ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р ИСО 22030— 2009

КАЧЕСТВО ПОЧВЫ

Биологические методы Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений

ISO 22030:2005
Soil quality — Biological methods — Chronic toxicity in higher plants
(IDT)

Издание официальное

БЗ 9—2009/531

Москва
Стандартинформ
2010

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Государственным научным учреждением «Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии им. Д.Н. Прянишникова» (ГНУ «ВНИИА») на основе аутентичного перевода на русский язык международного стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 25 «Качество почв и грунтов»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 15 декабря 2009 г. № 1036-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ИСО 22030:2005 «Качество почвы. Биологические методы. Хроническая токсичность высших растений» (ISO 22030:2005 «Soil quality. Biological methods. Chronic toxicity in higher plants»).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ Р 1.5 (пункт 3.5)

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом 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, 2010

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

Введение IV
1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 2
4 Принцип метода 3
5 Материалы 4
5.1 Тест-растения 4
5.2 Почва и ее хранение 4
5.2.1 Общие положения 4
5.2.2 Исследуемая почва 4
5.2.3 Контрольная почва 5
5.3 Референтное вещество 6
6 Аппаратура 6
7 Методы 7
7.1 План эксперимента 7
7.2 Подготовка к испытанию 7
7.3 Предварительное испытание (определение диапазона) 7
7.4 Окончательное испытание 8
7.5 Подготовка сосудов 8
7.6 Подготовка семян 8
7.7 Условия выращивания 8
7.8 Начало испытания 8
7.9 Уход за растениями в ходе испытаний 9
7.9.1 Количество растений и прореживание 9
7.9.2 Увлажнение 9
7.9.3 Перемещение испытательных сосудов 9
7.9.4 Опыление 9
7.9.5 Отчетность 9
7.10 Измерения конечных точек 9
7.10.1 Появление всходов 9
7.10.2 Сбор растений на 14-й день 10
7.10.3 Окончательный сбор растений 10
7.11 Обзор и график испытания 10
8 Критерии применимости метода 11
9 Оценка результатов 11
9.1 Представление результатов измерений 11
9.2 Статистический анализ 12
9.2.1 Предварительное испытание 12
9.2.2 Окончательное испытание 12
9.2.3 Подход, основанный на использовании максимальной наблюдаемой недействующей концентрации (МННК) 12
9.2.4 Подход, основанный на использовании действующей концентрации ($ДК_x$) 12
10 Отчет об испытании 12
Приложение А (информационное) Испытания химических веществ в почвах 14
Библиография 15

Введение

Настоящий стандарт описывает метод оценки качества почв различного происхождения, содержащих неизвестные загрязнения. После небольшой модификации метод может также применяться для измерения токсичности известных химических соединений в почве.

Оценка угнетения развития и хронической фитотоксичности основана на определении параметров прорастания, вегетационного роста и способности к размножению не менее двух видов растений.

Настоящий стандарт основан:

- на результатах исследования по теме «Разработка метода хронического биотестирования с использованием высших растений», финансированного Министерством образования и исследований Германии (Бонн) [1];

- на обсуждениях в рамках совместного проекта «Набор экотоксикологических тестов», являющегося частью объединенной исследовательской группы «Процессы биоремедиации почвы» [2].

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КАЧЕСТВО ПОЧВЫ

Биологические методы
Хроническая фитотоксичность в отношении высших растений

Soil quality. Biological methods. Chronic phytotoxicity for higher plants

Дата введения — 2011—01—01

Предупреждение. Загрязненные почвы могут содержать неизвестные смеси токсичных, мутагенных или иных вредных химических соединений или инфекционных микроорганизмов. Работа с пылью или парами химических веществ может приводить к риску профессиональных заболеваний. Более того, тест-растения могут поглощать химические вещества из почвы, поэтому следует принимать меры предосторожности при работе с ними.

1 Область применения

Настоящий стандарт описывает метод определения угнетения почвами роста и размножения высших растений в контролируемых условиях. Рекомендуется использование двух видов растений: быстрорастущая редька масличная (*Brassica rapa* CrGC syn. Rbr) и овес (*Avena sativa*). Продолжительность опытов должна быть достаточна для достижения конечных точек при определении способности тест-растений к размножению.

При использовании естественных почв, например, с загрязненных участков, или почв после ремедиации и сравнении развития тест-растений на этих почвах с референтными или стандартными контрольными почвами метод может использоваться для оценки качества почвы, особенно функционирования почвы как среды обитания растений.

В приложении А приведены изменения, позволяющие использовать хроническое биотестирование на тест-растениях для исследования степени токсичности химических веществ, внесенных в почву. Приготовив серию разбавлений исследуемого вещества в стандартных контрольных почвах, можно измерить конечные точки для оценки хронической фитоксичности химических веществ. Этот метод неприменим для летучих веществ, т. е. соединений, для которых константа Генри (Н) или коэффициент распределения в системе воздух—вода более единицы, или давление паров более 0,0133 Па при 25 °С.

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие нормативные документы. Если указан год издания, может использоваться только указанное издание. При отсутствии года выпуска следует использовать последнее издание документа (включая любые изменения)

ИСО 11268-1:1993 Качество почвы. Воздействие загрязняющих веществ на земляных червей (*Eisenia fetida*). Часть 1. Определение кратковременного токсического воздействия с использованием субстрата искусственно приготовленной почвы

ИСО 11268-2:1998 Качество почвы. Воздействие загрязняющих веществ на земляных червей (*Eisenia fetida*). Часть 2. Определение воздействия на их размножение

ИСО 11269-2:2005 Качество почвы. Определение воздействия загрязняющих веществ на флору почвы. Часть 2. Воздействие химикатов на всхожесть и рост высших растений

Издание официальное

ИСО 15176:2002 Качество почвы. Определение характеристик вынутого грунта и других почвенных материалов, предназначенных для повторного использования

ИСО 15799:2003 Качество почвы. Руководящие указания по определению экотоксикологических характеристик почв и почвенных материалов

3 Термины и определения

В настоящем стандарте используются следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **искусственно приготовленная почва** (artificial soil): Смесь песка, каолинита, торфа и карбоната кальция.

Примечание — Этот термин описан в ИСО 11268-1 для токсикологического тестирования с использованием дождевых червей. Нельзя использовать чистый кварцевый песок, минеральную вату, вермикулит или другие синтетические субстраты.

3.2 **биомасса** (biomass): Общая масса побегов, цветов и стручков.

Примечания

1 Биомассу измеряют в единицах массы сухого вещества на одно растение или, при необходимости, на весь вегетационный сосуд.

2 Тест-растения могут достигать различных стадий роста в течение периода тестирования и различаться по уровню влажности при уборке. Поэтому сухая масса тест-растений лучше представляет биомассу, произведенную в течение периода роста.

3.3 **концентрация** (concentration): Масса исследуемого вещества в определенном количестве почвы.

Примечание — Концентрацию выражают в массовых долях, мг/кг сухой почвы.

3.4 **загрязняющее вещество** (contaminant): Вещество, попавшее в почву в результате хозяйственной деятельности человека.

[ИСО 15176:2002]

3.5 **контрольная почва** (control soil): Незагрязненный субстрат, используемый в качестве контроля и как среда при приготовлении серии разбавлений с исследуемыми почвами или химическими веществами для выращивания здоровых растений.

Примечание — Можно использовать искусственно приготовленные или природные контрольные почвы, если в них предполагается свободный рост тест-растений. Различия в содержании питательных веществ в исследуемой и контрольной почвах могут влиять на зависимость «доза—ответная реакция». Например, использование контрольной почвы с более высоким содержанием питательных веществ может привести к ложноположительному результату (т. е. исследуемая почва проявит «токсическое» воздействие на рост тест-растений). Если контрольная почва содержит меньше питательных веществ, возможно появление гормезиса (см. 3.9) при малых соотношениях компонентов в смеси либо даже обратная зависимость «доза—ответная реакция», если преобладает влияние питательных веществ. В настоящем стандарте не приводятся численные показатели для содержания питательных веществ.

3.6 **действующая концентрация ($ДК_x$)** (effect concentration, EC_x): Концентрация (массовая доля) исследуемого химического соединения или процентное содержание (массовая доля) исследуемой почвы, при которой данная конечная точка ингибируется в x % случаев по сравнению с контролем.

Примечание — Действующую концентрацию измеряют в мг/кг. При испытании химических веществ $ДК_x$ — масса исследуемого вещества в массе сухой почвы, при исследовании почв $ДК_x$ — процентное содержание исследуемой сухой почвы в массе сухой смеси.

3.7 **прорастание** (emergence): Появление проростка из семени, заканчивающее латентный период.

Примечание — Прорастание выражается в процентном содержании семян, проросших в опытных вегетационных сосудах, относительно контроля.

3.8 **функция среды обитания** (habitat function): Способность почв или почвенных материалов служить средой обитания для микроорганизмов, растений, почвенных животных и их взаимодействий (биоценозов).

[ИСО 15799]

3.9 **гормезис** (hormesis): Улучшение прорастания семян, роста или выживаемости (или других ответных реакций) тест-растений при малых концентрациях химических веществ или исследуемых

почв в почвенных смесях, обладающих токсичностью при использовании в больших количествах, по сравнению с контролем [3].

3.10 **минимальная наблюдаемая действующая концентрация, МНДК** (lowest observed effect concentration, LOEC): Наименьшая исследуемая концентрация (массовая доля) исследуемого вещества в почве, при которой наблюдается статистически значимое воздействие на данную конечную точку ($P < 0,05$) по сравнению с контролем.

см. МННК (3.11).

Примечание — Термин МНДК также применяют для минимального используемого соотношения компонентов в исследуемой или контрольной почве, при котором наблюдается статистически значимое воздействие. МНДК выражается в массе исследуемого вещества, приходящейся на массу сухой почвы или в процентном содержании сухой массы исследуемой почвы в сухой массе смеси. Все концентрации, превышающие МНДК, оказывают вредное воздействие, которое равно или больше, чем наблюдаемое при МНДК. Если это условие не соблюдается, должны быть указаны причины, по которым выбраны величины МНДК и МННК.

3.11 **максимальная наблюдаемая недействующая концентрация, МННК** (no observed effect concentration, NOEC): Максимальная концентрация (массовая доля) исследуемого вещества (или соотношение компонентов в смеси), при которой не наблюдается статистически значимого воздействия по сравнению с контролем ($P < 0, 05$).

см. МНДК (3.10).

3.12 **референтная почва** (reference soil): Незагрязненная почва, отобранная поблизости от загрязненного участка, со свойствами (содержание питательных веществ, pH, содержание органического углерода и механический состав), близкими к свойствам исследуемой почвы.

3.13 **соотношение компонентов в смеси** (soil mixture ratio): Отношение сухой массы исследуемой почвы к сухой массе контрольной почвы.

Примечание — Выражается в процентах.

3.14 **стандартная почва** (standard soil): Почва, отобранная в поле или приготовленная искусственно, свойства которой (pH, механический состав, содержание органического углерода) находятся в известном диапазоне (например европочвы, искусственно приготовленные почвы).

Примечание — Свойства стандартных почв могут отличаться от свойств исследуемых почв.

4 Принцип метода

Настоящий стандарт описывает тестирование растений, включающее первичные и вторичные конечные точки. В ходе тестирования измеряют параметры прорастания, роста и размножения двух видов наземных растений. Рекомендуются быстрорастущая редька масличная (*Brassica rapa*) и овес (*Avena sativa*). Сравнивают ответные реакции растений в исследуемой почве и/или серии разбавлений с контрольной почвой. Этот метод можно также использовать для тестирования химических соединений, используя различные концентрации исследуемого вещества в стандартной контрольной почве. Семена обоих растений сажают в вегетационные сосуды с почвой или почвенными смесями и в контрольные вегетационные сосуды со стандартной или контрольной почвой. Сосуды помещают в вегетационную камеру с контролируемой температурой и освещением. Для увлажнения используют фитильный полив. После прорастания семян определяют энергию прорастания и прореживают растения, оставив определенное количество растений в сосуде. Через две недели часть растений собирают для определения их биомассы. Еще через три-четыре недели (быстрорастущая *Brassica rapa*) или пять-шесть недель (*Avena sativa*) собирают остальные растения для определения вторичных конечных точек, характеризующих их репродуктивный потенциал. Во всех случаях продолжительность тестирования должна быть достаточной для определения конечных точек размножения (например количества или биомассы цветов, семян или плодов).

Обычно высевают по десять семян в каждый из четырех вегетационных сосудов. Прореживают до восьми растений в каждом сосуде и собирают по четыре растения на 14-й день и в конце тестирования. Если в каком-либо сосуде проросло менее восьми семян, количество растений, собранных на 14-й день, уменьшают с тем, чтобы оставить по четыре растения для последнего сбора.

Определяют относительное подавление роста в неразбавленной исследуемой почве для оценки пригодности почвы для выращивания растений. Кроме того, по результатам серии разбавлений могут быть рассчитаны величины МНДК, МННК и $ДК_x$ по кривым «доза—ответная реакция». Эти расчеты необходимы при исследовании химических веществ.

5 Материалы

5.1 Тест-растения

Параллельно используют одно однодольное и одно двудольное растение. В качестве однодольного растения рекомендуется овес (*Avena sativa*), в качестве двудольного — редька масличная (*Brassica rapa*).

Использование быстрорастущей редьки масличной (*Brassica rapa* CrGC syn. Rbr) рекомендуется для сокращения времени тестирования[1)]. Цветение этого растения начинается через две недели, а выход семян можно определить примерно через пять недель.

Можно выбрать другие растения, например, из перечня, приведенного в ИСО 11269-2, или растения со специальными физиологическими характеристиками, такие как растения С4-типа (кукуруза, сахарный тростник, просо), растения в симбиозе с азотфиксирующими бактериями (например *Fabaceae*) или растения экологически или экономически значимые для данного региона. Эти растения должны свободно расти в контрольной почве при данных условиях. Следует выбирать только те растения, которые переносят свойства исследуемых почв и условия тестирования (в том числе их химическое загрязнение). Например, виды растений, чувствительные к низким значениям pH, нельзя использовать для тестирования почв с низкими значениями pH. Овес и быстрорастущая редька масличная растут на песчаных и суглинистых почвах с различной влажностью и pH в диапазоне от 5,0 до 7,5. Не следует использовать фитильный полив для растений, плохо растущих на влажных почвах. При использовании других растений, кроме овса и быстрорастущей редьки масличной, в отчете об испытаниях должно быть приведено обоснование их выбора.

5.2 Почва и ее хранение

5.2.1 Общие положения

В настоящем стандарте не приводится описание методов отбора представительных проб почвы на загрязненных участках. Соответствующий метод пробоотбора описан в [4].

Для оценки уровня фитотоксичности естественных почв с участков с различным загрязнением можно использовать биотестирование на растениях в условиях хронического загрязнения. Оно также может применяться для оценки качества почв после ремедиации. Выбранные почвы после рассева должны иметь, например, pH в диапазоне, не токсичном для тест-растений, от 5,0 до 7,5 для *Brassica rapa* и *Avena sativa*. Исследуемые почвы должны быть просеяны сквозь сито с квадратными отверстиями размером от 4 до 5 мм для удаления крупных фрагментов и тщательно перемешаны. При необходимости почва может быть перед просеиванием высушена на воздухе без подогрева. Время хранения исследуемых почв должно быть минимальным. Рекомендуется хранить почвы при температуре 4 °С в сосудах, обеспечивающих минимальные потери летучих загрязнителей и их сорбцию стенками сосуда.

5.2.2 Исследуемая почва

Для всех используемых почвенных смесей должна быть измерена водоудерживающая способность. Кроме этого, исследуемые почвы должны быть охарактеризованы следующими показателями:

- механический состав (песок, суглинок, глина);
- pH;
- засоленность;
- органический углерод;
- содержание общего и водорастворимого калия, азота и фосфора.

Не следует изменять pH почвы. Измерение содержания загрязняющих веществ (тяжелые металлы, углеводороды, пестициды, взрывчатые вещества, полихлорированные бифенилы и др.) необязательно.

Необходимо проверить, всасывает ли почва воду через фитиль с достаточной скоростью (см. 5.4). Возможно проявление водоотталкивающих свойств или плохой перенос влаги в сильно песчаных почвах, в почвах, загрязненных углеводородами, или в почвах с высоким содержанием глины, которые проявляют тенденцию к сжатию, даже если они имеют высокую водоудерживающую способность (определенную после погружения почвы в воду). Для обеспечения работы системы увлажнения

[1)] Наборы семян и быстрорастущих растений поставляет компания Carolina Biological Supply (Birlington, NC, USA). Эта информация предоставляется для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает поддержку данного продукта со стороны ИСО. Можно использовать любые эквивалентные продукты, если они приводят к таким же результатам.

следует провести предварительные испытания всех выбранных почв в двух повторностях с тем, чтобы определить, достаточен ли фитильный полив или необходим ручной полив.

Примечание — В настоящее время нет возможности привести предельные значения pH для других растений, кроме редьки масличной и овса. Это предмет дальнейших исследований на большом количестве растений в условиях хронического загрязнения на различных почвах. Кроме того, допустимые пределы изменений механического состава, засоленности или других свойств почв также не могут быть приведены для различных типов растений.

5.2.3 Контрольная почва

В качестве контрольного субстрата можно использовать искусственно приготовленные, референтные или стандартные почвы. Если можно отобрать референтные пробы почвы с незагрязненных участков вблизи загрязненной территории, они должны быть подготовлены и проанализированы так же, как и исследуемые почвы. Кроме того, должен быть проведен анализ референтных почв на присутствие возможных загрязняющих веществ. Если нельзя исключить загрязнение токсичными веществами или необычные свойства, предпочтительнее использовать стандартные контрольные почвы.

В качестве стандартных почв должны использоваться природные или искусственно приготовленные почвы, свободные от загрязняющих веществ и содержащие мало питательных веществ. При использовании природных почв содержание органического вещества в них не должно превышать 5 %. Содержание мелких частиц (размером не более 20 мкм) не должно превышать 20 %.

Можно также использовать искусственно приготовленную почву, независимо от высокого содержания органического вещества, в соответствии с [5] и ИСО 11268-2. Однако различия между содержанием органического вещества в исследуемых и контрольных почвах должны быть минимальными. Искусственно приготовленная почва состоит из следующих компонентов (в процентах от массы сухого вещества):

- 10 % сфагнового торфа [воздушно-сухой и тонко размолотый (2 ± 1) мм];
- 20 % каолиновой глины (лучше, если содержание каолинита превышает 30 %);
- примерно 69 % (в зависимости от необходимого количества $CaCO_3$) воздушно-сухого промышленного кварцевого песка (преимущественно тонкодисперсный песок, более 50 % которого имеют размеры 0,05—0,2 мм).

Необходимо добавить примерно 0,3 %—1,0 % карбоната кальция (тонкодисперсный $CaCO_3$ ч. д. а.) для достижения pH 6,0 ± 0,5. Необходимое количество карбоната кальция может меняться в зависимости от свойств конкретной смеси (главным образом, торфа) и должно быть определено по результатам предварительного измерения pH в субпробах (частях пробы, свойства которых идентичны свойствам целой пробы) непосредственно перед испытанием.

Искусственно приготовленная почва готовится тщательным перемешиванием сухих компонентов, перечисленных выше, в большом лабораторном миксере примерно за неделю до проведения испытаний.

Смешанная искусственно приготовленная почва должна выдерживаться при комнатной температуре не менее двух дней для установления кислотного равновесия. Для определения pH и максимальной водоудерживающей способности сухую искусственно приготовленную почву увлажняют за один-два дня до начала испытаний добавлением достаточного количества деионизированной воды до достижения примерно половины требуемой конечной влажности в 40 % — 60 % полной влагоемкости (что соответствует (50 ± 10) % влажности в расчете на сухое вещество). При измерении pH почва смешивается 1 моль/дм^3 KCl в соотношении 1:5 (в соответствии с приложением В к ИСО 11268-2:1998). Если измеренное значение pH находится за пределами требуемого диапазона, добавляют дополнительное количество $CaCO_3$ или готовят новую порцию почвы. Параллельно с определением pH определяют максимальную водоудерживающую способность искусственно приготовленной почвы.

Затем искусственно приготовленную почву делят на порции, число которых равно количеству вариантов с различными концентрациями загрязняющего вещества и контрольных проб, используемых при испытаниях. Необходимо избегать испарения исследуемого субстрата до начала испытания. Конечная влажность достигается добавлением воды вместе или параллельно с добавлением исследуемого вещества. Влажность в начале и конце испытания определяют высушиванием малых порций почвы при температуре 105 °С в течение ночи и повторным взвешиванием.

Если контрольная почва содержит больше питательных веществ, чем исследуемая почва, на кривых «доза—ответная реакция» может проявиться угнетение роста растений. Рекомендуется использовать контрольные почвы с низким содержанием питательных веществ или добавлять питательные вещества в исследуемую почву, чтобы избежать получения ложноположительных результатов.

Добавление питательных веществ может уменьшить разницу между контрольной и испытуемой почвой. Возможны и другие нежелательные результаты:

- замедление созревания растений;
- усиленный вегетативный рост (больше, чем нужно для вегетационных сосудов);
- неблагоприятное воздействие на тест-растения, если исследуемая почва уже содержит большое количество питательных веществ или солей.

Почвы, используемые для тестирования хронической фитотоксичности, не должны стерилизоваться.

Для получения серий разбавлений исследуемую почву тщательно перемешивают с референтной или стандартной контрольной почвой (вручную или при помощи ручного миксера). Гомогенность смеси проверяют визуально.

5.3 Референтное вещество

Параллельные испытания референтного вещества могут подтвердить единообразие условий испытаний и чувствительность растений-индикаторов. Для этого референтное вещество добавляют к контрольной почве (положительный контроль). Рекомендованы следующие вещества: сульфат цинка [6], борная кислота или трихлорацетат натрия по ИСО 11269-2. Выбор подходящего референтного вещества будет предметом последующего тестирования и проверки.

6 Аппаратура

В дополнение к обычному лабораторному оборудованию применяют следующее оборудование.

6.1 Фитотрон, камера для прорастания или теплица, позволяющая поддерживать необходимые условия.

6.2 Весы с точностью $\pm$ 0,1 мг.

6.3 Весы для больших грузов массой до 10 кг для приготовления почвенных смесей.

6.4 Сито с квадратными отверстиями 4—5 мм.

6.5 Испытательные сосуды

Успешно использовались пластиковые сосуды, вмещающие около 400 г почвы при поверхности почвы 73,5 см^2 [1][1)]. Сосуды снабжены фитилями из стекловолокна. Однако фитили не используют, если предварительные испытания показали, что исследуемая почва не поглощает воду через фитили. Фитили длиной (10 $\pm$ 2) мм вставляют в отверстия (диаметром меньше, чем диаметр фитиля на 1—2 мм). Фитили погружают в почву не глубже чем на 1 см, чтобы избежать излишнего увлажнения нижних слоев почвы. Однако более длинные фитили могут улучшить увлажнение почв с низкой водопоглощающей способностью.

При внесении удобрений в исследуемую и контрольную почвы размер сосудов и количество исследуемого субстрата должны быть увеличены для обеспечения нормального роста растений.

Должны быть учтены следующие основные требования:

- фитиль из стекловолокна вставляют через дно сосуда. Фитили достигают резервуара с водой и обеспечивают снабжение водой в течение испытания. Поэтому необходимо проделать отверстие для фитиля. Промышленные вегетационные сосуды обычно имеют более одного отверстия, что приводит к обратному потоку воды. Кроме того, корни могут прорастать сквозь отверстия и уходить от почвенных загрязнений. Рост корней через дополнительные отверстия можно предотвратить, используя фильтровальный диск. Если сосуды увлажняют вручную, без использования фитилей, то на дне этих сосудов не должно быть отверстий;
- фитили должны быть достаточного размера для обеспечения полива в течение всего периода инкубации. Небольшие фитили диаметром в несколько миллиметров, достаточные для увлажнения в начале испытания, могут через несколько недель засориться частицами почвы или корнями или потерять контакт со сжимающейся почвой;

[1)] Подходящими вегетационными сосудами являются полистироловые стаканы (высота — 10 см, площадь нижнего поперечного сечения (дна) — 4,5 см $\times$ 7 см и площадь верхнего поперечного сечения — 7 см $\times$ 10,5 см), например, Беллапласт № 507, Bellaplast, 9450 Altstätten, Switzerland). Эта информация предоставляется для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает поддержку данного продукта со стороны ИСО. Можно использовать любые эквивалентные продукты, если они приводят к таким же результатам.

- размеры сосудов должны быть достаточными для роста восьми растений в течение 14 дней и оставшихся четырех растений еще в течение 4—6 недель (рисунок 1). При использовании сосудов меньших по размеру количество растений в сосуде должно быть уменьшено, а количество сосудов увеличено;
- при использовании прозрачных сосудов в них вставляют непрозрачные гильзы (если сосуды не стоят вплотную друг к другу).

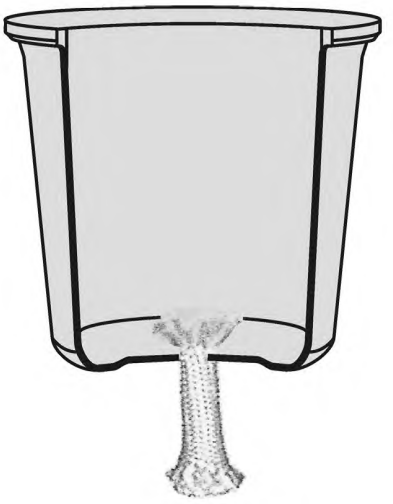


Рисунок 1 — Пример испытательного сосуда с фитилем из стекловолокна

7 Методы

7.1 План эксперимента

Применимость фитилей для полива испытательных сосудов должна быть оценена в предварительном испытании. Для определения диапазона оптимальных концентраций следует также провести пробное тестирование. Каждое окончательное испытание включает серию почвенных смесей (вариантов). Каждый вариант проводится в четырех повторностях, т. е. используют четыре испытательных сосуда с тест-растениями (см. 7.5).

7.2 Подготовка к испытанию

Для каждой почвы (т. е. для исследуемой почвы, серии разбавлений исследуемой почвы контрольной почвой, контрольной почвы и, при наличии, референтной почвы) готовят по два сосуда с фитилями. После заполнения просеянной почвой и/или ее смесями (примерно 400 г) сосуды устанавливают над резервуарами с водой. Вода должна достигнуть поверхности почвы через фитили в течение 24 ч. В этом случае можно ожидать, что почва будет успешно увлажняться через фитили. В противном случае воду следует добавлять вручную на поверхность почвы до влажного состояния (но не сильного намокания). Во многих случаях после такого первоначального ручного увлажнения можно использовать фитильный полив. Иногда почвы приходится увлажнять вручную в течение всего испытания.

7.3 Предварительное испытание (определение диапазона)

При определении токсичности химических веществ, внесенных в почву, проведение предварительного испытания (для определения диапазона действующих концентраций) обязательно. При исследовании загрязненных почв желательно провести предварительное испытание для определения диапазона соотношений компонентов смеси, влияющих на рост тест-растений. Исследуемую почву смешивают с референтной или стандартной контрольной почвой, используя соответствующий метод. Рекомендуется использовать смеси, содержащие 0 %, 12 %, 5 %, 25 %, 50 % и 100 % исследуемой почвы. Предварительное испытание может быть гораздо короче, чем испытание в условиях хронического воздействия загрязняющих веществ, и должно выполняться в соответствии с ИСО 11269-2. Если

токсичный эффект заметен после прорастания, испытание можно прекратить до окончания двухнедельного периода.

7.4 Окончательное испытание

Готовят не менее пяти почвенных смесей или концентраций исследуемого химического вещества. Затем, основываясь на результатах предварительного испытания, готовят серию смесей или концентраций, увеличивающихся в геометрической прогрессии с коэффициентом не более 2, или используют серию почвенных смесей, приведенную выше. Подготовку проводят для проведения экспериментов в четырехкратной повторности для каждого варианта.

Если предварительное испытание не выявило токсичного воздействия, можно ограничиться испытанием на предельное содержание. В этом случае используют только исследуемую почву без разбавления или одну концентрацию исследуемого вещества и контрольную почву, каждую из них не менее чем в четырех повторностях.

7.5 Подготовка сосудов

Если почвы или почвенные смеси хранились какое-то время, они должны быть снова перемешаны непосредственно перед использованием. Сосуды (с фитилями или без них) заполняют почвенными смесями до уровня, примерно на 1 см ниже верхнего края. Все сосуды варианта должны содержать равные объемы почвы. Большинство почв более удобны в обращении в сухом состоянии. Влажные почвы имеют более высокую плотность. Кроме того, влажные семена прилипают к пинцету. Поэтому может понадобиться подсушить почвы на воздухе перед заполнением сосудов. Необходимо знать фактическую влажность каждой смеси для того, чтобы рассчитать количество воды, которое необходимо добавить для начального увлажнения.

Почва не должна быть слишком уплотнена. Однако если структура почвы будет слишком рыхлой или неравномерной, можно произвести ее усадку, бросая сосуды с высоты не более 5 см на твердую поверхность.

7.6 Подготовка семян

Сразу после заполнения сосудов почвой высаживают десять одинаковых непротравленных семян выбранных растений. Если используемые сосуды отличаются от рекомендованных по 7.5, количество семян может быть изменено для обеспечения эквивалентных объемов и площадей почвы для каждого растения. Готовят лунки глубиной от 5 мм до 10 мм для *Brassica rapa* и от 10 до 15 мм для *Avena sativa*, кладут по одному семени в каждую лунку и тщательно заравнивают почву. Можно также взять семена кончиками пинцета и заложить их в почву непосредственно на требуемую глубину.

Семена овса можно отбирать по массе. Отбросив слишком тяжелые и слишком легкие семена, получают достаточно небольшой разброс по массе. Семена *Brassica rapa* слишком малы для отбора по массе. Нет данных о разном развитии семян, различающихся по цвету, который указывает на разную степень зрелости. Семена, различающиеся по форме, следует отбросить. Если используются другие тест-растения, могут использоваться другие критерии отбора семян.

7.7 Условия выращивания

Температура, влажность и освещение должны быть нормальными для роста тест-растений. Испытания могут проводиться в фитотроне, камере для прорастания или теплице. В теплицах в дополнение к дневному свету можно использовать флуоресцентные, газоразрядные, галогеновые и высокочастотные ртутные и натриевые лампы. Следует выбирать лампы, изготовленные специально для выращивания растений. Они должны быть достаточно мощными для установки не ниже 1 м над поверхностью почвы, чтобы можно было ухаживать за растениями (переставлять сосуды, увлажнять почву, опылять растения) и избежать неравномерного нагрева. Кроме того, уровень освещения должен быть одинаковым на всей площади исследуемой почвы.

Для *Avena sativa* и *Brassica rapa* 16-часовой световой день при интенсивности света (13000 ± 2000) люкс должен заканчиваться восемью часами темноты.

Для этих растений подходит температура (23 ± 3) °С. Однако при нормальном прорастании и развитии растений допустим более широкий диапазон колебания температуры.

При испытании загрязненных почв обеспечивают достаточную вентиляцию для предотвращения перекрестного загрязнения разных вариантов летучими токсикантами.

7.8 Начало испытания

Сразу после внесения семян почву увлажняют следующим образом. Доводят влажность в каждом сосуде до 80 % полной влагоемкости для *Avena sativa* и до 60 % для *Brassica rapa* по ИСО 11269-2, с

учетом массы сосудов, массы почвы и ее исходной влажности. Следует учитывать влагоемкость контрольной почвы и исследуемой почвенной смеси. Осторожно брызгают или наливают деминерализованную воду на поверхность почвы до достижения расчетной массы. Этот метод можно использовать для сосудов с фитилями и без них.

После увлажнения почвы сосуды устанавливают над резервуарами с водой. С водой должны контактировать только фитили. Один и тот же резервуар с водой можно использовать только для сосудов одного варианта. Объем воды в резервуарах должен быть ограниченным (например менее 0,5 $дм^3$/сосуд), поскольку возможно вымывание химических соединений и питательных веществ в резервуары.

Отдельные сосуды или группы сосудов по вариантам должны размещаться в зоне инкубации случайным образом.

7.9 Уход за растениями в ходе испытаний

7.9.1 Количество растений и прореживание

С учетом возможного наличия непрорастающих семян в каждый сосуд высаживают большее количество семян (обычно десять), чем необходимо для проверки скорости роста и последующих конечных точек репродуктивного потенциала. Вскоре после появления всходов (для *Avena sativa* и *Brassica rapa* — через семь дней после посадки) количество растений должно быть уменьшено до восьми в каждом сосуде. Удаляют растения случайным образом и оставшиеся растения распределяют равномерно. Важно, чтобы плотность растений в испытательном сосуде не ограничивала нормальный рост растений. Рекомендуется брать восемь растений в каждом сосуде, если используют *Avena sativa* и *Brassica rapa* в качестве тест-растений и сосуды, описанные выше. При использовании других растений и сосудов количество растений должно быть уточнено. Чтобы удалить растения, их выдергивают или срезают, если почва очень липкая или растения растут слишком густо. После срезания растений овса может вырасти вторичный побег, который опять срезают через некоторое время.

Если количество исследуемого субстрата и место в теплице не ограничено, растения, которые должны быть собраны на 14-й день, могут выращиваться в отдельных сосудах.

7.9.2 Увлажнение

Резервуары для полива заполняют деминерализованной водой. Следует контролировать поддержание требуемого уровня влажности. Для этого регулярно проверяют, визуально или осторожно дотрагиваясь до поверхности почвы, увлажнена ли поверхность. Если нет, сосуды вновь взвешивают и добавляют необходимое количество воды. Если фитильный полив неэффективен, регулярно и осторожно поливают или опрыскивают поверхность почвы необходимым объемом воды.

Если фитили не используются, влажность почвы следует регулировать, как описано в 7.2. Масса тест-растений мала по сравнению с массой почвы в течение первых двух недель, а если растения остаются маленькими, то — и позже. Если растения растут быстро на почве с большим содержанием питательных веществ, их масса влияет на расчет влажности почвы. В этот период количество добавляемой воды оценивают экспериментально. Основным критерием является сохранение растений здоровыми (например без признаков увядания).

7.9.3 Перемещение испытательных сосудов

Для предотвращения влияния неравномерного освещения, температуры, влажности или вентиляции на рост тест-растений испытательные сосуды должны регулярно переставляться случайным образом через равные промежутки времени, не реже двух раз в неделю.

7.9.4 Опыление

Быстрорастущий вариант CrGC syn. Rbr *Brassica rapa* требует опыления для получения фертильных семян и стручков. В противном случае стручки образуются только изредка. Примерно через две недели после посадки, когда начинается цветение, растения должны опыляться вручную при помощи ватных палочек, ершиков, мягкой кисточки, «пчелиных палочек» (волосатое брюшко пчелы, прикрепленное к маленькой палочке) или специального приспособления, поставляемого вместе с семенами. В течение периода цветения процедуру повторяют два раза в неделю.

7.9.5 Отчетность

Температура и влажность воздуха в зоне инкубации должны измеряться и записываться через короткие интервалы времени (не реже одного раза в час) или непрерывно.

7.10 Измерения конечных точек

7.10.1 Появление всходов

Считают количество появившихся всходов в каждом сосуде и выражают его в процентах от среднего количества всходов в контрольных сосудах.

Отмечают дату появления 50 % всходов в контрольных сосудах.

7.10.2 Сбор растений на 14-й день

На 14-й день после появления всходов в контрольных сосудах часть тест-растений выбирают случайным образом и срезают на уровне поверхности почвы. В каждом сосуде оставляют четыре растения для окончательного сбора. Определяют следующие конечные точки:

- наличие бутонов (только для *Brassica rapa*);
- количество цветов на одно растение (только для *Brassica rapa*);
- сырую массу на одно растение, измеренную сразу после срезания;
- процент живых растений (к количеству растений после прореживания);
- количество поврежденных (пожелтевших, увядших и т. д.) растений (визуально).

7.10.3 Окончательный сбор растений

Нельзя указать дату окончательного сбора оставшихся растений. Овес должен собираться после появления соцветий в контрольном варианте (обычно через семь—восемь недель), быстрорастущая редька масличная — после развития стручков в контрольном варианте (обычно через пять—шесть недель). Следует иметь в виду, что реальные сроки цветения и плодоношения могут различаться (например, в зависимости от уровня питания, токсических веществ и партий семян).

Растения срезают на уровне поверхности почвы и определяют следующие конечные точки:

- стадия развития в соответствии со схемой ВВСН по [7];
- общее число цветов на растении (только для *Brassica rapa*);
- количество стручков с фертильными семенами (визуально раздутые) (только для *Brassica rapa*);
- сырая масса побегов[1)] (*A. sativa*: без бутонов; *B. rapa*: без стручков), измеренная сразу после сбора растений;
- сырая масса бутонов (*A. sativa*) или стручков (*B. rapa*), измеренная сразу после сбора растений;
- влажность побегов, бутонов и стручков в каждом сосуде (повторности), если обнаружена четкая разница в стадии развития по коду ВВСН между контрольными и опытными растениями[2)];
- сухая масса побегов;
- сухая масса бутонов (*A. sativa*) или стручков (*B. rapa*)[2)];
- доля мертвых растений (в процентах к количеству растений после прореживания).

7.11 Обзор и график испытания

Таблица 1

Период[a]	Процедура (окончательное испытание)	
Подготовка Стадия 1	Подготовка исследуемой почвы (высушивание на воздухе, просеивание, определение свойств). Проверка поглощения почвой воды через фитили. Подготовка испытательных сосудов (нанесение этикеток, вставка фитилей)	
Подготовка Стадия 2	Подготовка почвенных смесей или объектов испытаний	
	Испытание веществ Приготовление исходного раствора или эмульсии и смешивание с почвой или нанесение на кварцевый песок (если необходимы органические растворители). После испарения растворителей — смешивание кварцевого песка, покрытого веществом, с почвой	Испытание почв Смешивание исследуемой и контрольной почв. Наполнение сосудов исследуемыми почвами или почвенными смесями. Внесение семян. Размещение сосудов в испытательном помещении (в случайном порядке). Первоначальное увлажнение

[1)] Сухую массу можно рассчитать, исходя из индивидуальной сырой массы и влажности представительных субпроб соответствующего варианта.

[2)] Влажность побегов, стручков или цветов в каждом варианте определяют высушиванием пробы при (70—80) °С до постоянной массы. Если влажность существенно различается между вариантами, можно рассчитать сухую массу побегов, стручков или цветов, исходя из измеренной сырой массы и влажности, и использовать ее в дальнейшем.

Окончание таблицы 1

Период[а]	Процедура (окончательное испытание)
Подготовка Стадия 3	При необходимости, наполнение резервуаров водой или увлажнение испытательных сосудов сверху. Определение количества проросших семян и прореживание. Перестановка сосудов с растениями (дважды в неделю)
День 1-й	50 % всходов в контрольных сосудах
День 14-й	Первый сбор тест-растений. Визуальный осмотр и определение биомассы собранных растений
Дни 15—35-й	При необходимости, наполнение резервуаров водой или увлажнение испытательных сосудов сверху. Перестановка сосудов с растениями (дважды в неделю). Опыление цветов быстрорастущей *Brassica rapa* (дважды в неделю)
День 35-й[б]	Окончательный сбор быстрорастущей *Brassica rapa*. Визуальный осмотр и определение биомассы собранных побегов и стручков
Дни 35—49-й	При необходимости, наполнение резервуаров водой или увлажнение испытательных сосудов сверху. Перестановка сосудов с растениями (дважды в неделю)
День 49-й[б]	Окончательный сбор *Avena sativa*. Визуальный осмотр и определение биомассы собранных побегов и бутонов

[а] Настоящий график рекомендуется для испытаний *Avena sativa* и быстрорастущей *Brassica rapa*. При использовании других растений сроки уборки могут отличаться.

[б] Предполагаемые сроки. Сроки конечных точек периода репродукции (стручки *Brassica rapa* или бутоны *Avena sativa*) могут отличаться.

8 Критерии применимости метода

Контрольные варианты должны соответствовать следующим требованиям:

- энергия прорастания контрольных растений должна быть не менее 75 % (среднее для всех повторностей);
- развитие здоровых растений: растения не бледнеют и цветы появляются в течение первых трех (быстрорастущая редька масличная) или восьми (овес) недель;
- в течение испытания погибает не более одного растения в сосуде.

9 Оценка результатов

9.1 Представление результатов измерений

По результатам испытаний составляют таблицы, содержащие следующие данные:

- число семян в сосуде;
- число проросших семян в сосуде;
- число живых растений в сосуде на 14-й день;
- число растений, оставшихся в сосуде после сбора на 14-й день;
- длина побега растений, собранных на 14-й день;
- наличие бутонов на 14-й день (*B. rapa*);
- число цветов на 14-й день (*B. rapa*);
- сырая масса каждого растения, собранного на 14-й день;
- число живых растений в сосуде, собранных в конце испытания;
- длина надземной части растений, собранных в конце испытания;
- число цветов на растении в конце испытания (*A. sativa*);
- число стручков на растении в конце испытания (*B. rapa*);
- сырая масса надземной части растения (*A. sativa*: без бутонов; *B. rapa*: без стручков);
- сырая масса бутонов растения (*A. sativa*);
- сырая масса стручков (*B. rapa*);

- влажность побегов, бутонов и стручков в каждом варианте;
- рассчитанная сухая масса побегов, бутонов и стручков (если влажность вариантов значительно различается).

Следует подготовить графическое представление средних значений, включая стандартное отклонение измеренных величин от концентраций химических веществ или соотношений компонентов в почвенных смесях. Полученные кривые дают представление о наличии воздействий, их величине и качестве [3] (определенных как увеличение соответствующих исследуемых параметров при низких концентрациях). Концентрацию или соотношение компонентов в смеси рассчитывают на сухое вещество.

9.2 Статистический анализ

9.2.1 Предварительное испытание

Если наблюдается четкая зависимость «доза—ответная реакция», величины $ДК_x$ можно оценить, используя методы регрессии, в том числе функцию логистической регрессии или пробит-анализ. В противном случае диапазон воздействия следует определить экспертным методом.

9.2.2 Окончательное испытание

Следует иметь в виду, что предлагаемые статистические методы неприменимы в случае гормезиса.

Данные можно анализировать двумя методами: см. 9.2.3 и 9.2.4.

9.2.3 Подход, основанный на использовании максимальной наблюдаемой недействующей концентрации (МННК)

Сначала следует провести статистический анализ однородности дисперсий, например, с использованием критерия Кохрена. Однородные данные должны быть обработаны с использованием соответствующих методов статистического анализа, например, дисперсионного анализа [One-Way Analysis of Variance (ANOVA)] и критерия Дуннетта ($\alpha = 0,05$). Поскольку часто наблюдается увеличение исследуемого параметра при низких концентрациях (гормезис), следует применять двусторонний критерий Дуннетта. Если исследователей интересует только уменьшение соответствующего параметра, для определения МННК применяют односторонний критерий Дуннетта.

Если требование однородности не выполняется, рекомендуется оценить, можно ли решить проблему, используя соответствующее преобразование данных. В противном случае можно использовать непараметрические методы, например, U-критерий Манна—Уитни.

Если проведено испытание на предельное содержание и выполнены необходимые условия параметрических процедур (нормальность, однородность), следует использовать t-критерий Стьюдента и U-критерий Манна—Уитни.

9.2.4 Подход, основанный на использовании действующей концентрации ($ДК_x$)

Этот подход можно использовать, только если обнаружена четкая зависимость «доза—ответная реакция». Сложности могут быть вызваны эффектом гормезиса. Значение R^2 должно быть не ниже 0,7, а исследуемые концентрации должны охватывать от 20 % до 80 % эффектов. Если эти условия не выполняются, для интерпретации результатов необходимы экспертные расчеты.

Для расчета $ДК_x$ после определения соответствующей функции «доза—ответная реакция» (например пробит или логистической функции) проводят регрессионный анализ средних величин вариантов. Искомое значение $ДК_x$ получают введением значения, соответствующего x % среднего значения контрольного варианта, в уравнение, найденное регрессионным анализом. Рекомендуется определять значение $ДК_{50}$, потому что его доверительный интервал меньше, чем для воздействия меньших концентраций (например $ДК_{20}$).

В любом случае результаты статистической оценки должны быть интерпретированы с биологической точки зрения.

Рекомендуется привлекать специалистов по статистике для анализа результатов испытаний, поскольку в настоящем стандарте рекомендации по статистическим процедурам приведены только в общих чертах.

10 Отчет об испытании

Отчет об испытании должен ссылаться на настоящий стандарт и включать обзор полученных результатов, методов и параметров, использованных в ходе исследования. Отчет об испытании должен содержать следующую информацию:

- ссылку на настоящий стандарт;

- полное описание плана и методов испытания;
- виды тест-растений (сорт, источник);
- исследуемую почву (по 5.2.2);
- контрольную почву (тип, источник);
- размер и материал сосудов;
- методы предварительной обработки, смешивания или добавления химических веществ (в случае использования);
- массу почвы в сосуде;
- условия инкубации, включая окружающую среду (фитотрон, лабораторию, теплицу и т. д.), температуру, влажность воздуха, условия освещения;
- глубину заделки семян;
- метод увлажнения;
- уход за растениями во время испытания, включая опыление, сбор и др.;
- конечные точки в соответствии с разделом 8, включая использованные статистические методы;
- качественное описание видимых повреждений;
- обсуждение результатов.

Приложение А
(информационное)

Испытания химических веществ в почвах

Токсичность химических веществ в почвах для процессов развития и репродуктивного потенциала высших растений можно оценить биотестированием в условиях хронического загрязнения со следующими изменениями.

а) Выбирают хорошо известную, нетоксичную природную или искусственно приготовленную стандартную почву, подходящую для нормального развития выбранных тест-растений. Почва должна обладать достаточно высокой скоростью всасывания для того, чтобы использовать фитильный полив. Референтная почва не требуется.

б) Исследуемое химическое вещество добавляют в почву, используя соответствующие методы для получения геометрической серии разбавлений, включающей не менее пяти концентраций, в том числе контроль. Для выбора подходящего диапазона концентраций необходимо провести предварительный тест для определения диапазона действующих концентраций. Для внесения вещества используют метод 1, 2 или 3.

1) Водорастворимые вещества: непосредственно перед началом испытания готовят раствор, эмульсию или дисперсию исследуемого вещества в деионизированной воде в количестве, достаточном для всех повторностей с одинаковой концентрацией (варианта). Следует использовать небольшое количество воды, чтобы почва не была слишком влажной перед заполнением испытательных сосудов. Количество воды должно быть одинаковым для всех вариантов. Эмульсию или дисперсию тщательно перемешивают с порцией почвы.

2) Вещества, нерастворимые в воде, но растворимые в органических растворителях: готовят раствор исследуемого вещества в органическом растворителе (носителе). Раствор смешивают с небольшим количеством кварцевого песка. Затем носитель выпаривают. Важно, чтобы затем песок, содержащий исследуемое вещество с почвой, был тщательно перемешан. В качестве носителей можно использовать только легколетучие растворители. Во всех вариантах должны быть использованы одинаковые количества песка и растворителя. Ставят второй контроль, содержащий только песок и растворитель.

Предупреждение. Следует применять соответствующие меры предосторожности при работе с парами растворителя, чтобы предотвратить риски для здоровья, связанные с вдыханием или другим воздействием, а также избежать повреждения оборудования для экстракции, насосов и пр.

3) Вещества, нерастворимые в воде и органических растворителях: готовят смесь из 10 г тонко измельченного кварцевого песка с необходимым количеством исследуемого вещества для получения нужной концентрации. Затем тщательно перемешивают полученную смесь с почвой.

Библиография

[1] Kalsch, W., Römbke, J. and Schallnass, H-J. (2001) — Entwicklung eines chronischen Pflanzentests. Kap. 9.3.7. Bericht für das BMBF, F+E-Vorhaben 1491077, 219 S. In: Leitfaden Biologische Verfahren zur Bodensanierung. Michels, J., Track, U., Gehrke, U. and Sell, D. (eds). Umweltbundesamt, Grün-Weisse Reihe des BMBF. Extended version only on CD-ROM

[2] UBA (Federal Environmental Agency (Germany) (1999) — BMBF-Project Management Agency for Waste Management and Remediation of Hazardous Abandoned Sites (Section 3.6, PT-AWAS) (Ed.): *Processes for the Bioremediation of Soil* (last update: April 1999)

[3] Chapman, P.M. (2002) — Ecological risk assessment (ERA) and hormesis. *Sci. Total Environ.,* 288, pp. 131—140

[4] ISO 10381-6 — Soil quality — Sampling — Part 6: Guidance on the collection, handling and storage of soil for the assessment of aerobic microbial processes in the laboratory

[5] OECD (1984) — *Earthworm, Acute Toxicity Tests* (Original Guideline, adopted 4th April 1984). Organization for Economic Cooperation and Development, Paris

[6] Sheppard, S.C., Evenden, W.G., Abboud, S.A., and Stephenson, M. (1993) — A plant Life-Cycle Bioassay for contaminated soil, with comparison to other bioassays: mercury and zinc. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.,* 25, pp. 27—35

[7] Lancashire, P.D., Bleiholder, H., Boom, T.V.D., Langelüddeke, P., Strauss, R., and Witzenberger, E.W.A. (1991) — A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. *Ann. Appl. Biol.,* 119, pp. 561—601

УДК 637.544:006.354 ОКС 13.080.05 Н09 ОКСТУ 9109

Ключевые слова: качество почвы, тест-растения, искусственно приготовленная почва, референтная почва, стандартная почва, минимальная наблюдаемая действующая концентрация (МНДК), максимальная наблюдаемая недействующая концентрация (МННК), гормезис

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

Сдано в набор 28.02.2010. Подписано в печать 26.05.2010. Формат 60 × 84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал. Печать офсетная. Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 1,80. Тираж 181 экз. Зак. 430.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru