифугу, добавляют чистую воду и в течение 2—3 мин центрифугируют при 1000 об/мин. Твердую фракцию обрабатывают и исследуют по той же методике, что и осадок. После центрифугирования жидкость сливают, а осадок исследуют с применением центрифужного флотационного метода. Перед центрифугированием пробирки с анализируемыми пробами уравновешивают на специальных (прибор типа GWG) или приспособленных для этой цели весах, добавляя при необходимости соответственно насыщенный раствор соли или воду, и устанавливают в гнезда ротора центрифуги. Объем одной анализируемой пробы в расчете на центрифужную пробирку емкостью 250 $см^3$ составляет 100 $см^3$ для твердой фракции и от 25 до 50 $см^3$ для осадка.

К осадку, находящемуся в центрифужных пробирках (после его центрифугирования с водой), добавляют не более 150 $см^3$ насыщенного раствора нитрата натрия по ГОСТ 4168 или хлорида натрия по ГОСТ 4233. После перемешивания стеклянной палочкой смесь центрифугируют в течение 3 мин при 1000—1500 об/мин.

По окончании центрифугирования в пробирки добавляют тот же по объему насыщенный раствор соли до образования выпуклого мениска и накрывают большими предметными стеклами размерами 70 × 70 мм по ГОСТ 9284. Стекла предварительно обезжиривают смесью спирта по ГОСТ 5962 и эфира или нашатырным спиртом по ГОСТ 3760 либо моют в горячей воде порошком, обладающим дезинфицирующим свойством. Обрабатывают обе стороны стекол и просушивают. На сухой поверхности стекол стеклографом наносят три-четыре тонких линии, делящих ее на равные части.

Стекла с пробирок снимают через 20 мин. Просматривают под микроскопом пленку жидкости, образующуюся на их поверхности, соприкасавшейся с раствором. Покрытие пробирок стеклами и микроскопирование повторяют два-три раза. Для просветления пленки и предотвращения выпадения в ней кристаллов на ее поверхность наносят три-четыре капли водного раствора глицерина по ГОСТ 6259 и дистиллированной воды по ГОСТ 6709 в соотношении 1:1.

8.5.1.1 Анализируемые пробы обычного твердого (подстилочного) навоза и помета компостов, биоперегноя и биогумуса массой от 50 до 100 г помещают в лабораторный стакан по ГОСТ 25336. В него добавляют дистиллированную воду по ГОСТ 6709. Содержимое в стакане перемешивают и фильтруют через двойной марлевый фильтр в другой стакан или колбу конической формы. Фильтрат отстаивают в течение от 15 до 20 мин или переливают в центрифужные пробирки и центрифугируют 3 мин при 1500 об/мин. Надосадочную жидкость сливают, к осадку добавляют насыщенный раствор нитрата натрия по ГОСТ 4168 или других солей и смесь вновь центрифугируют в том же режиме. Центрифужные пробирки устанавливают в штатив, в них добавляют насыщенный раствор соли до образования выпуклого мениска, поверх которого кладут покровные стекла. Через 15—20 мин стекла снимают, поворачивая внутренней стороной вверх, и образовавшуюся пленку просматривают под микроскопом под малым увеличением на предмет обнаружения личинок синантропных мух.

В процессе микроскопирования подсчитывают количество обнаруженных личинок синантропных мух в анализируемой пробе. Затем подсчитывают их количество на единицу объема анализируемой массы — на 1—10 $дм^3$ жидкого навоза или жидкой фракции, 100—1000 $см^3$ или на 1 кг твердой фракции навоза данной влажности.

8.5.2 Экспресс-метод паразитологического анализа бесподстилочного навоза (помета)

Берут от 25 до 50 $см^3$ осадка бесподстилочного навоза (помета), полученного после первичного отстаивания проб по 6.3.3, удаляют из него грубые включения путем промывания, переносят осадок на марлевый или капроновый фильтр. Промывают его 200 $см^3$ насыщенного раствора нитрата натрия, поваренной соли по ГОСТ 4233 или аммиачной селитры. Оставшуюся в осадке на фильтре влагу тщательно отжимают в те же емкости. Фильтрат выдерживают в течение от 15 до 20 мин, после чего поверхностную пленку жидкости переносят паразитологической петлей на предметные стекла и просматривают под микроскопом. Можно пользоваться и большими предметными обезжиренными стеклами, накрывая их поверх мениска флотационного раствора.

Метод менее точен, чем центрифужный, однако более прост по исполнению, не требует сложного оборудования и может быть применим для экспресс-диагностики загрязнения бесподстилочного навоза (помета) личинками синантропных мух.

Для выполнения указанного метода применяют стаканы для фильтрата по ГОСТ 25336, насыщенного раствора соли, предметные стекла по ГОСТ 9284, марлю по ГОСТ 9412 или капроновую ткань с ячейками 0,1 мм и микроскоп.

8.5.3 Метод Дарлинга

Анализируемую пробу массой 5 г помещают в стакан вместимостью от 50 до 100 $см^3$, заливают 10 $см^3$ дистиллированной воды, тщательно размешивают, добавляя дистиллированную воду не более 45 $см^3$. Затем полученную взвесь процеживают через сито в стакан и отстаивают в течение 5 мин. После отстаивания верхний слой жидкости сливают, а на дне оставляют осадок с водой, который переносят в центрифужную пробирку.

Наполненные до одинакового уровня пробирки центрифугируют с частотой вращения 2000 об/мин в течение 2 мин. После чего жидкость из пробирок сливают, а к осадку добавляют 10 $см^3$ флотационного раствора натрия хлористого по 7.1.1, тщательно перемешивают до получения взвеси и опять центрифугируют в течение 2 мин.

Затем металлической петлей снимают из каждой пробирки по три капли поверхностной взвеси, переносят на предметное стекло и препарат исследуют под микроскопом.

8.5.4 Метод Щербовича

Испытания проводят по 8.5.3, а в качестве флотационного раствора используют насыщенный раствор сульфата магния по 7.1.5.

8.5.5 Метод Вишняускаса

Применяют для определения яиц и личинок синантропных мух в пробах навоза.

Анализируемую пробу навоза массой 5 г тщательно размешивают с 50 $см^3$ дистиллированной водой в стакане, затем фильтруют через сито в стеклянную посуду вместимостью 100 $см^3$. Стакан прополаскивают несколько раз 50 $см^3$ дистиллированной воды, которой промывают навоз на сите. 100 $см^3$ полученного фильтрата отстаивают в течение 5 мин, затем верхний слой жидкости отбирают спринцовкой или осторожно сливают, оставляя на дне 20 $см^3$ жидкости с осадком.

К жидкости с осадком добавляют 80 $см^3$ дистиллированной воды и вновь отстаивают в течение 5 мин. После чего надосадочную жидкость отбирают спринцовкой или сливают, оставляя на дне 10 $см^3$ жидкости, которую перемещают в центрифужную пробирку и центрифугируют в течение 1 мин при 1500 об/мин.

Затем верхний слой жидкости отбирают спринцовкой или сливают, оставляя только осадок. К осадку постепенно добавляют раствор сульфата цинка по 7.1.6 таким образом, чтобы мениск жидкости образовался выше краев центрифужной пробирки. Центрифужную пробирку покрывают покровным стеклом так, чтобы жидкость всей своей поверхностью соприкасалась с покровным стеклом. Заблаговременно перед началом испытания края центрифужных пробирок шлифуют на бруске. Центрифугируют в течение 0,5 мин при 1500 об/мин.

Яйца и личинки синантропных мух всплывают и прилипают к покровному стеклу. Покровное стекло с яйцами и личинками мух снимают и помещают на предметное стекло, предварительно нанеся одну каплю дистиллированной воды, и исследуют под микроскопом.

9 Методы определения количества личинок и куколок синантропных мух в навозе

9.1 Определения количества личинок и куколок синантропных мух при визуальном осмотре

Анализируемую пробу навоза массой 10 г по частям перемещают в чашки Петри, просматривают под лупой или микроскопом, перебирая содержимое препаравальной иглой и пинцетом. При этом находят яйца, личинки разного возраста и куколки синантропных мух, их собирают отдельно, подсчитывают количество и используют для культивирования и видовой идентификации.

9.1.1 Обработка результатов

При обнаружении в 10 г анализируемой пробы навоза не более 100 личинок синантропных мух следует признать наличие небольшого количества имаго мух на территории животноводческих ферм и населенных пунктов. Установлено, что в популяции синантропных мух на долю имаго мух приходятся 20 %, а на долю личинок разного возраста и куколок — 80 %.

Наличие от 101 до 500 личинок синантропных мух в 10 г навоза свидетельствует о среднем количестве имаго мух на территории животноводческих ферм.

Наличие от 501 до 1000 личинок синантропных мух в 10 г навоза свидетельствует о большом количестве имаго мух на территории животноводческих ферм.

Наличие более 1000 личинок синантропных мух в 10 г анализируемого навоза свидетельствует об очень большом количестве имаго мух на территории животноводческих ферм и населенных пунктов и указывает на необходимость мер борьбы как с личинками, так и с имаго синантропных мух. Навоз, содержащий такое большое количество личинок синантропных мух, необходимо обрабатывать одним из ларвицидных препаратов.

9.2 Учет численности имаго мух — косвенный метод определения количества личинок синантропных мух

Для учета численности имаго синантропных мух используют стандартные липкие ленты, которые в своем составе кроме клеевой основы содержат феромоны и аттрактанты. Липкие ленты-мухоловы размещают на 24 ч из расчета на 20 $м^2$/шт. на территории животноводческих ферм (внутри и возле), навозохранилищ и в населенных пунктах один раз в 10 дней на разной высоте — 1 и 2 м от земли, пола и навозной кучи. Для учета численности преимагинальной стадии синантропных мух берут пробы (от 6 до 10 проб из помещения) из содержимого пола животноводческих помещений массой 10 г с помощью шпателя и кисточки, которые помещают в мини-контейнеры с завинчивающейся крышкой и доставляют в лабораторию для анализа.

Анализ полученного материала позволяет характеризовать общую численность синантропных мух и степень санитарного благополучия (неблагополучия) животноводческих ферм (помещений и территории), а также навозохранилищ.

9.3 Определение количества яиц и личинок синантропных мух 1-го и 2-го возраста с помощью счетных камер

9.3.1 Определение количества личинок синантропных мух с помощью счетной камеры Горяева

Размешивают 1 г навоза в стакане с 15 $см^3$ дистиллированной воды и тщательно гомогенизируют. Полученную суспензию фильтруют через сито, 10 $см^3$ фильтрата помещают в центрифужную пробирку и центрифугируют с частотой вращения 2000 об/мин в течение 2 мин. Затем жидкость из пробирки сливают, а к осадку добавляют 10 $см^3$ флотационного раствора хлористого натрия, тщательно перемешивают и используют для заполнения счетной камеры Горяева.

При отсутствии счетной камеры используют предметное стекло, на которое наносят 0,15 $см^3$ суспензии и накрывают покровным стеклом.

Заполненную камеру Горяева или предметное стекло выдерживают в течение 2 мин, чтобы личинки мух могли подняться к поверхности, и под микроскопом подсчитывают количество личинок мух. Полученное число, умноженное на 100, показывает содержание личинок мух в 1 г навоза. Для более точного определения количества личинок мух используют две-три камеры.

9.3.2 Определение количества личинок синантропных мух с помощью счетной камеры ВИГИСа

Размешивают 1 г навоза в ступке с 5 $см^3$ флотационного раствора аммиачной селитры и тщательно перемешивают пестиком. По мере размешивания добавляют флотационный раствор и доводят до объема 15 $см^3$. Взвесь фильтруют через ситечко в чистый стакан с последующим отжимом содержимого в ситечко и тщательным размешиванием взвеси. Затем пастеровской пипеткой быстро переносят 0,5 $см^3$ взвеси в одну из ячеек счетной камеры и оставляют на 2 мин, после чего подсчитывают количество личинок мух. При необходимости заполняют и другие ячейки взвесью пробы из того же стаканчика, но при этом каждый раз перед заполнением ячейки смесь перемешивают.

Подсчет личинок мух в ячейке проводят с помощью микроскопа при искусственном освещении.

Для установления количества личинок синантропных мух в 1 г навоза делают расчет по числу обнаруженных личинок мух в одной, двух или четырех ячейках. Для этого число личинок мух, выявленных в ячейке, умножают на 30, в двух ячейках — на 15, а в четырех — на 7,5.

10 Методы определения жизнеспособности личинок синантропных мух

10.1 Визуальный осмотр, световая микроскопия и оценка подвижности

Для личинок синантропных мух 1-го, 2-го и 3-го возраста двигательная активность при температуре от 15 °С до 40 °С остается главным признаком их жизнеспособности. Подвижность личинок

синантропных мух устанавливают слабым подогревом препарата на предметном или часовом стекле. Погибшими считают личинки, если они выпрямлены, неподвижны, имеют разрушенные структуры, деформированные оболочки.

У куколок синантропных мух при осмотре под лупой или микроскопом выявляют резко выраженные признаки гибели зародыша: нарушение целостности и деформация оболочек, прогибание оболочек внутрь, разрушение оболочек и зародыша.

10.2 Культивирование

Собранных при анализе проб навоза личинок разного возраста и куколок синантропных мух двукратно отмывают в дистиллированной воде и помещают в чашки Петри по ГОСТ 25336. Личинок 1-го и 2-го возраста определяют по их длине и культивируют вместе, добавляя в чашку Петри пищевой субстрат, в термостате при температуре от 38 °С до 45 °С и влажности от 60 % до 80 %. Для доступа кислорода два раза в день чашки Петри достают из термостата и открывают крышки для аэрации. Личинки быстро растут, дважды линяют, становясь личинками 3-го возраста, их длина составляет от 1 до 2 см, тело беловато-серого цвета, и они подвижные.

Собранные при анализе навоза личинки 3-го возраста также культивируют в термостате в чашках Петри с пищевым субстратом при отмеченной ранее температуре и влажности, проводя аэрацию. Личинки 3-го возраста проходят питающуюся фазу, достигая в длину от 1 до 2 см, они подвижные, затем становятся малоподвижными, проходят предкукольную (непитающуюся) фазу.

На этой фазе для окукливания их необходимо перемещать в сухие чашки Петри и культивировать в термостате при температуре от 20 °С до 25 °С и влажности от 20 % до 40 %.

Вышедшие из пупария мухи сразу не летают. Примерно 1 мин они сидят неподвижно, затем начинают быстро бегать, потом снова становятся неподвижными и только через 1,5—2 ч начинают подвижный образ жизни. Самки, как правило, выходят из яиц на 12—24 ч позднее, чем самцы. Кладки яиц молодыми самками при благоприятных условиях осуществляются через 9—12 сут.

Имаго синантропных мух, полученные после культивирования личинок разного возраста и куколок, являются материалом для их видовой идентификации с использованием соответствующего определителя*.

11 Метод установления количества личинок и куколок синантропных мух (интенсивность инвазии)

Количество личинок мух разного возраста и куколок синантропных мух (интенсивность инвазии) устанавливают путем подсчета их числа в трех анализируемых пробах навоза массой 10 г, которые в чашках Петри просматривают под лупой или микроскопом, перебирая содержимое препаравальной иглой и пинцетом. Найденные при анализе личинки разного возраста и куколки собирают и подсчитывают.

Полученное число показывает ориентировочную интенсивность личинок и куколок (отдельно) синантропных мух в одной анализируемой пробе навоза (животных разного вида) через определенное время после закладки на биотермическую обработку и хранения.

12 Метод исследования почвы на наличие личинок и куколок синантропных мух

Исследование почвы на наличие личинок и куколок синантропных мух проводят на разном удалении от животноводческих помещений, навозохранилищ, на пастбище и в других местах с поверхности и на различной глубине. Помещают 25 г анализируемой пробы почвы, отобранной по 6.4, в центрифужные пробирки вместимостью от 80 до 100 $см^3$ и заливают 3 %-ным раствором едкого натрия или калия в соотношении 1:1.

Содержимое пробирок тщательно размешивают при помощи электромешалки или стеклянных палочек, отстаивают в течение от 20 до 30 мин, затем центрифугируют на протяжении 5 мин при 800 об/мин. Надосадочную жидкость сливают, а почву промывают водой от одного до пяти раз в зави-

* См. [4].

симости от типа почвы (для песчаных и супесчаных почв достаточно одной промывки, для глинистых, суглинистых, черноземных — от двух до пяти раз) до получения прозрачной жидкости.

После промывки к почве добавляют 45 $см^3$ насыщенного раствора натрия нитрата, тщательно размешивают и центрифугируют в течение 3 мин. При отсутствии натрия нитрата можно использовать раствор магния сульфата. После центрифугирования пробирки со смесью ставят в штатив и осторожно доливают раствор натрия нитрата до образования выпуклого мениска, а затем покрывают предметными стеклами размером 10 × 6 см, предварительно обезжиренными смесью спирта с эфиром (в соотношении 1:2) или прокипяченными в воде со щелочью или стиральным порошком. Смесь в пробирках отстаивают в течение 30 мин.

Во время отстаивания личинки и куколки синантропных мух всплывают на поверхность и прилипают к стеклу. Затем стекла снимают, а на их место ставят чистые. На снятые стекла наносят несколько капель 50 %-ного водного раствора глицерина, капли накрывают покровным стеклом и микроскопируют. Затем просматривают вторые стекла.

Для обнаружения личинок и куколок синантропных мух предметные стекла просматривают при увеличении от 40 до 60 раз (окуляр 10$^{\times}$, объектив 4-6), а для определения степени развития, жизнеспособности и степени деформации — при увеличении в 100 раз (окуляр 10$^{\times}$, объектив 10). Подсчитанное в двух предметных стеклах количество личинок и куколок синантропных мух дает характеристику степени загрязнения или обсемененности разных проб почвы личинками синантропных мух.

Приложение А
(справочное)

Результаты паразитологического анализа органических удобрений

А.1 Пример записи в журнале результатов паразитологического анализа органических удобрений приведен в таблице А.1

Таблица А.1 — Результаты паразитологического анализа органических удобрений

Место отбора проб	Дата отборов проб	Дата анализа	Метод анализа	Масса анализируемой пробы, г/ $см^3$	Обнаружено личинок синантропных мух, экз.			
					Всего	Погибшие	Жизнеспособные	В среднем на 1 кг/ $см^3$, (1 $дм^3$ анализируемой пробы)
1								
2								

В журнал заносят данные, учитывающие количество, объем анализируемых проб, взятых после обработки, подготовки органических удобрений к использованию или со складов готовой продукции. Фиксируют результаты отсутствия или обнаружения личинок синантропных мух соответствующих родов. При обнаружении личинок синантропных мух отмечают состояние их жизнеспособности.

А.2 Обработка результатов

Сопоставление количества погибших личинок синантропных мух к их выявленному общему количеству в пробах, отбираемых с определенной периодичностью, свидетельствует о степени и постоянстве эффективности принятого при подготовке органических удобрений метода обеззараживания.

Библиография

[1] Беклемишев В.Н. Определитель членистоногих, вредящих здоровью человека. — М.: АН СССР, 1958. — 419 с.
[2] Горностаев Г.Н. Насекомые СССР. — М. Мысль, 1970. — 372 с.
[3] Дербенева-Ухова В.П. Синантропные мухи//В кн.: Руководство по медицинской энтомологии. — М.: Медицина, 1974, С. 176—203
[4] Определитель насекомых Европейской части СССР. В 5 томах. Под общей редакцией Г.Я. Бей-Биенко — Л., 1970. — Т. 5. Двукрылые, блохи. Ч.2/Ред. тома Штакельберг А.А., Нарчук Э.П. — 943 с.

УДК 631.861:631.879:006.354

ОКС 65.020
65.080

Ключевые слова: удобрения органические, методы определения наличия яиц, личинок и куколок синантропных мух — Бермана-Орлова, Вайда, Шильникова; седиментационные — формалин-эфирный или уксусный; флотационные — Фюллеборна, Котельника-Хренова; комбинированные — Черепанова, Дарлинга, Щербовича, Вишняускаса, определение жизнеспособности личинок, дифференциация личинок, исследования почвы на наличие личинок и куколок синантропных мух

БЗ 5—2018/21

Редактор *Л.С. Зимилова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Р.А. Ментова*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 10.05.2018. Подписано в печать 15.05.2018. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 2,10.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 123001 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru