

ICS

CCS

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/TXXXX—202X

农药登记 环境影响试验生物试材培养
第 11 部分 穗状狐尾藻

Guidance on the housing and care of organisms used for environmental impact test of
pesticide registration—Part 11: *Myriophyllum spicatum*

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

中华人民共和国农业农村部发布

前 言

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件是 NY/T 4195《农药登记 环境影响试验生物试材培养》的第11部分。NY/T 4195已经发布了以下部分：

- 第1部分：蜜蜂；
- 第2部分：日本鹌鹑；
- 第3部分：斑马鱼；
- 第4部分：家蚕；
- 第5部分：大型溞；
- 第6部分：近头状尖胞藻；
- 第7部分：浮萍；
- 第8部分：赤子爱胜蚓；
- 第9部分：赤眼蜂；
- 第10部分：七星瓢虫。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由农业农村部种植业管理司提出。

本文件由全国农药标准化技术委员会（SAC/TC 133）归口。

本文件起草单位：农业农村部农药检定所。

本文件主要起草人：

农药登记 环境影响试验生物试材培养

第 11 部分：穗状狐尾藻

警示——使用本文件的人员应有正规实验室工作的实践经验。本文件并未指出所有可能的安全问题。使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关法规规定的条件。

1 范围

本文件规定了农药登记环境影响试验供试穗状狐尾藻的引入、验收、培养和繁殖等技术方法,以及记录资料要求。

本文件适用于穗状狐尾藻(*Myriophyllum spicatum*)的培养。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

NY/T 3274 化学农药 穗状狐尾藻毒性试验准则。

3 术语和定义

本文件没有需要明确的术语和定义。

4 培养条件

4.1 光照条件,宜采用连续的植物生长灯(波长范围 400 nm~700 nm),水面上光强 $120 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s} \sim 160 \mu\text{E}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$,或8800 lx~11800 lx,光周期为光照16h:黑暗8h。

4.2 水温,宜为 $16^\circ\text{C} \sim 28^\circ\text{C}$ 。

4.3 pH,微酸性至碱性环境中均可生长,宜为7.5~8.0。

4.4 若短期内无试验计划,可合理降低光照强度和温度。

5 试剂和材料

5.1 试剂

5.1.1 二水合氯化钙, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CAS 号: 10035-04-8, 分析纯以上。

5.1.2 七水硫酸镁, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CAS 号: 10034-99-8, 分析纯以上。

5.1.3 碳酸氢钠, NaHCO_3 , CAS 号: 144-55-8, 分析纯以上。

5.1.4 碳酸氢钾, KHCO_3 , CAS 号: 298-14-6, 分析纯以上。

5.2 培养基

宜使用 Smart and Barko 培养基, 配制方法见附录 A.1。

6 仪器设备

6.1 光照培养相关设施设备。

6.2 温度计、照度计(球形传感器/余弦传感器)、pH 计等环境监控仪器设备。

6.3 培养容器, 应选用透光性好的玻璃或其他化学惰性材料制成的水槽。

7 引入

7.1 应从专业的研究或培养机构引入健康植株, 并提供物种证明, 引入后进行物种确认。

7.2 提前准备好培育用水-沉积物体系, 到达后应尽快进行转接。

7.3 如需要从野外引入, 采集地点应该选择未受化学品、重金属或其他污染的水域, 采集后充分清洗蜗牛、虫卵等可见污染物, 并需对其进行物种鉴定。

8 培养方法

8.1 水-沉积物体系建立

使用 Smart and Barko 培养基和人工沉积物建立水-沉积物试验系统, Smart and Barko 培养基和人工沉积物按照附录 A 配制。先将沉积物的干燥组分在水槽底部均匀混合, 再将水相培养基控制流速注入水槽, 与沉积物充分混匀。至少在使用前 2 d 将沉积物充分润湿, 避光储存。

8.2 接种

8.2.1 水培方式

8.2.1.1 Smart and Barko 培养基和锥形瓶及配套瓶塞等相关器具, 高温 ($210\text{ }^\circ\text{C}$, 4 h) 或高压蒸汽 ($121\text{ }^\circ\text{C}$, 20 min) 灭菌。

8.2.1.2 至少截取 4 cm 穗状狐尾藻中间段, 置于装有经灭菌处理的 Smart and Barko 培养基的锥形瓶中, 放入光照培养箱中培养。

8.2.1.3 培养 7 d 后, 健康植株可转接至水-沉积物系统。如需进行长期水培养, 至少每 7 d 更换一次培养基, 培养 21 d 以上的植株可以用于后续试验。

8.2.2 水-沉积物培养方式

截取穗状狐尾藻植株顶部，或选用水培方式中切口已充分愈合的茎段，去掉下部侧枝，插入沉积物进行培养。插入茎段时，应使其一半位于沉积物中，至少覆盖两个节。种植密度不宜过密，留出繁殖空间。

8.3 培养

8.3.1 培养过程中及时补水，使溶液体积变化不超过 10%。补充后测定 pH，宜将水相 pH 保持在 7.5~8.0。长期培养时，可定期在沉积物中加入市售缓释肥料，补充营养成分。

8.3.2 定期检查穗状狐尾藻健康状况。若检查发现培养容器内发生藻类或菌落污染，可通过曝气使污染物分散成薄膜状或液滴状后打捞去除。若发现沉积物中出现小型线虫感染，应尽快对水体中的植株进行保种接种，并对已有人工土进行烘干（120℃）处理。

8.3.3 在穗状狐尾藻形成厚密的冠层前，应及时进行新批次的培养。宜每隔 14 d-21 d 按 7.2.1 或 7.2.2 进行一次转接，最长不应超过 1 个月。

9 记录资料

对每批次保种培养、扩繁培养的穗状狐尾藻，实验室均应保存完整的引入、培养记录，相关原始记录表格设计见附录B，主要记录资料包括：

- 引入与验收记录；
- 日常培养记录；
- 培养基配制记录；
- 水质检测记录；
- 环境条件等。

附录 A

(规范性)
培养基与沉积物配方

A.1 Smart and Barko 培养基的配制方法

Smart and Barko 培养基配方见表 A.1。

表A.1 Smart and Barko 培养基配方

成分	浓度 (mg/L)
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	91.7
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	69
NaHCO_3	58.4
KHCO_3	15.4

宜将pH控制在7.5~8.0。

A.2 沉积物的配制方法

沉积物的配方见表 A.2。除配方土外，还应添加营养盐，以保证穗状狐尾藻正常生长。宜加入300 mg/kg 的 $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 和150 mg/kg 的 NH_4Cl ，也可使用其他配比合理的肥料。

表A.2 沉积物配方

组分	规格	干重占比 (%)	其他要求
泥炭	泥炭藓, pH 5.5~6.0, 风干后精细研磨成粉末状 (粒径小于等于 1 mm)	4~5	
高岭土	过孔径 150 μm (100 目) 筛, 高岭石含量不 低于 30%	20	/
石英砂	细砂为主, 超过 50%的颗粒粒径在 50 μm ~200 μm 之间	75~76	/
碳酸钙	用于调节最终混合物的 pH 值	/	调节 pH 值达到 7.0 ± 0.5
水相	Smart and Barko 培养基	/	使沉积物含水量达到 30%~50%

附 录 B
(规范性)
记录表格 (示例)

引入与验收记录见表B. 1。
日常培养记录记录见表B. 2。
接种植株记录见表B. 3。

表 B. 1 引入与验收记录

名称	
引入日期	
引入数量	
引入来源	
验收内容	
实验室内批次	
放置位置	
验收人/日期	

表 B. 2 日常培养记录

日期 (年/月/日)	批次	容器编号	pH	照度 lx	温度 ℃	补水	状态

表 B.3 接种植株记录

接种日期（年/月/日）		
批次		
状态		
接种容器编号		
每个容器接种穗状狐尾藻植株数，个		
培养场所/仪器编号		
接种数量，箱		
培养场所/仪器编号		
培养条件	照度，lx	
	温度，℃	
	pH	
	仪器编号	
操作者及操作日期		

参 考 文 献

- [1] OECD, 2014. Guidelines for the Testing of Chemicals, Test No. 239: Water-Sediment *Myriophyllum Spicatum* Toxicity Test.
- [2] OECD, 2014. Guidelines for the Testing of Chemicals, Test number 238 : sediment-free *Myriophyllum Spicatum* toxicity test.