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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32632— 2014

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Определение репродуктивной способности коллембол

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 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский центр стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ» (ФГУП «ВНИЦСМВ») и Техническим комитетом по стандартизации ТК 339 «Безопасность сырья, материалов и веществ» 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 30 мая 2014 г. № 67-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
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Туркмения	TM	Главгосслужба «Туркменстандартлары»
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 3 октября 2014 г. № 1268-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32632—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июня 2015 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD, Test No. 232:2009 «Определение репродуктивной способности коллембол» («Collembolan Reproduction Test in Soil», IDT).

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

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Май 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 Нормативные ссылки . . . 1
3 Термины и определения . . . 1
4 Общие сведения . . . 2
5 Принцип теста . . . 2
6 Информация об исследуемом веществе . . . 2
7 Достоверность теста . . . 3
8 Стандартные вещества . . . 3
9 Описание теста . . . 3
9.1 Тестовые контейнеры и оборудование . . . 3
9.2 Подготовка тестируемой почвы . . . 3
9.3 Отбор и подготовка тестовых организмов . . . 4
9.4 Подготовка тестовых контейнеров и тестируемых концентраций исследуемого вещества . . . 4
10 Процедура тестирования . . . 5
10.1 Условия проведения теста . . . 5
10.2 Процедура теста и измерения . . . 5
10.3 Порядок проведения теста . . . 6
10.4 Окончательный тест . . . 6
11 Данные и отчет о проведении теста . . . 7
11.1 Обработка результатов . . . 7
11.2 LC_x и EC_x . . . 7
11.3 NOEC/LOEC . . . 7
11.4 Пороговый тест . . . 7
11.5 Отчет о проведении испытания . . . 7
Приложение А (рекомендуемое) Определение максимальной влагоудерживающей способности тестируемой почвы (ВС) . . . 9
Приложение В (рекомендуемое) Определение pH тестируемой почвы . . . 9
Приложение С (рекомендуемое) Основные шаги и график проведения тестирования . . . 10
Приложение D (рекомендуемое) Выращивание и синхронизация *F. fimetaria* и *F. candida* . . . 11
Приложение Е (рекомендуемое) Экстракция и подсчет коллембол . . . 13
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам . . . 14
Библиография . . . 15

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Определение репродуктивной способности коллембол

Testing of chemicals of environmental hazard.
Collembolan reproduction test in soil

Дата введения — 2015—06—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод оценки воздействия исследуемого вещества на репродуктивную способность коллембол в почве.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ISO 11268-2:1998, Soil quality — Effects of pollutants on earthworms (Eisenia fetida) — Part 2: Determination of effects on reproduction [Качество почвы. Воздействие загрязняющих веществ на земляных червей (Eisenia fetida). Часть 2. Определение воздействия на их размножение][1)]

ISO 10390:2005, Soil quality — Determination of pH (Качество почвы. Определение pH)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **наименьшая наблюдаемая эффективная концентрация** (lowest observed effect concentration, 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.

3.2 **неэффективная наблюдаемая концентрация** (no observed effect concentration, NOEC): Концентрация исследуемого вещества, находящаяся сразу под LOEC, которая не оказывает никакого статистически значимого воздействия (при $p < 0,05$) по сравнению с контрольным тестом в пределах установленного периода экспозиции.

3.3 **эффективная концентрация EC_x** (effect concentration): Концентрация исследуемого вещества, которая оказывает x%-ное воздействие на тестовые организмы по сравнению с воздействием на контрольные организмы в пределах установленного периода экспозиции. Например, EC_{50} представляет собой концентрацию, которая оказывает ожидаемое воздействие на 50% тестовой популяции в течение установленного периода экспозиции.

Все используемые концентрации выражаются как отношение массы исследуемого вещества к сухой массе тестовой почвы.

[1)] Заменен на ISO 11268-2:2012.

Издание официальное

4 Общие сведения

Для проведения тестирования наиболее подходящими являются почвенные виды коллембол, среди которых наиболее распространенными и простыми в культивировании являются партеногенетические *Folsomia candida* и размножающиеся половым путем *Folsomia fimetaria*.

Коллемболы являются насекомыми с тонким наружным скелетом, чрезвычайно проницаемым для воздуха и воды. Коллемболы представляют собой вид членистоногих, отличающийся от дождевых червей и энхитреид по маршруту и скорости воздействия на них химических веществ в почве.

Плотность популяции коллембол обычно достигает 10^5 $м^{-2}$ в почве и слоях лесной подстилки во многих наземных экосистемах. Взрослые особи коллембол обычно достигают размеров 0,5—5,0 мм, их вклад в общую биомассу и дыхание почвенных организмов довольно низкий и составляет от 1 % до 5 %. Таким образом, наиболее значительная функция коллембол может заключаться в потенциальном регулировании почвенных процессов через потребление микроорганизмов и микрофауны. Коллемболами питается большое количество эндогенных и эпигенных беспозвоночных, таких как клещи, многоножки, пауки, жужелицы и стафилины. Коллемболы участвуют в процессах разложения в кислых почвах, где они могут быть наиболее распространенными беспозвоночными, не считая энхитреид, поскольку дождевые черви и диплоподы, как правило, в кислых почвах не обитают.

Вид *F. fimetaria* распространен во всем мире и является общим для нескольких типов почв — от песчаных до суглинистых и от мюллевых до кислых. Коллемболы данного вида слепые и непигментированные. Вид является всеядным и питается грибковыми гифами, бактериями, простейшими и детритом. При питании коллемболы данного вида могут взаимодействовать с патогенными грибами, вызывающими инфицирование растений, и оказывать влияние на микоризы, как известно, в случае *F. candida*. Как и большинство видов коллембол, данный вид размножается половым путем, для оплодотворения требуется постоянное присутствие мужских особей.

Вид *F. candida* также распространен по всему миру. Данный вид часто встречается в больших количествах в богатых гумусом областях. Коллемболы данного вида слепые, непигментированные, имеют хорошо развитые фурки (прыжковый механизм), которые позволяют им активно двигаться в случае опасности. Экологическая роль *F. candida* схожа с ролью *F. fimetaria*, но *F. candida* обитают в почвах, более богатых органическим материалом. Вид размножается посредством партеногенеза. Количество мужских особей составляет менее 1 на 1000.

5 Принцип теста

5.1 Синхронные взрослые особи (*F. fimetaria*) или личинки (*F. candida*) коллембол подвергают воздействию исследуемого вещества в определенном диапазоне концентраций. Для тестирования исследуемое вещество смешивают с модифицированной искусственной почвой ОЭСР с добавлением 5 % органического материала или альтернативной почвой. Тест выполняется в два этапа:

- тестирование по подбору диапазона концентраций (если отсутствует достаточная информация о токсичности), в котором основными конечными показателями являются смертность и воспроизводимость. Данные показатели оцениваются через 2 нед для *F. fimetaria* и через 3 нед для *F. candida*;
- окончательный тест на воспроизводимость, в котором оценивается общее число личинок, произведенных родительскими особями коллембол, и выживаемость родительских особей коллембол. Продолжительность окончательного теста составляет 3 нед для *F. fimetaria* и 4 нед для *F. candida*.

5.2 Воздействие исследуемого вещества на смертность и воспроизводство взрослых коллембол выражается в виде LC_x (летальной концентрации, которая приводит к x%-ной гибели тестовой группы) и EC_x (эффективной концентрации, которая приводит к x%-ному снижению воспроизводства в тестовой группе) соответственно. Эти показатели рассчитываются путем нелинейного регрессионного анализа результатов теста или в альтернативном случае в виде NOEC и/или LOEC.

6 Информация об исследуемом веществе

6.1 Информация об исследуемом веществе должна содержать сведения о физических свойствах, растворимости в воде, коэффициенте распределения октанол/вода, K_{OW}, коэффициенте распределения почва/вода и давление паров. Также ценной будет дополнительная информация о поведении исследуемого вещества в почве, например скорости фотолиза, гидролиза и биоразложения. В отчете о проведении теста необходимо указать информацию о химической идентификации исследуемого вещества, в том числе наименование по IUPAC, номер CAS, номер партии, структурную формулу и чистоту.

6.2 Тест может использоваться для веществ, растворимых в воде и нерастворимых. Однако способы внесения исследуемого вещества в почву будут соответственно различаться. Тест не используется для летучих веществ, то есть веществ, для которых константы Генри или коэффициент распределения воздух/вода больше единицы, или веществ, давление паров которых превышает 0,0133 Па при 25 °С.

7 Достоверность теста

7.1 Тест считается достоверным, если для контрольной группы выполняются следующие условия:

- средняя смертность взрослых коллембол не должна превышать 20 % в конце теста;
- среднее количество личинок в одном тестовом сосуде должно быть не менее 100 в конце теста;
- коэффициент вариации, рассчитанный для количества личинок, должен быть не менее 30 % в конце окончательного теста.

8 Стандартные вещества

Стандартные вещества должны тестироваться при концентрации EC_{50} с учетом выбранного типа почвы либо через регулярные промежутки времени, либо включаться в каждое тестирование для подтверждения реакции тестовых организмов. В качестве стандартного вещества можно использовать борную кислоту, которая должна уменьшать воспроизводство *F. fimetaria* и *F. candida* на 50 % при концентрации около 100 мг/кг сухой почвы.

9 Описание теста

9.1 Тестовые контейнеры и оборудование

9.1.1 При тестировании можно использовать контейнеры вместимостью 30 г в расчете на влажную почву. Тестовые контейнеры должны быть изготовлены из стекла или нетоксичного инертного пластика. При тестировании адсорбирующихся веществ использования пластиковых контейнеров необходимо избегать. Площадь поперечного сечения тестового контейнера должна быть такой, чтобы обеспечивалась фактическая глубина слоя почвы, равная 2—4 см. Контейнеры должны быть снабжены крышками (изготовленными из стекла или полиэтилена), сконструированными таким образом, чтобы уменьшить потери воды вследствие испарения при поддержании газообмена между почвой и атмосферой. Контейнер должен быть по крайней мере частично прозрачным.

9.1.2 При тестировании используется лабораторное оборудование стандартного назначения:

- сушильный шкаф;
- стереомикроскоп;
- pH-метр и люксметр;
- весы необходимой точности;
- оборудование для контроля температуры;
- оборудование для контроля влажности воздуха (независимо от использования крышек);
- небольшое лабораторное помещение или инкубатор с контролем температуры;
- устройство для всасывания или щипцы для отбора коллембол из контейнеров для культивирования и перемещения в тестовые контейнеры.

9.2 Подготовка тестируемой почвы

9.2.1 При тестировании используется модифицированная искусственная почва ОЭСР с содержанием органического материала 5 %. В качестве альтернативы может использоваться натуральная почва. Искусственную почву готовят из следующих компонентов (в пересчете на сухое вещество, почву высушивают до постоянной массы при температуре 105 °С):

- 5 % сфагнового торфа, высушенного на воздухе и мелко измельченного (приемлемым является размер частиц от (2 ± 1) мм);
- 20 % каолина (с содержанием каолинита более 30 %);
- примерно 74 % высушенного на воздухе промышленного песка (в зависимости от необходимого содержания $CaCO_3$), в основном мелкий песок с более чем 50 % частиц размером от 50 до 200 мкм.

Точное количество песка зависит от содержания $CaCO_3$, совместное содержание песка и $CaCO_3$ должно составлять 75 %;

- < 1,0 % карбоната кальция ($CaCO_3$, измельченный, ч. д. а.) для достижения pH (6,0 ± 0,5), содержание карбоната кальция зависит от качества сфагнового торфа.

Примечания

1 Необходимое содержание $CaCO_3$ будет зависеть от компонентов почвенного субстрата и должно быть определено путем измерения pH отобранных непосредственно перед тестом образцов влажной почвы, прошедшей предварительную инкубацию.

2 Для возможности нормализации на поздней стадии теста и лучшей интерпретации результатов рекомендуется проводить измерения pH и при необходимости соотношения C/N, катионообменной емкости (КОЕ) и содержания органического материала в почве.

3 При необходимости для конкретных целей тестирования, в качестве тестируемой почвы и/или субстрата можно использовать натуральную почву, отобранную на незагрязненной местности. В отчете о проведении теста указывают характеристику такой почвы по происхождению (место отбора), текстуре (распределение частиц по размерам), pH, КОЕ и содержанию органических веществ. Прежде чем использовать натуральную почву в окончательном тесте, необходимо убедиться в ее пригодности для тестирования.

9.2.2 Сухие компоненты тщательно перемешивают (например, в лабораторном смесителе большого объема). Максимальная влагоудерживающая способность (ВС) искусственной почвы определяется в соответствии с процедурами, описанными в приложении А. Содержание влаги в тестируемой почве должно быть оптимизировано для получения структуры почвы, которая позволяет коллемболам проникать в поры почвы. Как правило, такое содержание влаги составляет 40 % — 60 % от максимальной ВС.

9.2.3 Сухую искусственную почву предварительно увлажняют до получения примерно половины окончательного содержания влаги для стабилизации кислотности путем добавления достаточного количества деионизированной воды за 2—7 дней до начала теста. Для определения pH используется смесь почвы и 1М раствор хлорида калия (KCl) или 0,01М раствор хлорида кальция ($CaCl_2$) в соотношении 1:5 (см. приложение В). При необходимости кислотность почвы можно отрегулировать путем добавления соответствующего количества $CaCO_3$. Если почва слишком щелочная, то щелочность может быть снижена путем добавления неорганических кислот, безвредных для коллембол.

9.2.4 Предварительно увлажненную почву делят на порции (для подготовки проб для тестирования всех выбранных концентраций, контрольной пробы и при необходимости пробы со стандартным веществом). Добавляют исследуемые вещества и регулируют содержание влаги в соответствии с 10.1.2.

9.3 Отбор и подготовка тестовых организмов

9.3.1 Для проведения тестирования рекомендуется использовать партеногенетический вид *F. candida*, поскольку в межлабораторном тестировании критерии достоверности по выживаемости для данного вида соблюдались чаще, чем для *F. fimetaria*. Если используются альтернативные виды коллембол, то они должны удовлетворять критериям достоверности в соответствии с разделом 7. В начале теста коллембол необходимо дать корм, и их возраст должен быть 23—26 дней (*F. fimetaria*) или 9—12 дней (*F. candida*). В каждой параллельной пробе необходимо использовать по 10 мужских и 10 женских особей (*F. fimetaria*) и 10 женских особей (*F. candida*) (см. приложения С и D).

9.3.2 Партии синхронных коллембол случайным образом отбирают из контейнеров для культивирования. Здоровье и физическое состояние коллембол из каждой партии проверяют перед добавлением в пробу. Каждую партию из 10 или 20 коллембол добавляют в выбранный случайным образом тестовый контейнер. При тестировании с *F. fimetaria* в тестовые партии отбирают наиболее крупных самок для обеспечения надлежащего отличия от самцов.

9.4 Подготовка тестовых контейнеров и тестируемых концентраций исследуемого вещества

9.4.1 Допускается внесение исследуемого вещества в почву следующими методами:

- внесение исследуемого вещества в почву с водой и перемешивание;
- внесение исследуемого вещества в почву с органическим растворителем и перемешивание;
- внесение исследуемого вещества в почву с песком и перемешивание;
- нанесение исследуемого вещества на поверхность почвы.

9.4.2 Выбор подходящего метода зависит от характеристик исследуемого вещества и целей тестирования. В общем случае рекомендуется перемешивание исследуемого вещества с почвой. Тем не менее могут потребоваться методы, которые соответствуют практическому использованию исследуемого вещества (распыление жидкого раствора на почву или применение специальных пестицидных препаратов, например гранул или растворов для протравливания семян). Почву обрабатывают исследуемым веществом до внесения коллембол, кроме случаев, когда исследуемое вещество наносят на поверхность почвы. Тогда коллемболы уже должны содержаться в почве.

9.4.3 Внесение исследуемого вещества, растворимого в воде

Готовят основной раствор исследуемого вещества в дистиллированной воде в количестве, достаточном для подготовки всех проб, необходимых для тестирования одной концентрации. Перед добавлением в тестовый контейнер каждый раствор исследуемого вещества тщательно перемешивают с одной партией предварительно увлажненной почвы.

9.4.4 Внесение исследуемого вещества, нерастворимого в воде

Исследуемое вещество, нерастворимое в воде, но растворимое в органических растворителях, может быть растворено в наименьшем возможном объеме подходящего растворителя (например, ацетона). Объем растворителя должен обеспечивать надлежащее перемешивание исследуемого вещества с почвой и с необходимой порцией кварцевого песка. Следует применять только летучие растворители.

При использовании органических растворителей все тестовые контейнеры и контрольная проба с растворителем должны содержать одинаковое минимальное количество растворителя. Тестовые контейнеры необходимо оставить открытыми на определенное время, чтобы растворитель испарился.

9.4.5 Внесение исследуемых веществ, плохо растворимых в воде и органических растворителях

Для внесения в почву исследуемых веществ, плохо растворимых в воде и органических растворителях, используется кварцевый песок. Количество песка должно учитываться при подготовке искусственной почвы (см. 9.2.1). Песок смешивают с необходимым количеством исследуемого вещества для получения требуемой тестируемой концентрации. Данную смесь добавляют в предварительно увлажненную почву и тщательно перемешивают после добавления дистиллированной воды для получения установленной влажности почвы. Полученную смесь распределяют между тестовыми контейнерами. Процедуру повторяют для каждой тестируемой концентрации, также готовят контрольную пробу.

9.4.6 Нанесение исследуемого вещества на поверхность почвы

При тестировании пестицидов наиболее целесообразным является их нанесение на поверхность почвы путем распыления. Почву обрабатывают исследуемым веществом после добавления коллембол. Тестовые контейнеры сначала наполняют подготовленной увлажненной почвой, затем добавляют коллембол и взвешивают. Во избежание прямого контакта коллембол с исследуемым веществом при нанесении исследуемое вещество наносят как минимум по прошествии 30 мин после добавления коллембол.

Исследуемое вещество необходимо наносить на поверхность почвы равномерно с помощью подходящего лабораторного устройства для имитации распыления на сельскохозяйственных полях. Исследуемое вещество наносят при температуре (20 ± 2) °С. Для водных растворов, эмульсий или дисперсий норма расхода устанавливается в соответствии с инструкцией по применению. Норма расхода исследуемого вещества должна быть подтверждена с помощью калиброванного оборудования. Специальные препараты, такие как гранулы или растворы для протравливания семян, можно наносить в соответствии с их сельскохозяйственным использованием.

10 Процедура тестирования

10.1 Условия проведения теста

10.1.1 Тестирование проводится при температуре (20 ± 2) °С и контролируемом освещении (желательно в последовательности — 12 ч свет, 12 ч темнота), освещенность должна поддерживаться на уровне от 400 до 800 лк.

10.1.2 Для проверки влажности почвы тестовые контейнеры взвешивают в начале, середине и конце теста. Потеря массы > 2 % пополняется за счет добавления деионизированной воды. Следует учитывать, что потери воды могут быть уменьшены за счет поддержания высокой влажности воздуха (> 80 %) в помещении для тестирования (инкубаторе).

10.1.3 Необходимо измерять pH в начале и конце теста по подбору диапазона концентраций и окончательного теста. Измерения следует проводить для одной дополнительной контрольной пробы и дополнительных тестовых проб (для всех тестируемых концентраций), подготовленных и обработанных аналогично обработке тестовых проб, но без добавления коллембол.

10.2 Процедура теста и измерения

10.2.1 Для каждой тестируемой концентрации массу тестируемой почвы (примерно 30 г сырой почвы) помещают в тестовый контейнер. Также готовят контрольные пробы с водой без добавления исследуемого вещества. Если для внесения исследуемого вещества используется растворитель, то

дополнительно к серии тестовых проб готовят одну контрольную пробу с растворителем. Объем растворителя в контрольной пробе должен быть таким же, как в тестовых пробах.

10.2.2 Коллемболы индивидуально переносят в каждый тестовый контейнер (коллемболы в тестовые контейнеры распределяют случайным образом) и помещают на поверхность почвы. Для эффективного переноса может быть использовано устройство для всасывания. Тестовые контейнеры располагают в помещении для тестирования (инкубаторе) в случайном порядке, расположение тестовых контейнеров меняют раз в неделю.

10.2.3 Для каждой тестовой пробы используют 20 взрослых особей *F. fimetaria*, 10 самцов и 10 самок, в возрасте от 23 до 26 дней. На 21-й день теста коллемболы извлекают из почвы и подсчитывают. Для *F. fimetaria* пол животных различают по размеру животных в синхронизированной партии, женские особи значительно крупнее мужских (см. приложение D).

10.2.4 Для *F. candida* используют 10 взрослых личинок в возрасте от 9 до 12 дней для каждой тестовой пробы. На 28-й день теста коллемболы извлекают из почвы и подсчитывают.

10.2.5 В качестве корма в каждый тестовый контейнер добавляют достаточное количество, например 2—10 мг, гранулированных сухих пекарских дрожжей приблизительно через каждые две недели.

10.2.6 По окончании теста оценивают смертность и воспроизводство коллембол. По прошествии 3 (*F. fimetaria*) или 4 (*F. candida*) нед коллембол извлекают из тестируемой почвы и подсчитывают (см. приложение E). Смертность коллембол регистрируется, если их не удалось извлечь из почвы. Методы экстракции и подсчета должны быть достоверными, в частности эффективность экстракции личинок должна быть более 95 % при известном количестве личинок, внесенных в почву.

10.2.7 Практическое резюме и график тестирования приведены в приложении C.

10.3 Порядок проведения теста

10.3.1 Тест по подбору диапазона концентраций

10.3.1.1 При необходимости тест по подбору диапазона концентраций проводится, например с пятью концентрациями исследуемого вещества — 0,1, 1,0, 10, 100 и 1000 мг/кг сухой почвы, а также с двумя параллельными пробами для каждой тестовой пробы и контрольной пробы. Дополнительная информация, полученная из результатов тестов с аналогичными веществами на смертность или воспроизведение коллембол или из справочных источников, также может иметь значение при выборе тестируемых концентраций, которые будут использоваться в тесте по подбору диапазона концентраций.

10.3.1.2 Продолжительность теста по подбору диапазона концентраций составляет 2 нед для *F. fimetaria* и 3 нед для *F. candida* для гарантии того, что была произведена одна кладка личинок. В конце теста оценивают смертность и воспроизводство коллембол. Количество взрослых коллембол и появившихся личинок должно быть зарегистрировано.

10.4 Окончательный тест

10.4.1 Для определения EC_x (например, EC_{10}, EC_{50}) необходимо протестировать двенадцать концентраций. Для каждой тестируемой концентрации рекомендуется использовать как минимум по две параллельные пробы, а также шесть параллельных контрольных проб.

10.4.2 Для определения NOEC/LOEC необходимо протестировать как минимум пять концентраций, составляющих геометрическую прогрессию со знаменателем не более 1,8. Рекомендуется использовать четыре параллельные пробы для каждой тестируемой концентрации и восемь параллельных контрольных проб.

10.4.3 Комбинированный подход к проведению тестирования позволяет одновременно определять EC_x и NOEC/LOEC. При комбинированном подходе необходимо протестировать восемь концентраций исследуемого вещества, представляющих собой геометрическую прогрессию со знаменателем не более 1,8. Рекомендуется использовать четыре параллельные пробы для каждой тестируемой концентрации и восемь параллельных контрольных проб.

10.4.4 Если при тестировании наибольшей концентрации исследуемого вещества в тесте по подбору диапазона концентраций (то есть 1000 мг/кг) не наблюдается никакого воздействия, то тест на воспроизводство может проводиться как пороговый с концентрацией исследуемого вещества 1000 мг/кг и контрольной пробой. Пороговый тест проводится для демонстрации того, что пороговая концентрация исследуемого вещества не оказывает никакого статистически значимого воздействия. Для каждой тестовой и контрольной пробы необходимо использовать по восемь параллельных проб.

11 Данные и отчет о проведении теста

11.1 Обработка результатов

11.1.1 Основным конечным показателем теста является репродуктивный выход (например, число личинок, произведенных в одном тестовом контейнере). Для обработки индивидуальных данных может использоваться статистический анализ, например процедуры ANOVA, тесты Стьюдента, Даннета и Уильямса с 95%-ными доверительными интервалами.

11.1.2 Основным критерием достоверности теста является число выживших взрослых коллембол в необработанных контрольных пробах. Этот показатель должен быть зарегистрирован. Как и для теста по подбору диапазона концентраций, любые признаки воздействия должны быть представлены в отчете о проведении теста.

11.2 LC_x и EC_x

Значения EC_x с указанием нижней и верхней границ 95%-ного доверительного интервала вычисляют с помощью определенных статистических методов (например, логистического преобразования, функции Вейбулла, метода Спирмэна — Кербера или простой интерполяции). Для вычисления EC_x необходимо провести регрессионный анализ полного набора данных и вывести соответствующее регрессионное уравнение. LC_{50} обычно оценивается с помощью пробит-преобразования или аналогичного анализа, который учитывает биномиальное распределение данных о смертности.

11.3 NOEC/LOEC

11.3.1 Если статистический анализ проводится для определения NOEC/LOEC, то необходим анализ данных для каждого тестового контейнера (с учетом параллельных проб для данного контейнера). В общем случае негативное воздействие исследуемого вещества по сравнению с таковым в контрольной пробе исследуют с помощью одностороннего критерия проверки гипотез при $p \le 0,05$.

11.3.2 Нормальное распределение и однородность дисперсии могут быть проверены с помощью статистических тестов, например теста Шапиро — Вилка и теста Левена соответственно ($p \le 0,05$). Могут проводиться односторонний анализ (ANOVA) и последующие сравнительные тесты. Для оценки значительных различий ($p \le 0,05$) между контрольными значениями и значениями для различных тестируемых концентраций могут быть использованы сравнительные тесты (например, тест Даннета) или критерий хи-квадрат (например, тест Вильямса). Для определения NOEC и LOEC могут использоваться также непараметрические методы (например, U-тест Бонферрони в соответствии с тестом Холма или Джонкхиера — Терпстра).

11.4 Пороговый тест

11.4.1 Если проводился пороговый тест (сравнение результата контрольного теста и результата теста только одной пороговой пробы) и были выполнены условия параметрической процедуры тестирования (нормальность, однородность), то метрические отклики могут быть оценены с помощью теста Стьюдента (*t*-теста). *t*-тест с неравной дисперсией (*t*-тест Велча) или непараметрические тесты, такие как U-тест Манна — Уитни, могут использоваться, если данные требования не выполняются.

11.4.2 Для определения существенных различий между контрольными значениями (контрольная проба и контрольная проба с растворителем) параллельные пробы для каждой контрольной пробы должны быть протестированы, как описано для пороговых тестов. Если данные тесты не обнаруживают существенных различий, то все параллельные пробы для контрольной пробы и контрольной пробы с растворителем могут быть объединены. В противном случае все тестовые значения должны сравниваться с контрольной пробой с растворителем.

11.5 Отчет о проведении испытания

Отчет о проведении испытания должен содержать следующую информацию:

- об исследуемом веществе:
  - идентификация исследуемого вещества, номер партии и номер CAS, чистота;
  - физико-химические свойства исследуемого вещества (коэффициент распределения октанол/вода, K_{OW}, растворимость в воде, давление паров);
  - константа Генри и информация о поведении исследуемого вещества в почве, если такая информация доступна;

- если проводится тестирование исследуемого вещества в составе смеси (препарата), то сведения о подготовке исследуемого вещества и используемых добавках;
- о тестовом виде:
- идентификация вида и поставщика, описание условий размножения и возрастной диапазон используемых коллембол;
- об условиях тестирования:
- описание последовательности и процедуры тестирования;
- сведения о подготовке тестируемой почвы; подробные сведения об используемой натуральной почве (происхождение, история, распределение частиц по размерам, pH, содержание органических веществ);
- влагоудерживающая способность почвы;
- описание используемой техники для внесения исследуемого вещества в почву;
- интенсивность освещения, продолжительность циклов освещения, температура;
- описание режима кормления, тип и количество пищи, даты кормления;
- pH и содержание воды в почве в начале и в конце теста (в каждой пробе, включая контрольные);
- подробное описание метода экстракции коллембол и эффективность экстракции.

Результаты теста:

- число личинок в каждом тестовом контейнере в конце теста;
- число взрослых коллембол и их смертность (%) в каждом тестовом контейнере в конце теста;
- описание очевидных физиологических или патологических симптомов или отдельные изменения в поведении коллембол;
- результаты, полученные при тестировании со стандартным веществом;
- значения NOEC/LOEC, LC_x для смертности и EC_x для воспроизводства (в основном LC_{50}, LC_{10}, EC_{50} и EC_{10}) с доверительными интервалами 95 %, график подходящей функции, используемой для расчета указанных значений, уравнение и параметры функции;
- любая информация и наблюдения, которые могут оказаться полезными для интерпретации результатов;
- значимость теста, если он проводился для проверки гипотез;
- отклонения от процедур тестирования, представленных в настоящем стандарте, любые инциденты во время тестирования;
- достоверность теста;
- если оценивается NOEC, то указывают минимальное обнаруживаемое различие.

Приложение А
(рекомендуемое)

Определение максимальной влагоудерживающей способности тестируемой почвы (ВС)

А.1 Отбирают образец (5 г) тестируемой почвы, используя устройство для отбора проб (пробоотборную трубку и др.). Нижнюю часть трубки закрывают отрезком влажной фильтровальной бумаги и помещают ее на решетке в водяную баню. Трубку необходимо постепенно погружать в воду до тех пор, пока уровень воды не поднимется выше уровня почвы. Трубку оставляют в воде как минимум на 3 ч. Поскольку не вся поглощенная почвой влага может быть удержана за счет капиллярных сил, пробу почвы необходимо высушивать в течение 2 ч. Для этого трубку помещают в закрытый контейнер (для предотвращения высыхания) на подложку из очень влажного измельченного кварцевого песка. Затем образец почвы взвешивают, высушивают до постоянной массы при температуре 105 °С и снова взвешивают.

А.2 Влагоудерживающую способность рассчитывают по формуле

$$\text{ВС (в \% от сухой массы)} = \frac{S - T - D}{D} 100,$$

где S — масса насыщенного водой образца почвы + масса трубки + масса фильтровальной бумаги;
T — масса тары (масса трубки + масса фильтровальной бумаги);
D — масса высушенного образца почвы [1].

Приложение В
(рекомендуемое)

Определение pH тестируемой почвы

Образец тестируемой почвы (5 г) сушат при комнатной температуре в течение как минимум 12 ч. Высушенный образец разбавляют пятикратным объемом 1М раствора хлорида калия аналитической чистоты (KCl) или 0,01М раствора химически чистого хлорида кальция ($CaCl_2$). Полученную суспензию тщательно встряхивают в течение 5 мин, а затем отстаивают в течение как минимум 2 ч, но не более 24 ч. Затем с помощью pH-метра определяют pH жидкой фазы. pH-метр калибруют перед каждым измерением с использованием соответствующих буферных растворов (pH 4,0 и 7,0) [2].

Приложение С
(рекомендуемое)

Основные шаги и график проведения тестирования

Таблица С.1 — Основные шаги и график проведения тестирования

Время (дни)	Действие
26—23 до начала тестирования	Подготовка синхронной культуры *F. fimetaria*
14 до начала тестирования	Подготовка искусственной почвы (перемешивание сухих составляющих) Измерение pH искусственной почвы и соответствующая корректировка Измерение максимальной влагоудерживающей способности почвы (ВС)
12—9 до начала тестирования	Подготовка синхронной культуры *F. candida*
7—2 до начала тестирования	Предварительное увлажнение почвы
1 до начала тестирования	Распределение коллембол в тестовые группы Подготовка раствора исследуемого вещества в органическом растворителе Внесение исследуемого вещества в тестируемую почву
0	Подготовка основного раствора исследуемого вещества в воде Внесение исследуемого вещества в тестируемую почву [для веществ, растворимых в воде, твердых веществ и препаратов (при поверхностном нанесении)] Измерение pH тестируемой почвы, взвешивание тестовых контейнеров Добавление корма. Внесение коллембол
14	Тестирование по подбору диапазона концентраций для *F. fimetaria*: прекращение теста, экстракция коллембол, измерение pH почвы и потерь воды (по массе) Окончательное тестирование: измерение и корректировка влажности почвы (добавление деионизированной воды), добавление корма (2—10 мг дрожжей)
21	Окончательное тестирование *F. fimetaria*: прекращение теста, экстракция коллембол, измерение pH почвы и потерь воды (по массе) Тестирование по подбору диапазона концентраций для *F. candida*: прекращение теста, экстракция коллембол, измерение pH почвы и потерь воды (по массе)
28	Окончательное тестирование *F. candida*: прекращение теста, экстракция коллембол, измерение pH почвы и потерь воды (по массе)

Приложение D
(рекомендуемое)

Выращивание и синхронизация *F. fimetaria* и *F. candida*

D.1 Параметры синхронизации, указанные в настоящем приложении, необходимо подтверждать для каждого конкретного штамма коллембол, гарантируя, что используемая длительность синхронизации позволит получить достаточно синхронизированных личинок. В общем случае подходящее время для сбора яиц и синхронизированных личинок определяется временем откладывания яиц после перемещения взрослых особей в свежий субстрат и периодом инкубации яиц.

Для выращивания и синхронизации новой культуры коллембол рекомендуется иметь постоянную основную культуру, размещенную примерно в 50 чашках Петри. Основную культуру необходимо поддерживать в хороших питательных условиях за счет еженедельно кормления, полива и удаления продуктов жизнедеятельности. Внесение слишком малого количества особей коллемболы в субстрат может привести к ингибированию роста культуры за счет роста грибков.

Если основная культура используется для получения яиц слишком часто, то это может привести к утомлению культуры. Признаком утомления является появление мертвых взрослых особей и плесени на субстрате. Оставшиеся яйца от производства синхронных коллембол могут использоваться для омоложения культуры.

В синхронной культуре *F. fimetaria* мужские особи отличаются от женских в первую очередь по размеру. Мужские особи очевидно меньше женских, и скорость передвижения самцов значительно больше. Для правильного отбора мужской или женской особи требуется практика, отбор может быть подтвержден микроскопическим осмотром половых органов.

D.2 Выращивание коллембол

D.2.1 Подготовка субстрата для культивирования

В качестве субстрата для культивирования используется гипс (сульфат кальция) с добавлением активного угля. Данный субстрат обеспечивает достаточную влажность, а уголь выполняет функцию поглотителя отходящих газов и продуктов жизнедеятельности. Для облегчения наблюдений за коллемболами может использоваться уголь различной формы. Для *F. candida* и *F. fimetaria* используется измельченный уголь (черный или серый гипс).

Субстрат состоит из:

- 20 мл активного угля;
- 200 мл дистиллированной воды;
- 200 мл гипса;

или

- 50 г измельченного активного угля;
- 260—300 мл дистиллированной воды;
- 400 г гипса.

Готовят суспензию гипса и активного угля в дистиллированной воде, перед использованием отстаивают.

D.2.2 Культивирование

Коллемболы содержат в лабораторных емкостях, таких как чашки Петри (90 × 13 мм), на 0,5 см заполненных субстратом. Культивирование проводят при (20 ± 1) °С и освещении в последовательности — 12 ч свет, 12 ч темнота (400—800 лк). В емкостях поддерживается постоянная влажность таким образом, чтобы относительная влажность воздуха внутри емкости составляла 100 %. Такая влажность может достигаться за счет присутствия свободной воды в порах гипса, при этом следует избегать появления водяной пленки на поверхности гипса.

Потери воды могут быть компенсированы за счет пропускания влажного воздуха. Погибших коллембол, а также заплесневелый корм необходимо удалять из емкостей для культивирования. Для стимулирования откладывания яиц взрослые коллемболы необходимо переносить в чашки Петри со свежим субстратом.

D.2.3 Кормление

В качестве корма для *F. candida* и *F. fimetaria* используют гранулированные сушеные пекарские дрожжи. Свежий корм добавляют в емкости для культивирования один или два раза в неделю, не допуская его заплесневения. Корм помещают непосредственно на субстрат небольшими порциями. Количество добавляемых дрожжей должно быть скорректировано в зависимости от численности популяции коллембол, но, как правило, достаточно 2—15 мг.

D.3 Синхронизация коллембол

Тестирование необходимо проводить с синхронизированными коллемболами. Кроме того, синхронизация позволяет провести дискриминацию мужских и женских особей *F. fimetaria* в возрасте от 3 нед и далее на основе полового диморфизма, то есть различия в размерах. Описанная ниже процедура является руководством по получению синхронизированных коллембол (практические шаги не являются обязательными).

D.3.1 Этапы синхронизации:

- готовят чашки Петри со слоем субстрата высотой 0,5 см;
- для откладывания яиц переносят 150—200 взрослых *F. fimetaria* и 50—100 взрослых *F. candida* из 15—20 лучших емкостей с основной культурой с четырех—восьминедельным субстратом в емкости для культивирования и добавляют 15 мг пекарских дрожжей. Следует избегать переноса личинок совместно со взрослыми коллемболами, так как присутствие личинок может ингибировать откладывание яиц;
- культуру коллембол содержат при температуре (20 ± 1) °С (средняя температура должна составлять 20 °С) и освещении в последовательности — 12 ч свет, 12 ч темнота (400—800 лк). Необходимо обеспечить свежий корм и достаточную влажность воздуха, недостаток корма может привести к росту грибка на яйцах вследствие дефекации или поеданию яиц (*F. candida*);
- по прошествии 10 дней яйца тщательно собирают с помощью иглы и шпателя и переносят на фильтровальную бумагу (небольшие кусочки фильтровальной бумаги, погруженные в суспензию субстрата), которую помещают в контейнер со свежим субстратом. Несколько зерен дрожжей добавляют в субстрат для привлечения личинок так, чтобы они смогли оторваться от бумаги. Важно, чтобы фильтровальная бумага и субстрат были влажными, в противном случае яйца будут обезвожены. В альтернативном случае взрослые коллемболы могут удаляться из емкостей для культивирования после производства яиц на 2-й или 3-й день;
- через три дня большая часть яиц, помещенных на бумагу, вылупляется, и некоторые личинки могут быть обнаружены под бумагой;
- для получения личинок одного возраста фильтровальную бумагу с невылупившимися яйцами удаляют из чашки Петри с помощью щипцов. Личинки, находящиеся в возрасте 0—3 дня, помещают в другую емкость, в качестве корма используют пекарские дрожжи, невылупившиеся яйца удаляют;
- яйца и вылупившиеся личинки культивируют таким же образом, как и взрослых коллембол. В частности, для *F. fimetaria* должны быть приняты следующие меры — обеспечение свежего корма, удаление старого заплесневелого корма. По прошествии одной недели личинки помещают в новые чашки Петри, обеспечивая плотность выше 200.

D.3.2 Обработка коллембол в начале тестирования:

- *F. candida* в возрасте 9—12 дней или *F. fimetaria* в возрасте 23—26 дней собирают, например с помощью устройства для всасывания, и помещают в небольшой контейнер с влажным субстратом. Физическое состояние коллембол проверяют под бинокулярным микроскопом (травмированных и поврежденных коллембол удаляют). Все процедуры необходимо проводить, поддерживая коллембол во влажной атмосфере для того, чтобы избежать высыхания, например используя влажные поверхности и пр.;
- коллемболы перемещают в тестовые контейнеры. Для этого контейнер переворачивают и аккуратно постукивают по нему для того, чтобы все коллемболы были перемещены в тестовый контейнер. Статическое электричество должно быть нейтрализовано, иначе коллемболы могут зависнуть в воздухе или не попасть в контейнер. Для нейтрализации необходимо использовать ионизатор или влажную ткань, покрывающую контейнер;
- корм необходимо размещать равномерно по всей поверхности тестируемой почвы;
- во время транспортировки и тестового периода следует избегать ударов и иного физического воздействия на тестовые контейнеры, так как это может увеличить уплотнение почвы и препятствовать взаимодействию между коллемболами.

D.4 Альтернативные виды коллембол

Для тестирования также могут использоваться другие виды коллембол, такие как *Proisotoma minuta*, *Isotoma viridis*, *Isotoma anglicana*, *Orchesella cincta*, *Sinella curviseta*, *Paronychiurus kimi*, *Orthonychiurus folsomi*, *Mesaphorura macrochaeta*. Прежде чем использовать альтернативные виды, необходимо выполнить ряд требований:

- виды должны быть однозначно идентифицированы;
- в отчете о проведении теста необходимо приводить обоснование выбора вида;
- репродуктивная стадия коллембол должна входить в период тестирования, поскольку репродуктивная стадия является одним из объектов тестирования;
- должна быть известна информация о выращивании видов — возраст созревания, продолжительность развития яиц, возраст тестирования;
- тестовый субстрат и корм должны обеспечивать оптимальные условия для роста и размножения коллембол;
- изменчивость должна быть достаточно низкой для точной и достоверной оценки токсичности.

Приложение Е
(рекомендуемое)

Экстракция и подсчет коллембол

Е.1 Экстракция коллембол

Е.1.1 Существует два метода экстракции.

В первом методе используют экстрактор с контролем температурного градиента. Тепло поступает от нагревательного элемента в верхней части экстрактора (регулируется с помощью термистора, помещенного на поверхности пробы почвы). Температура охлажденной жидкости, окружающей емкость для сбора коллембол, регулируется с помощью термистора, расположенного на поверхности емкости (ниже среднего слоя почвы). Термисторы связаны с программируемым контрольным блоком, который повышает температуру в соответствии с предварительно установленным графиком. Коллемболы собираются в охлажденной емкости (2 °С), заполненной слоем гипса или угля.

Экстракция начинается при температуре 25 °С, и температура автоматически увеличивается каждые 12 ч на 5 °С. Экстракция продолжается в течение 48 ч. Через 12 ч при температуре 40 °С экстракция завершается.

Во втором методе количество появившихся личинок коллембол оценивается методом флотации. С этой целью тестирование проводится в емкостях объемом около 250 мл. По окончании тестирования в емкость добавляют около 200 мл дистиллированной воды. Почву осторожно перемешивают с водой с помощью тонкой кисти для того, чтобы коллемболы могли выплыть на поверхность воды. Для облегчения подсчета за счет увеличения контраста между водой и светлоокрашенными коллемболами в воду можно добавить небольшое количество, примерно 0,5 мл, черного фотографического красителя Kentmere. Данный краситель не токсичен для коллембол.

Е.2 Подсчет коллембол

Е.2.1 Подсчет может осуществляться на глаз, под световым микроскопом с использованием сетки, помещенной над флотационной емкостью, или на увеличенных фотографиях каждой емкости. Подсчет также может выполняться с использованием цифровой обработки изображений. Все используемые методы должны быть достоверными.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 11268-2:1998	—	*
ISO 10390:2005	—	*
* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного межгосударственного стандарта.		

Библиография

[1] Wiles J.A. and Krogh P.H. (1998). Testing with the collembolans I. viridis, F. candida and F. fimetaria. In Handbook of soil invertebrate toxicity tests (ed. H Løkke and CAM Van Gestel), pp. 131—156. John Wiley & Sons, Ltd., Chichester

[2] ISO (1999) Soil Quality — Effects of soil pollutants on Collembola (Folsomia candida): Method for determination of effects on reproduction. No. 11267. International Organisation for Standardisation, Geneve

[3] Burges A. and Raw F. (Eds) (1967). Soil Biology. Academic Press. London

[4] Petersen H. and Luxton M. (1982). A comparative analysis of soil fauna populations and their role in decomposition processes. Oikos 39: 287—388

[5] Petersen H. (1994). A review of collembolan ecology in ecosystem context. Acta Zoologica Fennica 195: 111—118

[6] Hopkin S.P. (1997). Biology of the Springtails (Insecta: Collembola). Oxford University Press. 330 pp. (ISBN 0-19-854084-1)

[7] Ulber B. (1983). Einfluss von Onychirurus fimatus Gisin (Collembola, Onychiuridae) und Folsomia fimetaria L. (Collembola, Isotomidae) auf Pythium ultimum Trow. einen Erreger des Wurzelbrandes der Zuckerrübe. In New trends in soil Biology (Lebrun Ph., André H.M., De Medts A., Grégoire-Wibo, Wauthy G (Eds), Proceedings of the VI. international colloquium on soil zoology, Louvain-la-neuve (Belgium), 30 August — 2 September 1982, I Dieu-Brichart, Ottignies-Louvain-la-Neuve, pp. 261—268

[8] OECD (2006), Predatory mite [Hypoaspis (Geolaelaps) aculeifer] reproduction test in soil, Test Guideline No. 226. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD, Paris

[9] OECD (2006), Current approaches in the statistical analysis of ecotoxicity data: a guidance to application. OECD series on testing and assessment Number 54, ENV/JM/MONO(2006)18, OECD Paris

[10] Scott-Fordsmand J.J. and Krogh P.H. (2005). Background report on prevalidation of an OECD springtail test guideline. Environmental Project Nr. 986. Miljøstyrelsen 61 pp. Danish Ministry for the Environment.

[11] Krogh P.H. (2009). Toxicity testing with the collembolans Folsomia fimetaria and Folsomia candida and the results of a ringtest. Danish Environmental Protection Agency, Environmental Project No. 1256, pp. 66

[12] Krogh P.H., Johansen K. and Holmstrup M. (1998). Automatic counting of collembolans for laboratory experiments. Appl. Soil Ecol. 7, 201—205

[13] Fjellberg A. (1980). Identification keys to Norwegian collembolans. Norsk Entomologisk Forening

[14] Edwards C.A. (1955). Simple techniques for rearing Collembola, Symphyla and other small soil inhabiting arthropods. In Soil Zoology (Kevan D.K. McE., Ed.). Butterworths, London, pp. 412—416

[15] Goto H.E. (1960). Simple techniques for the rearing of Collembola and a not on the use of a fungistatic substance in the cultures. Entomologists' Monthly Magazine 96:138—140

УДК 658.382.3:006.354 МКС 13.020.01

Ключевые слова: химическая продукция, воздействие на окружающую среду, острая токсичность, репродуктивная способность, коллемболы

Редактор *Н.Е. Рагузина*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Е.Р. Ароян*
Компьютерная верстка *Ю.В. Поповой*

Сдано в набор 14.05.2019. Подписано в печать 15.07.2019. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,33. Уч.-изд. л. 1,80.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

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 gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru