МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 33061— 2014

МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩЕЙ ОПАСНОСТЬ ДЛЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Наземные растения: тест на всхожесть семян и развитие проростков

(OECD, Test No 208:2006, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2015

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, 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 аутентичного перевода на русский язык руководящего документа, указанного в пункте 4;

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
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Настоящий стандарт идентичен международному документу OECD, No 208:2008 Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test (ОЭСР, Тест № 208:2006 Наземные растения: тест на всхожесть семян и развитие проростков)

Перевод с английского языка (en).

Степень соответствия – идентичная (IDT)

5 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 25 ноября 2014 г. № 1751-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 33061–2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2015 г.

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «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

© Стандартинформ, 2015

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

Введение

Руководства по тестированию химикатов периодически, по мере появления результатов новых научных исследований, пересматриваются в контексте их применимости в сфере законодательно-нормативного регулирования. Данное дополненное руководство разработано в целях оценки возможного влияния химических веществ на всхожесть семян и рост растений. Оно не предусматривает исследований возможных отдаленных (хронических) воздействий и воздействий на репродуктивное развитие (образование семян, цветков, созревание плодов). Для выбора оптимального метода тестирования требуется обязательный учет условий прорастания семян растений и свойств тестируемого вещества (например, при изучении влияния металлов и металлсодержащих компонентов необходимо учитывать влияние pH и ассоциированных противоионов [1]).

Руководство не применимо для изучения влияния на растения химических веществ в форме паров/газов. Руководство рекомендуется для тестирования влияния традиционных химических веществ, биоцидов, средств защиты урожая (также именуемых средствами защиты растений или пестицидами). Оно разработано на основе существующих методик [2-7]. Соответствующие данные содержатся в работах [8-10]. Определения терминов приведены в разделе «Термины и определения».

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

Наземные растения: Тест на всхожесть семян и развитие проростков

Testing of chemicals of environmental hazard
Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test

Дата введения –2015—08—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод оценки влияния химических веществ на всхожесть семян наземных растений и развитие проростков.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соот-ветствующими определениями::

2.1 **действующий ингредиент (или действующее вещество)** [active ingredient (or active substance]:Вещество, предназначенное для оказания специфических биологических воздействий (например, контроля вредителей, заболеваемости растений, сорных растений на обрабатываемой территории), также может иметь наименование технический продукт действующего вещества, активное вещество.

2.2 **средства защиты сельскохозяйственных культур (СЗСХК) или средства защиты растений (СЗР) или пестициды** (crop protection products (CPPs) or plant protection product (PPPs) or pesticides): Вещества, обладающие специфической (избирательной) биологической активностью, целенаправленно используемые для защиты урожая от вредных организмов (грибных болезней, насекомых и сорняков).

2.3 **ECx - эффективная концентрация (x % действия концентрации) или ERx – эффективная доза (x % действия дозы) (ECx x% effect concentration or ERx x% effect rate):** Концентрация/доза вещества, вызывающая неблагоприятные изменения измеряемого к концу опыта показателя в x % случаев относительно контрольной группы (например: в 25% или в 50% случаев наблюдается уменьшение всхожести, веса урожая, числа выживших растений, возрастание доли дефектов развития и иных признаков повреждения). Концентрация вещества, вызывающая такое действие, выражают величинами EC_{25} (ER_{25}) или EC_{50} (ER_{50}), соответственно).

2.4 **всхожесть (прорастание)** (emergence)**:** Появление колеоптиля или котиледона над поверхностью почвы.

2.5 **препарат** (formulation): Коммерческий продукт, содержащий действующее вещество (действующий ингредиент), называемый также продуктом конечного использования[1].

2.6 **наименьшая концентрация наблюдаемого влияния (LOEC)** (lowest observed effect concentration (LOEC)): Минимальная концентрация, при которой проявляется эффект воздействия тестируемого вещества. В данном случае, LOEC соответствует величине воздействия (концентрации вещества), при которой проявляется статистически значимое (с вероятностью $p < 0,5$) изменение показателя состояния растения относительно контрольной группы в течение периода наблюдений; при этом данная величина выше величины NOEC – недействующей концентрации.

2.7 **нецелевые виды растений** (non-target plants): Растения, произрастающие вне территории выращивания растений, являющихся объектом обработки. Для сельскохозяйственных растений – обычно это растения, растущие вне обрабатываемых площадей, занятых под сельскохозяйственное производство.

Издание официальное

[1] Продукт конечного использования – представленный на рынке промышленный продукт, содержащий действующее вещество

2.8 **NOEC (недействующая концентрация)** (NOEC (no observed effect concentration): Максимальная концентрация испытуемого вещества, при которой не проявляются его воздействие на растения. В данном случае - это концентрация, при которой на протяжении периода наблюдений не выявляются какие-либо статистически значимые (с вероятностью $p < 0,05$) эффекты воздействия на обрабатываемые растения относительно контрольной группы.

2.9 **фитотоксичность** (phytotoxicity): Неблагоприятные отклонения (измеренные или оцененные визуально) от нормального вида и роста растений, возникшие как ответная реакция на применение действующего вещества.

2.10 **повторность** (replicate): Единица наблюдения в эксперименте, представляющая собой контрольную и/или обработанную группу растений. В данном случае – повторностью является вегетационный сосуд.

2.11 **визуальная оценка** (visual assessment): Ранжирование визуально наблюдаемых признаков нарушения развития растений – густоты посева, жизненного статуса, уродств, хлороза, некроза, показателей общего внешнего вида относительно контрольной группы.

3 Сущность теста

3.1 При испытаниях исследуют эффекты влияния химического вещества на всхожесть и ранние стадии развития высших растений, являющиеся следствием внесения тестируемого вещества в почву (или иной субстрат для выращивания растений). Семена растений размещаются в почву, обработанную химическим веществом, после чего возможные воздействия анализируют в течение 14–21 дней после прорастания 50% семян в контрольной группе. Конечными показателями являются: визуально проводимая оценка всхожести, сухая (мокрая) масса растений, в некоторых случаях – длина проростков и иные визуально регистрируемые негативные изменения в разных частях растений. Данные показатели сравнивают с показателями состояния растений в контрольной группе.

3.2 В зависимости от предполагаемого пути воздействия тестируемое химическое вещество заделывают в почву (искусственный субстрат) или вносят ее (его) на поверхность. Заделку производят путем внесения компонента в большой объем почвы, после чего почву размещают в сосуды, в которые высевают семяна. Поверхностное внесение осуществляют в почву, помещенную в вегетационные сосуды с уже посеянными семенами. Каждую испытуемую группу сосудов (контрольные и обработанные почвы с посеянными семенами) затем помещают в соответствующие, подобранные для опыта, одинаковые условия для наблюдений за прорастанием/ростом растений.

3.3 Опыты (в зависимости от задачи исследования) могут проводиться с целью определения кривой зависимости доза-эффект или (при изучении воздействия одной концентрации/дозы внесения вещества) для определения возможного предельного содержания. Если результаты тестирования одной концентрации/дозы внесения вещества превышают уровень токсичности (обнаруживаются воздействия, превышающие некоторый x% уровень), дополнительно ставят диапазонный тест с целью установления верхней и нижней границ токсичности, и далее – опыт с рядом концентраций для построения кривой доза-эффект. Применяя подходящий метод статистического анализа по наиболее чувствительному параметру (параметрам) состояния растений, определяют эффективную концентрацию EC_x или эффективную дозу (норма внесения) ER_x (например, EC_{25}, ER_{25}, EC_{50}, ER_{50}) Также определяют недействующую концентрацию (NOEC) и минимальную действующую концентрацию (LOEC).

4 Сведения о тестируемом веществе

Для определения путей воздействия вещества на растения и выбора условий проведения экспериментов необходима следующая информация о тестируемом химическом веществе: структурная формула, чистота, растворимость в воде, растворимость в органических растворителях, коэффициент распределения в системе октанол-вода, сорбционное поведение в почве, давление паров, устойчивость в воде и на свету, способность к биодеградации.

5 Достоверность теста

Для достоверности теста необходимо соблюдение следующих условий в контрольных группах растений:

- прорастание растений должно составлять не менее 70%;
- проростки не должны иметь внешних проявлений фитотоксичности (например, хлороз, некроз, завядание, деформации листьев и стеблей), кроме нормальных особенностей варьирования роста и

морфологии, типичных для соответствующих видов растений;

- средняя выживаемость проросших растений в контрольной группе в течение всего опыта не должна быть ниже 90%;
- условия опыта, состав и количество грунта (субстрата) для каждого вида растений должны быть идентичными.

6 Вещество сравнения

Для контроля постоянства условий, особенностей проведения опытов и ответной реакции тестируемых растений должна регулярно проводиться проверка с использованием вещества сравнения. Также для оценки режима проведения опытов (поведения тест-систем) и в целях внутрилабораторного контроля качества экспериментов могут быть использованы архивные (многолетние) данные по биомассе и показателям роста растений, полученные ранее в аналогичных опытах в соответствующих лабораториях.

6 Вещество сравнения

Для контроля постоянства условий, особенностей проведения опытов и ответной реакции тестируемых растений с регулярными интервалами должна проводиться проверка с использованием вещества сравнения. Также для оценки режима проведения опытов (поведения тест-систем) и в целях внутрилабораторного контроля качества экспериментов могут быть использованы архивные (многолетние) данные по биомассе и показателям роста растений, полученные ранее в аналогичных опытах в соответствующих лабораториях.

7 Описание теста

7.1 Естественная почва – искусственный субстрат

7.1.1 Растения могут выращиваться в вегетационных сосудах с использованием легкого суглинка, супеси или опесчаненного суглинка, содержащих до 1,5 % органического углерода (примерно 3 % органического вещества). Могут также использоваться имеющиеся в продаже почвогрунты или синтетические почвосмеси, содержащие до 1,5 % органического углерода. Глинистые почвы не рекомендуются, если тестируемое вещество имеет высокое сродство к глинам. Почву просеивают через сито с диаметром отверстий 2 мм для гомогенизации и удаления крупных частиц. В отчетах должны быть представлены следующие данные о почве: тип, текстура, содержание органического углерода, pH, содержание солей (по электропроводности). Название почвы приводят по стандартной классификации [11]. Допустима пастеризация или тепловая обработка почвы для снижения влияния почвенных патогенных организмов.

7.1.2 Использование природной почвы может затруднить интерпретацию результатов опыта и увеличивать разброс показателей из-за варьирования ее физико-химических свойств и особенностей популяций микроорганизмов. Эти свойства, в свою очередь, влияют на водоудерживающие характеристики почвы, емкость химического связывания веществ, условия аэрации, содержание питательных веществ и тяжелых металлов. Помимо физических свойств почв, также может варьироваться их pH, окислительно-восстановительный потенциал, что влияет на биодоступность испытуемых веществ [12] – [14].

7.1.3 Искусственные субстраты, как правило, не используют при тестировании веществ, применяемых как средства защиты сельскохозяйственных культур, но их можно использовать при тестировании традиционных химических веществ или, если они специально разработаны для исключения влияния вариабельности, возникающей при использовании природных почв, в целях увеличения сопоставимости результатов. Эти субстраты должны состоять из инертных материалов, не вступающих во взаимодействие с тестируемым веществом, растворителем или ими обоими. Такими материалами могут быть кварцевый песок, промытый кислотой, минеральная вата или стеклянные шарики (0,35 – 0,85 мм в диаметре); они минимально сорбируют химические вещества [15], что обеспечивает максимальную доступность растениям веществ, поступающих через корневую систему. Неподходящими для опытов материалами являются вермикулит, перлит и иные адсорбирующие вещества. Растения должны быть обеспечены питательными веществами, чтобы избежать возможных негативных воздействий, связанных с их дефицитом; там, где это возможно, отсутствие такого дефицита должно быть подтверждено результатами химического анализа почв или визуальной оценкой состояния растений контрольной группы.

7.2 Критерии выбора растений

7.2.1 Выбираемые для тестирования виды растений должны быть разнообразными; для учета всех возможных типов ответных реакций нужно принимать во внимание таксономическое разнообразие растений, распространенность, обилие, специфические особенности жизненного цикла,

зоны встречаемости в природе [8], [10], [16] – [20]. При подборе видов, подходящих для тестирования, нужно основываться на следующих характеристиках:

- вид должен иметь однородные семена, легко доступные для получения из надежного источника хранения, обеспечивающие формирование устойчивых, жизнеспособных, однотипных проростков, с одинаковой скоростью роста;
- растения должны быть пригодны для тестирования в лабораторных условиях, обеспечивая надежность и воспроизводимость результатов в пределах отдельных опытов и между ними;
- чувствительность вида должна быть сопоставима с ответными реакциями растений, в естественных условиях подвергающихся воздействию испытуемого вещества;
- вид растений должен быть достаточно хорошо изучен ранее в разнообразных тестах на фитотоксичность: например, подверженность влиянию гербицидов, реакции на тяжелые металлы, засоление почвы, дефицит минерального питания и на аллелопатические взаимодействия, то есть должна иметься информация об их чувствительности к широкому ряду стресс-факторов;
- условия прорастания и развития вида в природе должны соответствовать выбранным условиям проведения опытов;
- особенности вида должны соответствовать условиям, предъявляемым для оценки достоверности теста.

7.2.2 Некоторые традиционно используемые виды тестируемых растений приведены в Приложении А; виды, не относящие к сельскохозяйственным культурам – в Приложении В.

7.2.3 Число тестируемых видов зависит от требований соответствующих регламентов, поэтому данный вопрос здесь не рассматривается.

7.3 Внесение тестируемого вещества

Вещество следует вносить в почву в подходящем растворителе (вода, ацетон, этанол, полиэтиленгликоль, гуммиарабик) или с песком. Препарат или сложная смесь (рецептура), включающие различные дополнительные действующие вещества, также могут подвергаться тестированию.

7.4 Заделка в почву/искусственный субстрат

7.4.1 Вещества, вносимые в почву в виде водного раствора или водных суспензий, сначала добавляют в воду, а затем смешивают с почвой в подходящем устройстве. Такой вариант применяют, если химическое вещество попадает в растение из почвы или с почвенным раствором, то есть через корневое поступление. При внесении раствора с химическим веществом нельзя превышать водоудерживающую способность почвы. Объем раствора должен быть одинаковым для всех тестируемых концентраций вещества, при этом нужно избегать комкования почвы.

7.4.2 Плохо растворимые в воде вещества растворяют в подходящем летучем растворителе (например, ацетон, этанол) и смешивают с песком. Растворитель затем может быть удален из песка струей пара при постоянном перемешивании смеси, а песок смешан с почвой, выбранной для эксперимента. Также ставят второй контрольный опыт, где в почву вносят песок, содержащий только растворитель. При этом используют те же количества песка и растворителя, как и в вариантах опыта с веществом. Если тестируемые вещества твердые и нерастворимые, их смешивают с сухой почвой в подходящем для перемешивания устройстве, после чего почву размещают в вегетационные сосуды и немедленно проводят посев семян.

7.4.3 Если вместо почвы используют искусственный субстрат, вносимые водорастворимые тестируемые вещества могут быть растворены в растворе питательных веществ непосредственно перед началом опыта. Нерастворимые в воде вещества сначала растворяют в подходящем растворителе, а затем суспензируют также в питательном растворе. Нерастворимые вещества, для которых отсутствует нетоксичный растворитель, растворяют в летучем растворителе. Полученный раствор смешивают с песком или стеклянными гранулами, помещают в роторный испаритель и удаляют растворитель путем выпаривания, благодаря чему достигается равномерное распределение испытуемого вещества по поверхности частиц песка или стеклянных гранул. Перед заполнением вегетационных сосудов подготовленным субстратом определяют содержание в нем испытуемого вещества, взвешивая определенное количество песка (гранул) и извлекая вещество ранее использованным растворителем.

7.5 Поверхностное внесение

Для сельскохозяйственных растений поверхностное внесение средств защиты очень распространено. Все оборудование, используемое при проведении испытаний, в том числе и то, которое используют для приготовления и последующего внесения тестируемого вещества, должно обеспечивать аккуратность и точность проведения эксперимента и равномерное покрытие поверхности. Покрытие должно быть одинаковым по всей поверхности почвы. Должны быть приняты меры во избежание адсорбции тестируемого вещества и других используемых реагентов на поверхности оборудования (пластиковые трубки, липофильные компоненты, стальные части

оборудования и иные детали). Тестируемое вещество распрыскивают на поверхность почвы аналогично тому, как это делается в полевых условиях, используя подходящие опрыскиватели. В целом, вносимые количества и объемы должны соответствовать нормам внесения вещества, применяемым в соответствующей агрохимической практике (необходимо, например, указывать количество использованной воды и т.п.). Рекомендуется применять распылительные насадки, обеспечивающие равномерное смачивание поверхности почвы. Если для внесения тестируемого вещества применяют растворитель или иной носитель, требуется ставить отдельный контрольный опыт, где в почву вносят только данный растворитель/носитель. Если используют препарат, представляющий собой смесь компонентов, то в этом нет необходимости.

7.6 Контроль за точностью внесения концентрации/дозы тестируемого вещества

Точность внесения конкретной концентрации/дозы вещества должна подтверждаться соответствующим аналитическим контролем. Для растворимых веществ правильность всех тестируемых концентраций/доз может подтверждаться анализом наиболее концентрированного раствора тестируемого вещества, используемого в данном опыте, и документированием всех последующих разведений, которые должны осуществляться с помощью мерной посуды (мерная стеклянная посуда, калиброванные устройства для опрыскивания вещества). Точность внесения нерастворимых соединений необходимо оценивать, взвешивая определенные количества вещества, добавляемого к почве. Если требуется подтверждение однородности внесения, то дополнительно необходимо анализировать и саму почву.

8 Процедура теста

8.1 Описание теста

8.1.1 Семена растений одного вида высевают в вегетационные сосуды. Число семян на каждый сосуд зависит от вида растений, размеров сосуда и продолжительности опыта. Оно должны быть таким, чтобы обеспечить нормальные условия роста растений и избежать загущения посевов в ходе опыта. Максимальное число семян на 100 $см^2$ - 3-10 штук в зависимости от размера. Например, на контейнер (сосуд) площадью 15 $см^2$ рекомендуются примерные нормы: 1-2 шт. семян - для кукурузы, сои, помидоров, огурцов, сахарной свеклы; 3 шт. - для рапса, гороха; 5-10 шт. - для лука, пшеницы, других мелких семян. Число семян в сосуде и число самих сосудов (повторность эксперимента определяется числом сосудов, растения в сосуде не являются повторностями) должно позволять осуществить необходимый достоверный статистический анализ [21]. Следует иметь в виду, что варьирование результатов опыта зависит от размера семян выращиваемой тест-культуры: оно выше в вариантах, где для каждой повторности (сосуда) используют меньшее количество семян более крупного размера по сравнению с вариантами, где взято большее количество семян мелкого размера. Снизить такое варьирование можно, высевая в каждый сосуд одинаковое количество семян.

8.1.2 Контрольный опыт ставят, чтобы удостовериться, что наблюдаемые эффекты связаны именно с влиянием тестируемого вещества. Соответствующий сосуд (сосуды с группой растений) должен быть во всех отношениях идентичен вариантам, где вносят действующее вещество. Все семена, используемые в одном опыте, должны быть из одного источника. Для предотвращения систематических отклонений сосуды для опыта и контрольной группы выбирают случайным образом.

8.1.3 Семена, обработанные инсектицидами или фунгицидами (семена «в оболочках»), использовать при тестировании не рекомендуется. Вместе с тем использование некоторых контактных фунгицидов несистемного действия (например, каптан и тиарам) в некоторых руководствах по испытаниям химических веществ [22] допускается. Если вероятно инфицирование семян патогенными микроорганизмами, семена нужно замочить в слабо концентрированном (5 %) растворе гипохлорита, после чего промыть интенсивно проточной водой и высушить. Никакие обработки семян другими средствами защиты растений не допускаются.

8.2 Условия проведения теста

8.2.1 Условия опыта должны обеспечивать нормальный рост видов и сортов используемых тест-растений (в Приложении В приведены возможные варианты условий постановки опытов). Прорастание растений должно осуществляться в хороших тепличных условиях в контролируемых климатических камерах, фитотронах или теплицах. Требуется контролировать и соблюдать условия среды: необходим контроль и достаточно частое (ежедневное) измерение температуры воздуха, влажности, концентрации углекислого газа, освещенности (интенсивность света, длина светового дня, количество фотосинтетически активной радиации) и т.п. для того, чтобы обеспечить благоприятные для роста растений условия, что должно подтверждаться состоянием растений в контрольной группе. Температура в теплицах должна поддерживаться за счет систем вентиляции и подогрева/охлаждения. Для тепличных тестов обычно рекомендуют следующие параметры:

- температура: 22 °С ± 10 °С;
- влажность: 70 % ± 25 %;
- фотопериод: минимум 16-часовое освещение;
- интенсивность света: 350 ± 50 мкЕ/м^2/с. Дополнительное освещение может понадобиться, если его интенсивность опускается ниже 200 мкЕ/м^2/с (кроме видов, требующих более слабой освещенности); диапазон длин волн 400 – 700 нм.

8.2.2 Условия среды должны подлежать контролю и фиксироваться в отчете в ходе всего опыта. Растения выращивают в непористой пластиковой или глазурованной керамической посуде с поддонами или подставками под сосудами. Время от времени сосуды нужно менять местами во избежание варьирования скорости роста растений в разных сосудах из-за возможной разницы в условиях содержания. Размер сосудов должен быть достаточно большим, чтобы обеспечивать нормальное развитие растений.

8.2.3 По мере необходимости для поддержания хорошего жизненного статуса растений требуется их дополнительная подкормка питательными элементами. Необходимость и время таких подкормок устанавливают, наблюдая за состоянием растений в контрольной группе. Увлажнение почвы в сосудах рекомендуется проводить путем полива в поддоны или посредством использования стекловолоконных стержней. Однако для ускорения прорастания семян может быть рекомендован исходный предварительный полив почвы с поверхности, в случаях, когда тестируемое вещество вносят на поверхность, такой полив также облегчает распределение химического вещества в почве.

8.2.4 В зависимости от вида растения и тестируемого вещества для проращивания могут потребоваться и какие-либо специальные условия, которые должны быть созданы. Контрольные и обработанные варианты почвы нужно содержать в одинаковых условиях, принимая меры во избежание влияния на контрольную почву разных обработок растений (например, если применяются какие-либо летучие вещества) и следить, чтобы тестируемое вещество не попадало в контрольную группу.

8.3 Тестирование одной концентрации/дозы внесения вещества

В целях подбора подходящей концентрации/дозы вещества для проведения опыта с этой концентрацией (тест с нагрузкой (провокация) или выявление предельной дозы) нужно принять во внимание следующее. Для обычных химических веществ - физико-химические свойства вещества. Для средств защиты растений – физико-химические свойства вещества и способ его применения, максимальные нормы применения, число обработок за сезон, устойчивость (способность к накоплению) вещества (если необходимо). Если нужно установить возможное фитотоксическое действие химического вещества, его тестируют при концентрации максимум 1000 мг/кг сухой почвы.

8.4 Диапазонный тест

При необходимости можно провести диапазонный тест в целях получения кривой доза-эффект и выбора нужных уровней концентраций/дозы внесения для последующих опытов. Для таких опытов шаг опробывания должен быть достаточно большим (например, 0,1; 1,0; 10, 100 и 1000 мг/кг сухой почвы). Для средств защиты растений подбор испытуемых концентраций должен проводиться с учетом максимальной рекомендованной нормы применения (например, 1/100, 1/10, 1/1 от рекомендованной/максимальной концентрации/дозы применения).

8.5 Опыты с несколькими концентрациями/дозами внесения

8.5.1 Целью экспериментов с несколькими концентрациями/дозами внесения тестируемого вещества является получение кривой доза-эффект и установление значений эффективной концентрации/нормы применения EC_x/ER_x по показателям прорастания растений, биомассы и другим визуальным эффектам сравнительно с контрольной (необработанной) группой и в соответствии с конкретными рекомендациями руководств по испытаниям.

8.5.2 Количество тестируемых концентраций/доз внесения и шаг опробывания должны быть достаточными для того, чтобы построить надежную кривую доза-эффект, рассчитать уравнение регрессии и получить значения EC_x и ER_x. Выбор концентраций/доз зависит от значений величин EC_x и ER_x, которые требуется определить. Например, если нужно рассчитать значение EC_{50}, желательно протестировать диапазон воздействий, обеспечивающих 20 – 80 % эффект. Рекомендуемое число тестируемых концентраций/доз составляет минимум 5 значений, возрастающих в геометрической прогрессии с коэффициентом не более 3, плюс необработанная контрольная группа. Для каждой группы (обработанной и контрольной) число повторностей должно составлять минимум 4, а общее количество семян – не менее 20 шт. При использовании в тестах растений, имеющих низкую всхожесть или сильно варьирующие показатели роста, могут понадобиться дополнительные повторности для обеспечения статистической достоверности результатов эксперимента. Если тестируют большее число концентраций вещества (доз), то число повторностей можно уменьшить.

Если нужно определить значение недействующей концентрации NOEC , напротив, требуется увеличение повторностей для обеспечения статистической достоверности [23].

8.6 Наблюдения

Во время наблюдений, то есть в течение 14 - 21 дн после прорастания 50 % семян растений в контрольной группе (группе с растворителем, если он использовался), оценку состояния растений проводят достаточно часто (минимум раз в неделю, а по возможности – ежедневно), контролируя их рост, визуальные признаки проявления фитотоксичности и гибель. В конце эксперимента фиксируют число (в процентах) и биомассу выживших растений, а также все признаки угнетения в любых частях растений. Последние включают: аномалии развития, остановку роста, признаки хлороза, изменения окраски, гибель и другие. Окончательную величину биомассы вычисляют как среднее значение сухой массы выживших к концу опыта растений (высушивание проводят до постоянной величины массы навески при температуре 60 ^{0}С). Также можно вычислить и значение влажной массы. Высоту проростков также можно измерить к концу опыта, если того требуют соответствующие методические руководства. Для оценки наблюдаемых токсических эффектов следует применять единую оценочную систему. Примеры возможных шкал для количественных и качественных оценок приведены в [23] и [24].

9 Результаты и отчет

9.1 Статистический анализ

9.1.1 Опыт с одной концентрацией/дозой

Полученные в опыте данные для каждого вида тест-растений анализируют, применяя подходящий статистический метод [21]. Необходимо указывать величину результата (как положительного – наличие влияния, так и отрицательного – отсутствие воздействия), полученного при тестировании данной дозы вещества, например, следующим образом: при обработке «у» концентрацией/дозой вещества выявлено воздействие на уровне < x %.

9.1.2 Опыт с несколькими концентрациями/дозами

Зависимость доза-эффект выражают в виде уравнения регрессии. Для вычисления нужных величин применяют разные методы, например, для оценки величин EC_x или ER_x (EC_{25}, ER_{25}, EC_{50}, ER_{50}), определения их доверительных интервалов по таким количественным показателям как всхожесть, применимы логит- и пробит-анализы, модели распределения Вейбулла, Спирмена-Кербера, метод подгонки Спирмена-Кербера и другие приемы. Если значения EC_x или ER_x (и доверительные интервалы для них) вычисляют по показателям роста растений (масса и длина проростков), то есть непрерывным переменным, возможно применение регрессионных методов (например, нелинейный регрессионный анализ Брюса-Верстига [25]). По мере возможности в уравнении регрессии нужно обеспечить значения коэффициента детерминации R^2 не менее 0,7, а для наиболее чувствительных видов растений и выше, при этом тестируемые концентрации должны обеспечивать проявление воздействия на уровне 20-80%. Если вычисляют значение NOEC, требуются наиболее мощный статистический способ обработки и критерии, которые подбирают в зависимости от типа распределения полученных величин [21, 26].

9.2 Отчет о тесте

Отчет должен представлять результаты опытов как в части подробного описания условий их постановки, так и обсуждения полученных результатов, включая анализ данных и полученные на его основании выводы. Необходимо представить данные в табличном виде и в виде краткого резюме. Отчет должен включать следующую информацию:

Тестируемое вещество:

- химическая формула, необходимые свойства (например, коэффициент распределения в системе n-октанол/вода, log P_{ow}; растворимость в воде, давление пара, поведение в окружающей среде (при наличии);
- способы приготовления тестируемых растворов, а также способ проверки величин тестируемых концентраций согласно 7.6.

Тестируемые виды растений:

- информация о тестируемой культуре: вид/род (сорт), семейство, научное и бытовое название, источник и история получения семян, как можно подробнее (название поставщика, процент всхожести, класс размерности семян, номер серии; год или сезон получения семян; категория всхожести, жизнеспособность и т.д.);
- число видов однодольных и двудольных видов растений, взятых для теста;
- обоснование выбора конкретных видов;
- описание источника семян, способа их обработки и других манипуляций.

Условия опыта:

- условия проведения опыта (климатическая камера, фитотрон, теплица);
- описание сосудов, в которых проводят опыт (размер и материал, количество почвы в сосуде);
- описание почвы (текстура, тип: размер частиц (гранулометрический состав), классификационная принадлежность, физические и химические свойства, включая % органического вещества/органического углерода и pH);
- почва/субстрат (почва, искусственный грунт, песок и т.п.), подготовка их к опыту;
- описание питательной среды, если она используется;
- способ внесения тестируемого вещества: описание метода внесения, использованного оборудования, нормы применения и объемы, включая проверку точности дозировки, описание метода калибровки и условий окружающей среды в момент внесения;
- условия прорастания: интенсивность освещения (доля фотосинтетически активного излучения); период освещенности, диапазон колебаний температур, график и способы полива и внесения удобрений;
- число семян в сосуде, число растений, на которых тестируется каждая доза вещества; число повторностей опыта (сосудов) на каждую дозу;
- тип и число контрольных групп (отрицательные и/или положительные результаты в контрольной группе, контрольная группа с растворителем, если таковая использовалась);
- продолжительность опыта.

Результаты:

- таблицы со всеми конечными результатами по каждой повторности, тестируемой дозе и виду растений;
- число и доля выживших растений в сравнении с контрольной группой;
- показатели биомассы (сухая или влажная масса) растений в процентах относительно контрольной группы;
- длина растений в процентах относительно контрольной группы (если показатель измерялся);
- процентная доля (относительно контрольной группы) растений с визуальными дефектами развития, количественное и качественное описание таких дефектов (хлороз, некроз, завядание, деформации стебля и листьев, равно как и отсутствие каких-либо нарушений);
- описание шкалы, по которой осуществлялась количественная оценка дефектов развития, если ее проводили;
- для опытов с одной концентрацией нужно привести процентное количество растений с признаками нарушения развития;
- значения EC_x/ER_x (например, EC_{50}, ER_{50}, EC_{25}, ER_{25}) с соответствующими доверительными интервалами. Если проводился регрессионный анализ, приводят стандартную ошибку уравнения регрессии и его коэффициентов (угол наклон, пересечения с осями);
- значения NOEC (или LOEC) , если их вычисляли;
- описание статистического метода и сделанные допущения;
- графическое изображение материалов, а также иллюстрация кривой доза-отклик для тестируемых видов растений;
- отклонения от процедуры условий проведения теста, рекомендуемых данным стандартом и любые особенности, наблюдаемые в ходе проведения опытов.

Приложение А
(справочное)

Перечень видов растений, традиционно используемых как тест-культуры

Семейство	Вид	Название
Двудольные		
Apiaceae (Umbelliferae)	*Daucus carota*	Морковь
Asteraceae (Compositae)	*Helianthus annuus*	Подсолнечник
Asteraceae (Compositae)	*Lactuca sativa*	Латтук посевной
Brassicaceae (Cruciferae)	*Sinapis alba*	Белая горчица
Brassicaceae (Cruciferae)	*Brassica campestris var. chinensis*	Китайская капуста
Brassicaceae (Cruciferae)	*Brassica napus*	Рапс
Brassicaceae (Cruciferae)	*Brassica oleracea var. capitata*	Капуста
Brassicaceae (Cruciferae)	*Brassica rapa*	Репа
Brassicaceae (Cruciferae)	*Lepidium sativum*	Кресс-салат
Brassicaceae (Cruciferae)	*Raphanus sativus*	Редька
Chenopodiaceae	*Beta vulgaris*	Сахарная свекла
Cucurbitaceae	*Cucumis sativus*	Огурцы
Fabaceae (Leguminosae)	*Glycine max (G. soja)*	Соевые бобы
Fabaceae (Leguminosae)	*Phaseolus aureus*	Маш (фасоль золотистая)
Fabaceae (Leguminosae)	*Phaseolus vulgaris*	Фасоль
Fabaceae (Leguminosae)	*Pisum sativum*	Горох
Fabaceae (Leguminosae)	*Trigonella foenum-graecum*	Пажитник сенной
Fabaceae (Leguminosae)	*Lotus corniculatus*	Лядвенец рогатый
Fabaceae (Leguminosae)	*Trifolium pretense*	Красный клевер
Fabaceae (Leguminosae)	*Vicia sativa*	Вика посевная
Linaceae	*Linum usitatissimum*	Лен
Polygonaceae	*Fagopyrum esculentum*	Гречиха
Solanaceae	*Solanum lycopersicon*	Томаты
Однодольные		
Liliaceae (Amarylladaceae)	*Allium cepa*	Лук
Poaceae (Gramineae)	*Avena sativa*	Овес
Poaceae (Gramineae)	*Hordeum vulgare*	Ячмень
Poaceae (Gramineae)	*Lolium perenne*	Пастбищный райграсс
Poaceae (Gramineae)	*Oryza sativa*	Рис
Poaceae (Gramineae)	*Secale cereale*	Рожь
Poaceae (Gramineae)	*Sorghum bicolor*	Сорго
Poaceae (Gramineae)	*Triticum aestivum*	Пшеница
Poaceae (Gramineae)	*Zea mays*	Кукуруза

Приложение В
(справочное)

Перечень возможных несельскохозяйственных видов растений

Семейство и ботаническое название	Продолжительность жизни и условия обитания [1]	Масса семян, Мг	Фотопериод для прорастания или роста [2]	Глубина посадки, мм	Время до прорастания, дни [4]	Специальные обработки или иные особенности [5]	Тест на токсичность [6]	Источник семян [7]	Другие ссылки [8]
APIACEAE *Torilis japonica*	О, Д Нарушенные территории, обочины дорог, пастбища [6, 19]	1,7 - 1,9 [14, 19]	L = D [14]	0 [1, 19]	5 (50%) [19]	Холодная стратификация [7, 14, 18, 19] может понадобиться дозревание [19] , прорастание подавляется в темноте [1, 19], специальных обработок нет [5]	POST [5]		
ASTERACEAE *Bellis perennis*	М Луга, пахотные земли, газоны [16, 19]	0,09 - 0,17 [4, 19]	L = D [14]	0 [4]	3 (50%) [19] 11 (100%) (18)	Прорастание не зависит от освещения [18, 19]. Без специальных обработок [4, 14]	POST [4]	A, D, F	[7]
Centaurea cyanus	О Поля, обочины , опушки, открытые участки [16]	4,1 - 4,9 [4, 14]	L = D [14]	0 - 3 [2, 4, 14]	14 - 21 (100%) [14]	Без специальных обработок [2, 4]	POST [2,4]	A, D, E, F	[7]
Centaurea nigra	М Поля, обочины, опушки [16, 19]	2,4 - 2,6 [14, 19]	L = D [14]	0 [19]	3 (50%) [19] 4 (97%) [18]	Может требоваться дозревание [18, 19] прорастание замедляется в темноте [19]. Без специальных обработок [5, 14, 26]	POST [5, 22, 26]	A	
Inula helenium	М Влажные места, нарушенные территории [16]	1 – 1,3 [4, 14, 29]		0 [4, 29]		Без специальных обработок [4]	POST [4]	A, F	
Leontodon hispidus	М Поля, обочины, нарушенные территории [16, 19]	0,85 - 1,2 [14, 19]	L = D [14]	0 [19]	4 (50%) [19] 7 (80%) [18]	Прорастание замедляется в темноте [17, 18, 19]. Без специальных обработок [5, 23]	POST [5, 22, 23]		

Семейство и ботаническое название	Продолжительность жизни и условия обитания [1]	Масса семян, Мг	Фотопериод для прорастания или роста [2]	Глубина посадки, мм	Время до прорастания, дни [4]	Специальные обработки или иные особенности [5]	Тест на токсичность [6]	Источник семян [7]	Другие ссылки [8]
Rudbeckia hirta	Д, М Нарушенные территории [16]	0,3 [4, 14]	L = D [14]	0 [4, 33]	< 10 (100%) [33]	Без специальных обработок [4, 14, 33]	POST [4, 33]	C, D, E, F	
Solidago canadensis	М Пастбища, открытые участки [16]	0,06 - 0,08 [4, 14]	L = D [11]	0 [4]	14 - 21 [11]	Смешивают с равной частью песка и замачивают в GA (500 мг/кг) на 24 ч [11] . Без специальных обработок [4]	POST (4)	E, F	
Xanthium pensylvanicum	О Пастбища, опушки [16]	25 - 61 [14, 29]		0 [1] 5 [29]		Прорастание замедляется в темноте [1], Замачивание в теплой воде на 12 ч [29]	PRE & POST [31]	A	
Xanthium spinosum	О Опушки [16]	200 [14]	L = D [14] L > D [6]	10 [6]		Скарификация [14]. Без специальных обработок [6]	PRE & POST [6]	A	
Xanthium strumarium	О Поля, опушки [16]	67,4 [14]	L = D [14]	10 - 20 [6, 21]		Без специальных обработок [6, 14, 21]	PRE & POST [6, 21, 28, 31]	A	
BRASSICACEAE *Cardamine pratensis*	М Поля, обочины, газоны [16, 19]	0,6 [14, 19]	L = D [14]	0 [19]	5 (50%) [19] 15 (98%) [18]	Прорастание замедляется в темноте [18, 19]. Без специальных обработок [5, 14, 22]	POST [5, 22]	F	
CARYOPHYLLACEAE *Lychnis flos-cuculi*	М [16]	0,21 [14]	L = D [14]		< 14 (100%) [14, 25]	Может требоваться дозревание [18]. Без специальных обработок [5, 14, 15, 22-26]	POST [5, 15, 22-26]	F	

Семейство и ботаническое название	Продолжительность жизни и условия обитания [1]	Масса семян, Мг	Фотопериод для прорастания или роста [2]	Глубина посадки, мм	Время до прорастания, дни [4]	Специальные обработки или иные особенности [5]	Тест на токсичность [6]	Источник семян [7]	Другие ссылки [8]
CHENOPODIACEAE *Chenopodium album*	O Края полей, нарушенные земли [16, 19]	0,7 – 1,5 [14, 19, 34]	L = D [14]	0 [1, 19]	2 (50%) [19]	Зависит от цвета семян [19], в сухом виде находятся в периоде покоя [19] прорастание подавляется в темноте [1, 18, 19], стратификация холодом [18].Без обработок [14, 34]	PRE & POST [28, 31, 34]	A	32
CLUSIACEAE *Hypericum perforatum*	M Поля, пахотные земли, открытые участки [16, 19]	0,1 – 0,23 [14, 19]	L = D [14]	0 [1, 19]	3 [19] 11 (90%) [18]	Прорастание подавляется в темноте [1, 18, 19]. Без спецобработок [5, 14, 15, 25, 27]	POST [5, 15, 25, 27]	A, E, F	
CONVOLVULACEAE *Ipomoea hederacea*	O Обочины, открытые участки, поля зерновых [16]	28,2 [14]	L > D [6, 10]	10 – 20 [6, 10, 21]	4 (100%) [10]	Прорастание не зависит от освещения [1]. Без спец обработок [6, 21]	PRE & POST [6, 12, 21, 28]	A	
CYPERACEAE *Cyperus rotundus*	M Пахотные земли, пастбища, обочины [16, 33]	0,2 [14]	L = D [14]	0 (1) 10-20 [6, 10]	12 (91%) [10]	Прорастание подавляется в темноте [1]. Без спец обработок [6, 10, 14]	PRE & POST [6, 28, 31]	B	7
FABACEAE *Lotus corniculatus*	M Луга, обочины, открытые участки [16, 19]	1 – 1,67 [14, 19]	L = D [14]		1 (50%) [19]	Скарификация [14, 19]. Прорастание не зависит от освещения [18, 19] no special treatments (23, 25)	POST [5, 23, 25]	A, D, E, F	
Senna obtusifolia	O Влажные леса [16]	23 – 28 [9]	L = D [14] L > D [9]	10 – 20 [6, 9]		Замачивание в воде на 24 ч [9] Скарификация [4] Всхожесть зависит от цвета семян [1]. Без спец обработок (6)	POST [6, 9]	A	

Семейство и ботаническое название	Продолжительность жизни и условия обитания [1]	Масса семян, Мг	Фотопериод для прорастания или роста [2]	Глубина посадки, мм	Время до прорастания, дни [4]	Специальные обработки или иные особенности [5]	Тест на токсичность [6]	Источник семян [7]	Другие ссылки [8]
Sesbania exaltata	Аллювиальная почва [16]	11 – 13 [9, 14]	L > D [9]	10 – 20 [9, 21]		Замачивание в воде на 24 ч [9] Прорастание не зависит от освещения [1]. Без спецобработок [21]	PRE & POST [9, 21, 28, 31]	A	
Trifolium pratense	M Поля, обочины, пашня [16, 19]	1,4 – 1,7 [14, 19]	L = D [14]		1 (50%) [19]	Скарификация [14, 18] Может требоваться дозревание [19] Прорастание не зависит от освещения [1, 19]. Без спецобработок [5]	POST [5]	A, E, F	
LAMIACEAE *Leonurus cardiaca*	M Открытые участки [16]	0,75 – 1,0	L = D [14]	0 [4]		Без спецобработок [4, 14]	POST [4]	F	
Mentha spicata	M Увлажненные участки	2,21 [4]		0 [4]		Без спецобработок [4]	POST [4]	F	
Nepeta cataria	M Нарушенные земли [16]	0,54 [4, 14]	L = D [14]	0 [4]		Без спец. Обработок [2, 4, 14]	POST [2, 4]	F	
Prunella vulgaris	M Пашня, луга, нарушенные земли [16]	0,58 – 1,2 [4, 14, 19]	L = D [14]	0 [4, 19]	5 (50%) [19] 7 (91%) [18]	Прорастание подавляется в темноте [18, 19] Выше всхожесть у более крупных семян [1]. Без спецобработок [4, 14, 22]	POST [4, 22]	A, F	
Stachys officinalis	M Луга, обочины полей	14 – 18 [14, 19]	L = D [14]		7 (50%) [19]	Без спецобработок [5, 14, 22]	POST [5, 22]	F	
MALVACEAE *Abutilon theophrasti*	O Поля, открытые участки [16]	8,8 [14]	L = D [14]	10 – 20 [6, 10, 21]	4 (84%) [10]	Скарификация [14]. Без спецобработок [5, 10, 21]	PRE & POST [6, 22, 28, 31]	A, F	

Семейство и ботаническое название	Продолжительность жизни и условия обитания [1]	Масса семян, Мг	Фотопериод для прорастания или роста [2]	Глубина посадки, мм	Время до прорастания, дни [4]	Специальные обработки или иные особенности [5]	Тест на токсичность [6]	Источник семян [7]	Другие ссылки [8]
Sida spinosa	O Поля, обочины [16]	3,8 [4]	L = D [14]	10 – 20 [6, 21]		Скарификация [14]. Всхожесть не зависит от освещения [1]. Без спецобработок [6, 21]	PRE & POST [6, 21, 28, 31]	A, F	
PAPAVERACEAE *Papaver rhoeas*	O Поля, пашня, нарушенные земли [16, 19]	0,1 – 0,3 [4, 14, 19, 29]	L = D [14]	0 [4, 29]	4 (50%) [19]	Стратификация на холоде и скарификация [1, 19, 32]. Без спецобработок [4, 14, 29]	POST [4]	A, D, E, F, G	
PRIMULACEAE *Anagallis arvensis*	O Пашня, открытые участки, нарушенные земли [16, 19]	0,4 – 0.5 [4, 14, 19]	L = D [14]		1 (50%) [19]	Стратификация холодом, обработка GA [1,14, 18, 19, 32], для прорастания требуется свет [1]. Без спецобработок [2, 4]	POST [2, 4]	A, F	
RANUNCULACEAE *Ranunculus acris*	M Пашня, обочины, открытые участки [16, 19]	1,5 – 2 [14, 19, 29]	L = D [14]	1 [29]	41 – 56 [19, 29]	Без спецобработок [5, 14, 22, 24 – 26]	POST [5, 22, 24-26]		[32]
ROSACEAE *Geum urbanum*	M Полезащитные полосы, влажные участки [16, 19]	0,8 – 1,5 [14, 19]	L = D [14]	0 [19]	5 (50%) [19] 16 (79%) [18]	Прорастание подавляется в темноте [18, 19] Стратификация теплом [1]. Без спецобработок [5, 14, 22, 25, 26]	POST (5, 22, 25, 26)	A	
RUBIACEAE *Galium aparine*	O Пашня, влажные участки, нарушенные земли [16, 19]	7 – 9 [14, 19]	L = D [14]		5 (50%) [19] 6 (100%) [18]	Стратификация холодом [1, 18, 19] прорастание не зависит от освещения [18, 19] свет подавляет прорастание [1]. Без спецобработок [6, 14]	PRE & POST (6, 28)	A	[32]
Galium mollugo	M Открытые участки [8]	7 [29]	L = D [14]	2 [29]		Без специальных обработок [5, 14, 22, 24, 26, 29]	POST (5, 22, 24, 26)	A	

Семейство и ботаническое название	Продолжительность жизни и условия обитания [1]	Масса семян, Мг	Фотопериод для прорастания или роста [2]	Глубина посадки, мм	Время до прорастания, дни [4]	Специальные обработки или иные особенности [5]	Тест на токсичность [6]	Источник семян [7]	Другие ссылки [8]
SCROPHULARIACEAE *Digitalis purpurea*	Д, М Полезащитные полосы, открытые участки [16, 19]	0,1 – 0,6 [4, 14, 19]	L = D [14]	0 [4, 19]	6 (50%) [19] 8 (99%) [18]	Прорастание подавляется в темноте [1, 17-19]. Без спецобработок [4, 22-26]	POST [4, 22 – 26]	D, G, F	
Veronica persica	О Пашня, открытые участки, нарушенные земли [16, 19]	0,5 – 0,6 [14, 19]	L = D [14]	0 [19]	3 [19] 5 (96%) [18]	Прорастание подавляется в темноте [18, 19]. Стратификация холодом [18]. Без спецобработок [14]	PRE & POST [28	A	[32]

Примечание – в таблице представлена информация о 52 видах растений, не используемых в сельском хозяйстве (ссылки на источник информации даны в скобках). Показатели всхожести взяты из опубликованных источников и имеют только общий характер. Индивидуальные особенности зависят от источника происхождения семян и других факторов.

[1] О = однолетние, Д = двулетние, М = многолетние.

[2] Ссылки [11], [14] и [33] характеризуют отношение периодов освещения и темноты (L и D), необходимое для инициирования прорастания семян. Ссылки [3], [6], [9], [10], [13], [20] характеризуют условия роста в парниках.

[3] 0 мм означает посев семян на поверхность (без заделки в почву) или то, что семена нуждаются в свете для прорастания.

[4] Число дней, через которые взошел определенный процент семян по данным соответствующего опыта (например, 3 дня (50%), ссылка [19])

[5] Сроки дозревания или стратификации не всегда бывают известны. За исключением холодной выдержки, температуры их также не уточняются, так как при проведении испытаний в парниках возможности корректирования температур лимитированы. Большинство семян прорастают при нормальных пределах колебаний температур, наблюдаемых в парниках.

[6] Указанные виды используют в тестированиях токсичности гербицидов как до (PRE), так и после появления проростков (POST).

[7] Примеры поставщиков семян.

[8] Следует использовать два альтернативных источника информации.

[1] Baskin, C.C. & Baskin, J.M. 1998. Seeds. Academic Press, Toronto.

[2] Blackburn, L.G. & Boutin, C. 2003. Subtle effects of herbicide use in the context of genetically modified crops: a case study with glyphosate (Round-Up®). Ecotoxicology, 12:271-285.

[3] Boutin, C., Lee, H-B., Peart, T., Batchelor, P.S., & Maguire, R.J. 2000. Effects of the sulfonylurea herbicide metsulfuron methyl on growth and reproduction of five wetland and terrestrial plant species. Environmental Toxicology & Chemistry, 19(10):2532-2541.

[4] Boutin, C., Elmegaard, N., & Kjaer, C. 2004. Toxicity testing of fifteen non-crop plant species with six herbicides in a greenhouse experiment: implications for risk assessment. Ecotoxicology,13:349-369.

[5] Breeze, V., Thomas, G., & Butler, R. 1992. Use of a model and toxicity data to predict the risks to some wild plant species from drift of four herbicides.

Annals of Applied Biology, 121:669-677.

[6] Brown, R.A., & Farmer, D. 1991. Track-sprayer and glasshouse techniques for terrestrial plant bioassays with pesticides. In: Plants for toxicity assessment: 2nd volume. *ASTM STP 1115*, J.W. Gorsuch, W.R. Lower, W.Wang, & M.A. Lewis, eds. American Society for Testing & Materials, Philadelphia. pp 197 – 208.

[7] Buhler, D.D. & Hoffman, M.L. 1999. Anderson's guide to practical methods of propagating weeds and other plants. Weed Science Society of America, Lawrence, K.

[8] Clapham, A.R., Tutin, T.G., & Warburg, E.F. 1981. Excursion flora of the British Isles, 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge.

[9] Clay, P.A. & Griffin, J.L. 2000. Weed seed production and seedling emergence response to late-season glyphosate applications. Weed Science, 48:481-486.

[10] Cole, J.F.H. & Canning, L. 1993. Rationale for the choice of species in the regulatory testing of the effects of pesticides on terrestrial non-target plants. BCPC – Weeds. pp. 151 – 156.

[11] Fiely, M. (Ernst Conservation Seeds). 2004. Personal communication. (gost.e-ecolog.ru)

[12] Fletcher, J.S., Johnson, F.L., & McFarlane, J.C. 1990. Influence of greenhouse versus field testing and taxonomic differences on plant sensitivity to chemical treatment. Environmental Toxicology & Chemistry, 9:769-776.

[13] Fletcher, J.S., Pfleeger, T.G., Ratsch, H.C., & Hayes, R. 1996. Potential impact of low levels of chlorsulfuron and other herbicides on growth and yield of nontarget plants. Environmental Toxicology & Chemistry, 15(7):1189-1196.

[14] Flynn, S., Turner, R.M., and Dickie, J.B. 2004. Seed information Database (release 6.0, Oct 2004) Royal Botanic Gardens, Kew gost.e-ecolog.ru

[15] Franzaring, J., Kempenaar, C., & van der Eerden, L.J.M. 2001. Effects of vapours of chlorpropham and ethofumesate on wild plant species. Environmental Pollution, 114:21-28.

[16] Gleason, H.A. & Cronquist, A. 1991. Manual of vascular plants of northeastern United States and adjacent Canada, 2nd ed. New York Botanical Garden, Bronx, NY.

[17] Grime, J.P. 1981. The role of seed dormancy in vegetation dynamics. Annals of Applied Biology, 98:555-558.

[18] Grime, J.P., Mason, G., Curtis, A.V., Rodman, J., Band, S.R., Mowforth, M.A.G., Neal, A.M., & Shaw, S. 1981. A comparative study of germination characteristics in a local flora. Journal of Ecology, 69:1017-1059.

[19] Grime, J.P., Hodgson, J.G., & Hunt, R. 1988. Comparative plant ecology: a functional approach to common British species. Unwin Hyman Ltd., London.

[20] Kjaer, C. 1994. Sublethal effects of chlorsulfuron on black bindweed (*Polygonum convolvulus* L.). Weed Research, 34:453-459.

[21] Klingaman, T.E., King, C.A., & Oliver, L.R. 1992. Effect of application rate, weed species, and weed stage of growth on imazethapyr activity. Weed Science, 40:227-232.

[22] Marrs, R.H., Williams, C.T., Frost, A.J., & Plant, R.A. 1989. Assessment of the effects of herbicide spray drift on a range of plant species of conservation interest. Environmental Pollution, 59:71-86.

[23] Marrs, R.H., Frost, A.J., & Plant, R.A. 1991. Effects of herbicide spray drift on selected species of nature conservation interest: the effects of plant age and surrounding vegetation structure. Environmental Pollution, 69:223-235.

[24] Marrs, R.H., Frost, A.J., & Plant, R.A. 1991. Effects of mecoprop drift on some plant species of conservation interest when grown in standardized mixtures in microcosms. Env. Pollution, 73:25-42.

[25] Marrs, R.H., Frost, A.J., Plant, R.A., & Lunnis, P. 1993. Determination of buffer zones to protect seedlings of non-target plants from the effects of

glyphosate spray drift. Agriculture, Ecosystems, & Environment, 45:283-293.

[26] Marrs, R.H. & Frost, A.J. 1997. A microcosm approach to detection of the effects of herbicide spray drift in plant communities. Journal of Environmental Management, 50:369-388.

[27] Marshall, E.J.P. & Bernie, J.E. 1985. Herbicide effects on field margin flora. *BCPC* – Weeds. pp. 1021-1028.

[28] McKelvey, R.A., Wright, J.P., & Honegger, J.L. 2002. A comparison of crop and non-crop plants as sensitive species for regulatory testing. Pest Management Science, 58:1161-1174.

[29] Morton, S. (Herbiseed). 2004. Personal communication. (gost.e-ecolog.ru)

[30] USDA, NRCS. 2004. The Plants Database, version 3.5. (gost.e-ecolog.ru National Plant Data Centre, Baton Rouge, LA 70874-4490 USA.

[31] USEPA. 1999. One-Liner Database. [U.S. E.P.A./Office of Pesticide Programs/Environmental Fate and Effects Division/Environmental Epidemiology Branch].

[32] Webster, R.H. 1979. Technical Report No. 56: Growing weeds from seeds and other propagules for experimental purposes. Agricultural Research Council Weed Research Organization, Oxford.

[33] White, A. L. & Boutin, C. (National Wildlife Research Centre, Environment Canada). 2004. Personal communication.

[34] Zwerger, P. & Pestemer, W. 2000. Testing the phytotoxic effects of herbicides on higher terrestrial non-target plants using a plant life-cycle test. Z. PflKrankh. PflSchutz, Sonderh.,17:711-718.

Приложение С
(справочное)

Примеры условий, требуемых для нормального развития некоторых видов растений

Условия, пригодные для проращивания в климатических камерах 10 видов растений (и ряда других), приведенные ниже, могут быть использованы в качестве основы:

- концентрация диоксида углерода – 350 ± 50 мг/л;
- относительная влажность - 70 ± 5 % во время светового дня и 90 ± 5 % - в ночное время;
- температура – 25 ± 3 °С -дневная, 20 ± 3 °С - ночная;
- фотопериод – 16 ч освещения/8 ч темноты, считая, что длины волн излучения относятся к видимому диапазону 400-750 нм;
- освещение: интенсивность света 350 ± 50 μЕ/м^2/сек, измеряют на поверхности растений.
- виды растений:

томаты (*Solanum lycopersicon*);
огурцы (*Cucumis sativus*);
латтук (*Lactuca sativa*);
соя (*Glycine max*);
капуста (*Brassica oleracea var. capitata*);
морковь (*Daucus carota*);
овес (*Avena sativa*);
райграсс (*Lolium perenne*);
кукуруза (*Zea mays*);
лук (*Allium cepa*).

Библиография

[1] Schrader G., Metge K., and Bahadir M. (1998). Importance of salt ions in ecotoxicological tests with soil arthropods. Applied Soil Ecology, 7, 189-193.

[2] International Organisation of Standards. (1993). ISO 11269-1. Soil Quality -- Determination of the Effects of Pollutants on Soil Flora – Part 1: Method for the Measurement of Inhibition of Root Growth.

[3] International Organisation of Standards. (1995). ISO 11269-2. Soil Quality -- Determination of the Effects of Pollutants on Soil Flora – Part 2: Effects of Chemicals on the Emergence and Growth of Higher Plants.

[4] American Standard for Testing Material (ASTM). (2002). E 1963-98. Standard Guide for Conducting Terrestrial Plant Toxicity Tests.

[5] U.S. EPA. (1982). FIFRA, 40CFR, Part 158.540. Subdivision J, Parts 122-1 and 123-1.

[6] US EPA. (1996). OPPTS Harmonized Test Guidelines, Series 850. Ecological Effects Test Guidelines:

- 850.4000: Background - Non-target Plant Testing;
- 850.4025: Target Area Phytotoxicity;
- 850.4100: Terrestrial Plant Toxicity, Tier I (Seedling Emergence);
- 850.4200: Seed Germination/Root Elongation Toxicity Test;
- 850.4225: Seedling Emergence, Tier II;
- 850.4230: Early Seedling Growth Toxicity Test.

[7] AFNOR, X31-201. (1982). Essai d'inhibition de la germination de semences par une substance. AFNOR X31-203/ISO 11269-1. (1993) Determination des effets des polluants sur la flore du sol: Méthode de mesurage de l'inhibition de la croissance des racines.

[8] Boutin, C., Freemark, K.E. and Keddy, C.J. (1993). Proposed guidelines for registration of chemical pesticides: Non-target plant testing and evaluation. Technical Report Series No.145. Canadian Wildlife Service (Headquarters), Environment Canada, Hull, Québec, Canada.

[9] Forster, R., Heimbach, U., Kula, C., and Zwerger, P. (1997). Effects of Plant Protection Products on Non-Target Organisms - A contribution to the Discussion of Risk Assessment and Risk Mitigation for Terrestrial Non-Target Organisms (Flora and Fauna). Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. No 48.

[10] Hale, B., Hall, J.C., Solomon, K., and Stephenson, G. (1994). A Critical Review of the Proposed Guidelines for Registration of Chemical Pesticides; Non-Target Plant Testing and Evaluation, Centre for Toxicology, University of Guelph, Ontario Canada.

[11] Soil Texture Classification (US and FAO systems): Weed Science, 33, Suppl. 1 (1985) and Soil Sc. Soc. Amer. Proc. 26:305 (1962).

[12] Audus, L.J. (1964). Herbicide behaviour in the soil. In: Audus, L.J. ed. The Physiology and biochemistry of Herbicides, London, New York, Academic Press, NY, Chapter 5, pp. 163-206.

[13] Beall, M.L., Jr. and Nash, R.G. (1969). Crop seedling uptake of DDT, dieldrin, endrin, and heptachlor from soil, J. Agro. 61:571-575.

[14] Beetsman, G.D., Kenney, D.R. and Chesters, G. (1969). Dieldrin uptake by corn as affected by soil properties, J. Agro. 61:247-250.

[15] U.S. Food and Drug Administration (FDA). (1987). Environmental Assessment Technical Handbook. Environmental Assessment Technical Assistance Document 4.07, Seedling Growth, 14 pp., FDA, Washington, DC.

[16] McKelvey, R.A., Wright, J.P., Honegger, J.L. and Warren, L.W. (2002). A Comparison of Crop and Non-crop Plants as Sensitive Indicator Species for Regulatory Testing. Pest Management Science vol. 58:1161-1174.

[17] Boutin, C., Elmegaard, N. and Kjær, C. (2004). Toxicity testing of fifteen non-crop plant species with six herbicides in a greenhouse experiment: Implications for risk assessment. Ecotoxicology vol. 13(4): 349-369.

[18] Boutin, C., and Rogers, C.A. (2000). Patterns of sensitivity of plant species to various herbicides – An analysis with two databases. Ecotoxicology vol.9(4):255-271.

[19] Boutin, C. and Harper, J.L. (1991). A comparative study of the population dynamics of five species of *Veronica* in natural habitats. J. Ecol. 9:155-271.

[20] Boutin, C., Lee, H.-B., Peart, T.E., Batchelor, S.P. and Maguire, R.J. . (2000). Effects of the sulfonylurea herbicide metsulfuron methyl on growth and reproduction of five wetland and terrestrial plant species. Envir. Toxicol. Chem. 19 (10): 2532-2541.

[21] OECD Series on Testing and Assessment. (2005 draft). Current Approaches in the Statistical

Analysis of Ecotoxicity Data: A Guidance to Application, Organisation for Economic Co- operation and Development, Paris.

[22] Hatzios, K.K. and Penner, D. (1985). Interactions of herbicides with other agrochemicals in higher plants. Rev. Weed Sci. 1:1-63.

[23] Hamill, P.B., Marriage, P.B. and G. Friesen. (1977). A method for assessing herbicide performance in small plot experiments. Weed Science 25:386-389.

[24] Frans, R.E. and Talbert, R.E. (1992). Design of field experiments and the measurement and analysis of plant response. In: B. Truelove (Ed.) Research Methods in Weed Science, 2nd ed. Southern weed Science Society, Auburn, 15-23.

[25] Bruce, R.D. and Versteeg, D. J. (1992). A Statistical Procedure for Modelling Continuous Toxicity Data. Environmental Toxicology and Chemistry 11, 1485-1492.

[26] OECD Guidelines for the Testing of Chemicals (2004). 222: Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida/Eisenia andrei*), Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.

УДК 658.382.3:006.354 МКС 71.040.50 IDT

Ключевые слова: химическая продукция, окружающая среда, всхожесть семян и развитие проростков, наземные растения

Подписано в печать 12.01.2015. Формат 60x84 1/8.

Усл. печ. л. 2,79. Тираж 34 экз. Зак. 153.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.

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

gost.e-ecolog.ru