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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
33041—
2014**

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Почвенные микроорганизмы: тест на трансформацию углерода

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 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 20 октября 2014 г. № 71-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
Азербайджан	AZ	Азстандарт
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 ноября 2014 г. № 1696-стмежгосударственный стандарт ГОСТ 33041—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2015 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD, Test No. 217:2000 «Почвенные микроорганизмы: тест на трансформацию углерода» («Soil Microorganisms: Carbon Transformation Test», IDT).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного документа для приведения в соответствие с ГОСТ Р 1.5 (подраздел 3.6)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 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, 2015, 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 Общие сведения 1
4 Принцип теста 2
5 Достоверность теста 2
6 Описание теста 3
7 Отбор и хранение проб почвы 3
8 Проведение теста 5
9 Отбор образцов почвы 5
10 Данные и отчет о проведении теста 6
Библиография 8

Введение

В настоящем стандарте описывается лабораторный метод тестирования, разработанный для изучения возможных долговременных последствий однократного применения средств защиты растений и других химических веществ на трансформацию углерода, связанную с деятельностью почвенных микроорганизмов. Тест основывается, главным образом, на рекомендациях Европейской и Средиземноморской Организации Защиты Растений (EPPO) [1]. Учтены также и руководства других организаций, включая Немецкую Службу Биологического Контроля (BBA) [2], Агентство по Охране Окружающей Среды США (US EPA) [3] и SETAC [4]. Совещание ОЭСР по стандартизации отбора образцов почв/осадков, состоявшееся в Белгирате, Италия, в 1995 г. [5], в частности, одобрило перечень и типы почв, пригодных для проведения настоящего теста. Рекомендации по отбору, обработке и хранению почвенных образцов в соответствии с ISO 10381-6 [6] и рекомендациях Белгиратского Совещания.

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

Почвенные микроорганизмы: тест на трансформацию углерода

Test methods for chemicals of environmental hazard. Soil microorganisms: carbon transformation test

Дата введения — 2015—08—01

1 Область применения

В настоящем стандарте устанавливается метод определения воздействия тестируемого вещества на процессы микробиологической трансформации углерода в почве.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **трансформация углерода** (carbon transformation): Микробная деградация органического вещества до конечного продукта диоксида углерода.

2.2 EC_x **(эффективная концентрация)** (effective concentration): Концентрация тестируемого вещества в почве, приводящая к ингибированию на x % трансформации углерода до CO_2.

2.3 EC_{50} **(медианная эффективная концентрация)** (median effective concentration): Концентрация тестируемого вещества в почве, вызывающая 50 % ингибирование трансформации углерода до CO_2.

3 Общие сведения

3.1 Изучение воздействия химического вещества на деятельность почвенных микроорганизмов может потребоваться, когда необходимы сведения о потенциальных побочных эффектах средств защиты растений на почвенную микрофлору или когда на почвенные микроорганизмы могут оказывать воздействие химические вещества, не являющиеся средствами защиты растений. С целью определения такого воздействия проводится исследование трансформации углерода в почве. При тестировании агрохимикатов (например, средств защиты растений, удобрений, лесных химикатов) одновременно проводят исследования трансформации углерода и азота. При тестировании прочих химических веществ достаточно проводить только исследование трансформации азота. Однако, если значение EC_{50} в исследовании трансформации азота для таких химических веществ попадает в диапазон, определенный для существующих ингибиторов нитрификации (например, нитрапирина), то для получения дополнительной информации может проводиться также исследование трансформации углерода.

3.2 Почва состоит из живых и неживых компонентов, которые существуют в виде комплексных и гетерогенных смесей. Микроорганизмы играют важную роль в разрушении и трансформации органического вещества в плодородных почвах, поскольку на различные аспекты плодородия почв оказывают влияние разные виды микроорганизмов. Любое долгосрочное вмешательство в такие биохимические процессы потенциально может препятствовать круговороту питательных веществ, что в свою очередь может вызвать изменения плодородия почв. Трансформация углерода и азота происходит во всех пло-

Издание официальное

дородных почвах. Несмотря на то, что микробные сообщества, отвечающие за протекание данных процессов, различаются в зависимости от почвы, пути трансформации по сути остаются одинаковыми.

3.3 Тест, описанный в настоящем стандарте, предназначен для оценки воздействия потенциальных токсикантов на процесс микробной трансформации углерода в почвах в аэробных условиях. Тест чувствителен к изменениям численности и активности микробных сообществ, ответственных за трансформацию углерода в почвах, как в результате химического стресса, так и в результате голодания. В тесте используют песчаную почву с низким содержанием органического вещества.

Тестируемое вещество вносят в эту почву и инкубируют в условиях, способствующих быстрому проявлению микробного метаболизма. В этих условиях источник доступного углерода в почве быстро расходуется. Углеродное голодание вызывает как гибель части микробных клеток, так стимулирует их переход в неактивное состояние или в форму спор. Если тест проводится в течение 28 сут, совокупный отклик метаболических реакций может быть оценен по отношению к необработанной почве (контролю), как растущее сокращение запасов метаболически активной микробной биомассы [7]. Величина биомассы, при лимите углерода в условиях проведения эксперимента, определяется воздействием химиката и не может превысить уровень контроля. Следовательно, нарушения, вызванные тестируемым веществом, всегда отчетливо проявятся к концу эксперимента.

3.4 Данный тест разработан, прежде всего, для веществ с предсказуемой дозой внесения, например, средств защиты растений, для которых способ применения и дозы известны. Для агрохимикатов достаточно тестирование двух доз, соответствующих и превышающих рекомендованную норму применения. Агрохимикаты могут тестироваться в виде действующих веществ или препаративных форм.

Однако данный тест не ограничивается агрохимикатами, норма применения которых известна. Изменяя количество тестируемого вещества, вносимого в почву и способ его применения, тест может быть проведен с химикатами, для которых предполагаемая доза внесения в почву не известна. Так, для веществ, не относящихся к агрохимикатам, проводится тестирование трансформации углерода в серии концентраций. Результаты теста используют для построения зависимости проявления эффекта от дозы внесения и рассчитывают величину EC_x, где x определяет % воздействия.

4 Принцип теста

Просеянную почву обрабатывают тестируемым веществом, а необработанная почва служит контролем. При исследовании агрохимикатов выбирают как минимум две концентрации, принимая во внимание максимальную предполагаемую дозу их полевого применения. Через 0, 7, 14 и 28 сут инкубации образцы обработанной и контрольной почв обогащают глюкозой и измеряют в течение 12 ч интенсивность дыхания, индуцированного глюкозой. Интенсивность дыхания выражают как эмиссию диоксида углерода (мг CO_2/кг сухой почвы в час) или скорости поглощения кислорода (мг O_2/кг сухой почвы в час).

Значения интенсивности дыхания в образцах с внесением исследуемого вещества сравнивают с контролем и рассчитывают отклонение в процентах от контроля. Продолжительность эксперимента не менее 28 сут. Если в течение 28 сут разница между опытными и контрольными вариантами достигает или превышает 25 %, исследование продолжают с 14-дневным интервалом максимум до 100 сут.

При тестировании не агрохимикатов допускается определение интенсивности дыхания, индуцированного глюкозой (по количеству выделившегося диоксида углерода или поглощенного кислорода) в опытных и контрольных образцах почв через 28 сут инкубации. Результаты эксперимента с различными концентрациями обрабатывают с использованием регрессионной модели и представляют в виде EC_x (например, EC_{50}, EC_{25} и/или EC_{10}).

5 Достоверность теста

Оценка результатов тестирования агрохимикатов основана на относительно небольших отклонениях (среднее значение составляет ±25 %) интенсивности выделения диоксида углерода или поглощения кислорода в тестируемой и контрольной пробах почвы, поэтому большие различия в результатах параллельных контрольных проб могут привести к получению ложных результатов. В связи с этим, различия результатов параллельных контрольных проб должно быть менее ±15 %.

6 Описание теста

6.1 Оборудование

6.1.1 При тестировании используют контейнеры, изготовленные из химически инертного материала. Контейнеры должны быть подходящего размера для проведения процедуры инкубации почвы. Инкубация может проводиться либо для одной большой партии почвы, либо для серии индивидуальных проб почвы (см. 8.2). При тестировании следует уделять внимание минимизации потери воды и обеспечению газообмена между почвой и атмосферой (например, контейнеры могут быть покрыты перфорированной полиэтиленовой пленкой). При тестировании летучих веществ необходимо использовать герметичные и газонепроницаемые контейнеры. Контейнеры должны быть такого размера, чтобы проба почвы занимала примерно одну четвертую их объема.

6.1.2 Для определения субстрат-индуцированного дыхания, требуется применение инкубационных сосудов и аппаратуры, позволяющих измерять накопление диоксида углерода или поглощение кислорода. Примеры инкубационных систем и приборов приведены в [8], ISO 11266-1 [9], 14239 [10], [11].

6.2 Выбор и количество почв

6.2.1 При тестировании используют только одну почву. Рекомендации относительно характеристик тестируемой почвы:

- содержание песка: не менее 50 % и не более 75 %;
- pH: 5,5—7,5;
- содержание органического углерода: 0,5—1,5 %;
- микробная биомасса должна быть измерена по [1], [2] и содержание углерода в ней должно быть не менее 1 % содержания общего органического углерода в почве.

6.2.2 В большинстве случаев почва, обладающая такими характеристиками, представляет собой наихудший вариант для тестирования, поскольку адсорбция исследуемого вещества будет минимальной, а его доступность для микрофлоры – максимальной. Следовательно, тестировать другие почвы, как правило, нет необходимости. Тем не менее, при определенных обстоятельствах, например, когда тестируемое вещество будет, главным образом, использоваться для определенных типов почв, например, кислых лесных почв. При тестировании электрически заряженных химических веществ, необходимо использовать дополнительные типы почв.

7 Отбор и хранение проб почвы

7.1 Пробоотбор

7.1.1 Необходима подробная информацию о месте отбора пробы почвы, включающая точное местоположение, сведения о растительном покрове, даты обработки средствами защиты растений, даты внесения органических и неорганических удобрений, даты добавления биологического материала или попадания случайного загрязнения. Для пробоотбора почвы должно быть выбрано одно место, откуда можно отбирать пробы почвы в течение длительного времени. Подходящими местами для сбора проб почвы являются постоянные пастбища, поля для культивирования годовых зерновых культур (кроме кукурузы) или поля, засеянные сидератами.

Выбранное место отбора проб не должно обрабатываться средствами защиты растений как минимум в течение одного года перед планируемым отбором проб. Кроме того, органические удобрения не должны были применяться как минимум в течение шести месяцев. Использование минеральных удобрений приемлемо только при их соответствии требованиям выращивания сельскохозяйственной культуры и если проба почвы будет отбираться как минимум по прошествии трех месяцев после внесения удобрений. Следует избегать использования почвы, обработанной удобрениями с известными биоцидными эффектами (например, цианамидом кальция).

7.1.2 Отбор проб не рекомендуется проводить во время или сразу же после длительного (более 30 сут) периода засухи или подтопления. Для распаханных почв пробы необходимо отбирать с глубины от 0 до 20 см. Для луга (пастбища) или других почв, вспашка которых не производилась в течение длительного периода (по крайней мере, один вегетационный сезон), максимальная глубина отбора проб может быть немного больше 20 см (например, до 25 см).

7.1.3 Пробы почвы необходимо перевозить в контейнерах и в температурных условиях, при которых исходные свойства почвы существенно не изменятся.

7.2 Хранение

Наиболее предпочтительно использование свежеотобранных проб почвы. При необходимости пробы почвы хранят в темноте при температуре (4 ± 2) °С в течение не более трех месяцев. Во время хранения необходимо обеспечить аэробные условия. Если пробы почвы отбирают в районах, где почва замерзает как минимум на три месяца в год, хранение можно осуществлять в течение шести месяцев при температуре минус 18 °С. Микробная биомасса в пробе почвы измеряется перед каждым тестированием, содержание углерода в биомассе должно быть не менее 1 % содержания общего органического углерода (см. 6.2.1).

7.3 Обработка и подготовка почвы для теста

7.3.1 Предварительная инкубация

Если осуществлялось хранение проб почвы (см. 7.2), то рекомендуется проводить предварительную инкубацию от 2 до 28 сут. Условия предварительной инкубации по температуре и влажности должны быть близки к условиям тестирования (см. 7.3.2 и 8.3).

7.3.2 Физико-химические характеристики почвы

Пробу почвы вручную очищают от больших объектов (например, камней, частей растений и т. п.), затем почву просеивают через сито ≤ 2 мм, не допуская ее излишнего высушивания. Влажность почвы следует довести до 40 % — 60 % максимальной водоудерживающей способности добавлением дистиллированной или деионизированной воды.

7.3.3 Подготовка тестируемого вещества для внесения в почву

7.3.3.1 Как правило, тестируемое вещество вносят в почву с использованием носителя. В качестве носителя может использоваться вода (для растворимых в воде веществ) или твердый инертный носитель, такой, как мелкий кварцевый песок (размер частиц 0,1—0,5 мм). Следует избегать использования жидких носителей, за исключением воды (например, органических растворителей, таких, как ацетон, хлороформ), поскольку они могут нанести вред микрофлоре. Если в качестве носителя берут песок, то его обрабатывают исследуемым веществом в виде раствора или суспензии с использованием соответствующего растворителя. В таких случаях перед перемешиванием с почвой растворитель должен быть удален путем испарения. Для достижения оптимального распределения исследуемого вещества в почве рекомендуется использовать соотношение 10 г песка на 1 кг почвы (в расчете на сухую массу). Контрольные пробы обрабатывают только эквивалентным количеством воды и (или) кварцевого песка.

7.3.3.2 При тестировании летучих химических веществ необходимо предотвращать потери исследуемого вещества вследствие испарения, а также обеспечивать однородное распределение тестируемого вещества в почве (например, вещество следует вносить в почву в нескольких местах).

7.3.4 Тестируемые концентрации

7.3.4.1 При тестировании средств защиты растений или агрохимикатов рекомендуется исследовать вносимые вещества не менее чем в двух концентрациях. Минимальная концентрация должна соответствовать максимальной рекомендованной норме применения препарата, тогда как максимальная — многократно ее превосходить. Концентрация тестируемых соединений вносимых в почву рассчитывают, исходя из их равномерного распределения в почве на глубину 5 см с плотностью 1,5 г/см^3. Для агрохимикатов, вносимых непосредственно в почву или для химикатов с прогнозируемой дозой применения, рекомендуемые концентрации должны соответствовать максимальным прогнозируемым концентрациям (PEC) и в пять раз превышать рекомендуемые нормы применения. Вещества, планируемые для неоднократного использования в течение сезона, следует вносить в концентрациях, умноженных на число повторных применений. Вместе с тем, наибольшая доза внесения тестируемого препарата не должна более чем в десять раз превышать максимальную рекомендованную норму единовременного применения препарата.

7.3.4.2 При тестировании препаратов, не относящихся к агрохимикатам, рекомендуется их исследование в серии экспериментов с внесением препарата не менее чем в пяти концентрациях. Выбор концентраций должен покрывать диапазон, необходимый для определения параметров EC_x.

8 Проведение теста

8.1 Внесение тестируемого вещества

При тестировании агрохимикатов почва должна быть разделена на три равные весовые части. Две части смешивают с агрохимикатом в составе носителя, а оставшуюся часть — с носителем без агрохимиката (контроль). Рекомендуется минимум трехкратная повторность при закладке обработанных и контрольных вариантов теста. При тестировании не агрохимикатов почву делят на шесть равных весовых частей. Пять частей смешивают с тестируемым веществом в составе носителя, а шестая часть — с носителем без тестируемого продукта. Рекомендуется трехкратная повторность при закладке обработанных и контрольных вариантов опыта. Особое внимание следует обратить на равномерное распределение тестируемого вещества в образцах почвы. В процессе смешивания следует избегать комкования и формирования неоднородностей почвы.

8.2 Инкубация образцов почвы

Инкубация почвенных образцов может осуществляться двумя способами: единым почвенным образцом, разделенным на обработанные и необработанные участки или серии индивидуальных обработанных и контрольных образцов почвы одной массы. При исследовании летучих соединений эксперимент возможен только в серии индивидуальных образцов почвы. При инкубации почвы в виде единого образца, требуется многочисленный отбор проб из обработанной и необработанной частей почвы. Это следует учитывать при определении массы исходного образца почвы, руководствуясь частотой и числом повторностей, отобранных в процессе инкубации образцов почвы для конкретного анализа. Каждый раз перед отбором индивидуальных образцов почва должна осторожно перемешиваться.

Если почва инкубируется в виде серии индивидуальных образцов, то обработанные и необработанные варианты подразделяют на нужное число образцов, которые используют по мере необходимости. В экспериментах, предполагающих более чем двукратный анализ в процессе инкубации, требуется заранее предусмотреть число образцов, необходимых для многократного отбора проб в нужной повторности. Контрольный вариант опыта должен инкубироваться в аэробных условиях не менее, чем трехкратной повторности (см. 8.1). На протяжении всего периода инкубации необходимо использовать контейнеры с объемом газовой фазы, достаточным для того, чтобы избежать развития анаэробных процессов. При тестировании летучих веществ анализ должен проводиться методом серий индивидуальных образцов почвы.

8.3 Условия и продолжительность инкубации

Почву инкубируют в темноте при комнатной температуре (20 ± 2) °С. Влажность почвы следует поддерживать на протяжении всего эксперимента 40 % — 60 % от ее максимальной водоудерживающей способности (см. 7.3.2) с разбросом ±5 %. По мере необходимости в почву добавляют дистиллированную или деионизированную воду. Минимальная продолжительность эксперимента 28 сут. При исследовании агрохимикатов сопоставляют интенсивность эмиссии диоксида углерода или поглощение кислорода между обработанными и контрольными вариантами опыта. Если разница между ними составляет более 25 % на 28-й день, то инкубацию продолжают до тех пор, пока различия станут менее или равны 25 %, но продолжительность инкубации не должна превышать 100 сут. При тестировании веществ, не относящихся к агрохимикатам, инкубацию заканчивают через 28 сут. На 28-й рассчитывают интенсивность выделения диоксида углерода или поглощения кислорода в обработанных и контрольных образцах почв и выражают ее в виде EC_x.

9 Отбор образцов почвы

9.1 График отбора образцов почвы

9.1.1 При исследовании агрохимикатов почвенные пробы анализируют методом глюкозо-индуцированного дыхания на 0, 7, 14 и 28-й день. В случае продления сроков исследования, анализы должны проводиться с интервалом в 14 сут.

9.1.2 При тестировании не агрохимикатов исследование проводят с внесением вещества в пяти концентрациях сразу после начала эксперимента (0-й день) и после окончания периода инкубации (28 сут). Промежуточные измерения, например, на 7-й день, выполняют при необходимости. Результаты анализа, проведенного на 28-й день инкубации, используют для определения величины EC_x данного химиката. Результаты анализа, полученные на начальные сутки инкубации (0-й день), могут быть использованы для оценки исходного уровня запасов активной микробной биомассы в почве в соответсвии с [12].

9.2 Оценка глюкозо-индуцированного дыхания

9.2.1 Интенсивность глюкозо-индуцированного дыхания в опытных и контрольных вариантах определяют в трехкратной повторности в каждый период измерения. Образцы почвы смешивают с достаточным количеством глюкозы для провоцирования максимального отклика дыхательный активности. Концентрация глюкозы, необходимая для максимального дыхательного отклика в данной почве, определяют в ходе предварительного эксперимента с внесением серии концентраций глюкозы [13]. Однако для песчаных почв с 0,5—1,5 % содержанием органического углерода, 2000—4000 мг глюкозы на 1 кг сухой почвы обычно оказывается достаточным. Глюкоза может быть внесена в почву в форме смеси порошка глюкозы с кварцевым песком (10 г песка/кг сухой почвы) с последующим гомогенным перемешиванием с почвой.

9.2.2 Образцы почвы, обогащенные глюкозой, инкубируют в сосудах, подходящих для отбора газовых проб с часовым или двухчасовым интервалом (см. 6.1.2) при температуре (20 ± 2) °С. Количество выделившегося диоксида углерода или поглощенного кислорода последовательно измеряют в течение 12 ч, причем измерения следует начинать сразу после внесения глюкозы, т. е. между 1-м и 2 м часом инкубации. Оценивают общее количество выделившегося диоксида углерода или поглощенного кислорода в течение 12 ч и рассчитывают скорость дыхания.

10 Данные и отчет о проведении теста

10.1 Данные

10.1.1 При тестировании агрохимикатов количество выделившегося диоксида углерода или поглощенного кислорода для каждой повторности заносят в таблицу. Результаты должны оцениваться с использованием общепринятых статистических методов (например, критерий Фишера с уровнем значимости 5 %). Глюкозо-индуцированное дыхание должно быть представлено в мг диоксида углерода/кг сухой почвы в час или мг кислорода/кг сухой почвы в час. Количество выделившегося диоксида углерода или количество поглощенного кислорода в каждом обработанном варианте сравнивают с контролем и представляют в отклонении от контроля в процентах.

10.1.2 Если тестируют не агрохимикат, то определяют количество выделившегося диоксида углерода или поглощенного кислорода в каждой повторности и результаты анализа представляют в виде графика зависимости дыхания от концентрации вещества для определения EC_x. Глюкозо-индуцированное дыхание (мг диоксида углерода/кг сухой почвы в час или мг кислорода/кг сухой почвы в час) определяют в обработанных вариантах после 28 сут инкубации и сравнивают с контролем. Для каждой концентрации рассчитывают процент ингибирования. Строят график зависимости ингибирования в процентах от концентрации вещества и определяют величину EC_x. Стандартное отклонение (p = 95) рассчитывают известными методами [14], [15], [16].

10.2 Интерпретация результатов

Если после получения данных тестирования агрохимикатов разница в интенсивности дыхания между вариантом с максимально рекомендуемой нормой применения и контролем равна или менее 25 % в течение 28 сут инкубации, то агрохимикат может быть оценен как не имеющий продолжительного воздействия на трансформацию углерода в почве. При тестировании веществ, не относящихся к агрохимикатам, определяют EC_{50}, EC_{25} и/или EC_{10}.

10.3 Отчет о проведении теста

Отчет должен содержать следующую информацию.

Полную характеристику почвы, включая:

- географические координаты точки отбора почвы (широта, долгота);

- информацию об истории использования участка (растительный покров, примененные средства защиты растений, удобрения, типы загрязнения и т. д.);
- тип угодья: сельскохозяйственные земли, лес и т. д.);
- глубину отбора образца;
- гранулометрический состав (песок/пыль/глина в процентах от массы сухой почвы);
- pH водной вытяжки;
- содержание органического углерода (процент массы сухой почвы);
- содержание азота (процент массы сухой почвы);
- емкость катионного обмена (ммоль/кг);
- исходный запас микробной биомассы в процентах общего содержания органического углерода;
- ссылки на методы исследования каждого параметра;
- полную информацию, касающуюся отбора и хранения образцов почвы;
- детали предварительной инкубации почвы (при необходимости).

Тестируемое вещество:

- физическое состояние и, по возможности, физико-химические свойства;
- данные химической идентификации и, по возможности, структурную формулу, степень чистоты (например, для средств защиты растений — процент действующего вещества).

Условия теста:

- детали обогащения почвы органическим веществом;
- использованные концентрации тестируемого вещества и соответствующее обоснование выбранных концентраций;
- детали внесения тестируемого вещества в почву;
- температура инкубации;
- влажность почвы в начале эксперимента и на его протяжении;
- метод инкубации почвы (единый образец или серия индивидуальных образцов);
- число повторностей;
- даты анализа.

Результаты:

- использованный метод и оборудование для определения интенсивности дыхания;
- таблица данных количественной оценки диоксида углерода или кислорода;
- разница между повторностями в обработанных и контрольных образцах;
- обсуждение выявленных в ходе расчетов корреляций (по возможности);
- процентное варьирование глюкозо-индуцированного дыхания в каждый период отбора проб, величину EC_{50} при уровне достоверности 95 %, другие величины EC_x (EC_{25} или EC_{10}) с указанием доверительных интервалов и графиком зависимости активности от дозы;
- статистическую обработку данных;
- любую информацию, полезную для интерпретации результатов.

Библиография

[1] EPPO (1994). Decision-Making Scheme for the Environmental Risk Assessment of Plant Protection Chemicals. Chapter: Soil Microflora. EPPO Bulletin 24: 1—16, 1994

[2] BBA (1990). Effects on the Activity of the Soil Microflora. BBA Guidelines for the Official Testing of Plant Protection Products, VI, 1—1 (2nd eds., 1990)

[3] EPA (1987). Soil Microbial Community Toxicity Test. EPA 40 CFR Part 797.3700. Toxic Substances Control Act Test Guidelines; Proposed rule. September 28, 1987

[4] SETAC-Europe (1995). Procedures for assessing the environmental fate and ecotoxicity of pesticides, Ed. M.R. Lynch, Pub. SETAC-Europe, Brussels

[5] OECD (1995). Final Report of the OECD Workshop on Selection of Soils/Sediments, Belgirate, Italy, 18—20 January 1995

[6] ISO 10381-6 (1993). Soil quality — Sampling. Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory

[7] Anderson, J.P.E. (1987). Handling and Storage of Soils for Pesticide Experiments, in «Pesticide Effects on Soil Microflora». Eds. L. Somerville and M.P. Greaves, Chap. 3: 45—60

[8] Anderson, J.P.E. (1982). Soil Respiration, in «Methods of Soil Analysis — Part 2: Chemical and Microbiological Properties». Agronomy Monograph № 9. Eds. A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney.41: 831—871

[9] ISO 11266-1. (1993). Soil Quality — Guidance on Laboratory Tests for Biodegradation in Soil: Part 1. Aerobic Conditions

[10] ISO 14239 (1997E). Soil Quality — Laboratory incubation systems for measuring the mineralization of organic chemicals in soil under aerobic conditions

[11] Heinemeye, r O., Insam, H., Kaiser, E.A, and Walenzik, G. (1989). Soil microbial biomass and respiration measurements; an automated technique based on infrared gas analyses. Plant and Soil, 116: 77—81

[12] ISO 14240-1 (1997). Soil quality — Determination of soil microbial biomass — Part 1: Substrate-induced respiration method

[13] Malkomes, H.-P. (1986). EinfluB von Glukosemenge auf die Reaktion der Kurzzeit-Atmung im Boden Gegeniiber Pflanzenschutzmitteln, Dargestellt am Beispiel eines Herbizide. (Influence of the Amount of Glucose Added to the Soil on the Effect of Pesticides in Short-Term Respiration, using a Herbicide as an Example). Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd., Braunschweig, 38: 113-120

[14] Litchfield, J.T. and Wilcoxon, F. (1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. Jour. Pharmacol. and Exper. Ther., 96, 99—113

[15] Finney, D.J. (1971). Probit Analysis. 3rd ed., Cambridge, London and New-York

[16] Finney D.J. (1978). Statistical Methods in biological Assay. Griffin, Weycombe, UK

УДК 658.382.3:006.354 МКС 71.040.50 IDT

Ключевые слова: метод, химическая продукция, опасность, окружающая среда, почва, микроорганизм, трансформация, углерод

Редактор *Е.И. Мосур*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.С. Кабашова*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 02.04.2019. Подписано в печать 18.04.2019. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 0,90.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru