

Ocena skuteczności środków ochrony roślin

Efekty uboczne dla *Encarsia Formosa*

Zakres

Niniejsza norma opisuje sposób prowadzenia badań nad oceną efektów ubocznych stosowania środków ochrony roślin na *Encarsia Formosa* w warunkach chronionych.

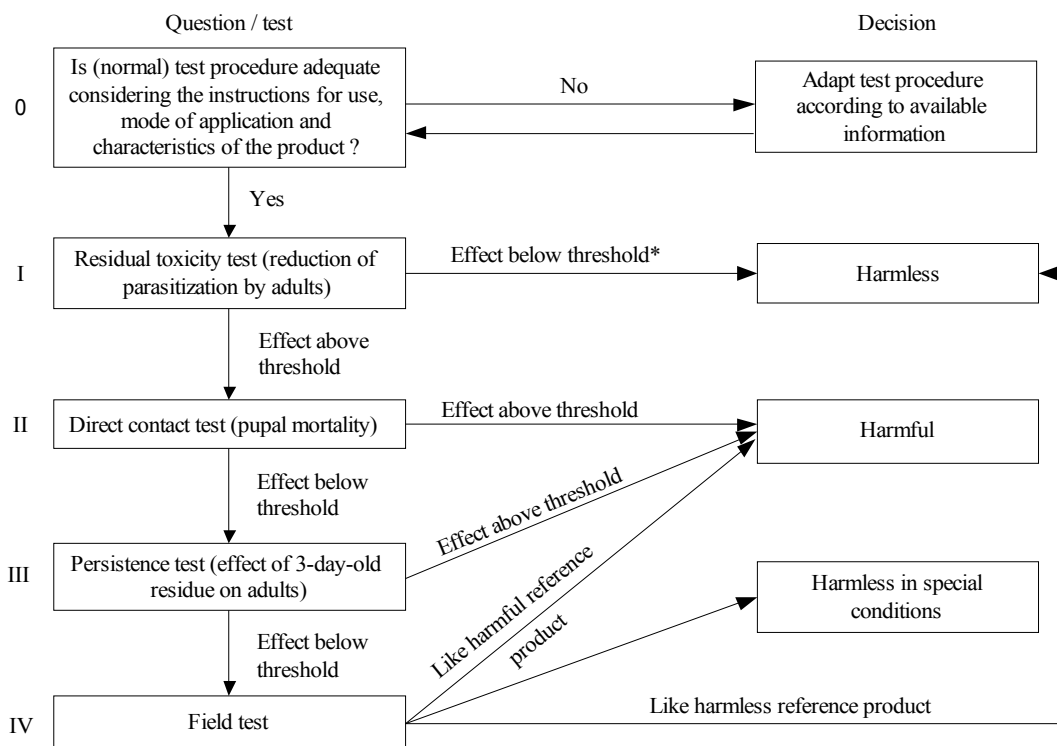
Zatwierdzenie normy i poprawki

Po raz pierwszy zatwierdzona we wrześniu 1988.

Zgodne z poprawkami wniesionymi do tekstu normy w 1998.

Encarsia formosa (ENCAFO) wykorzystywana jest do biologicznego lub zintegrowanego zwalczania mączlika szklarniowego, *Trialeurodes vaporariorum* (TRIAVA). Ponieważ badania polowe są pracochłonne i kosztowne, prezentowana norma realizowana jest poprzez plan badań sekwencyjnych, obejmujący trzy testy laboratoryjne, przy pomocy których możliwe jest jednoznaczne sklasyfikowanie wielu preparatów jako szkodliwych bądź nieszkodliwych, bez konieczności uciekania się do badań polowych. Na zaklasyfikowanie preparatu jako jednoznacznie bezpiecznego pozwala w szczególności przeprowadzenie szczególnie rygorystycznego testu na toksyczność szczątkową przeprowadzanego na dorosłych osobnikach (w najbardziej wrażliwej fazie życia), ponieważ jak wynika z doświadczeń, to tej pory żaden produkt zaklasyfikowany na jego podstawie jako nieszkodliwy nie okazał się następnie w badaniach polowych produktem szkodliwym. Przeprowadzenie testu bezpośredniego kontaktu na poczwarkach (najbardziej

odpornym stadium) pozwala na wykluczenie preparatów jednoznacznie szkodliwych, przekraczających określone wartości progowe. Preparaty nieniszczące poczwerek mogą być w stanie nadal unicestwić osobniki dojrzałe po pojawieniu się, jeżeli substancje te są odpowiednio trwałe. Dlatego też stosowany jest test 3-dniowy, który pozwala na wyeliminowanie dalszych produktów jako zbyt trwałych. Ostatecznie badaniom polowym poddawane są jedynie produkty, które okazały się potencjalnie szkodliwe w pierwszym teście, lecz są nieszkodliwe dla poczwerek i nie wykazują dużej długotrwałości. Następnie są one porównywane ze szkodliwymi i nieszkodliwymi preparatami porównawczymi w celu ich ostatecznej klasyfikacji. Procedura ta została zilustrowana w schemacie zamieszczonym na Rys. 1.



Legenda: question – pytanie; test – test; decision – decyzja, no – nie

0: Czy zwykła procedura testowa jest odpowiednia biorąc pod uwagę instrukcje stosowania, sposób stosowania i charakterystykę produktu? – Należy przystosować procedurę testową odpowiednio do dostępnych informacji.

I: Test na toksyczność resztkową (zmniejszenie pasożytnictwa przez osobniki dorosłe) – oddziaływanie poniżej wartości granicznej* – nieszkodliwy.

Oddziaływanie powyżej wartości granicznej.

II: Test bezpośredniego kontaktu (śmiertelność poczwerek) oddziaływanie powyżej wartości granicznej – nieszkodliwy. Oddziaływanie poniżej wartości granicznej.

III: Test na trwałość (oddziaływanie 3-dniowych pozostałości na osobniki dorosłe) – Effect above threshold (oddziaływanie powyżej wartości granicznej).

Oddziaływanie poniżej wartości granicznej (Effect below threshold)

Harmless in special conditions – nieszkodliwy w specjalnych warunkach

Like harmful reference product - jak szkodliwy preparat porównawczy

IV: Test polowy

Like harmless reference product – jak nieszkodliwy preparat porównawczy

Rys 1. Schemat badania sekwencyjnego stosowanego w celu oceny efektów ubocznych stosowania środków ochrony roślin na *Encarsia Formosa*

* Sugerowana wartość progowa we wszystkich przypadkach wynosi 50%.

Testy zostały opracowane zgodnie ze wskazówkami odnośnie norm (Hassan, 1985) Grupy Roboczej ds. „Pestycydów i Pożytecznych Organizmów” IOBC/WPRS (Dział Międzynarodowej Organizacji Kontroli Biologicznej Zachodniego Regionu Palearktycznego). Wcześniejsza wersja normy została opublikowana (Oomen, 1985) przed przejściem przez pełną procedurę zatwierdzania norm EPPO.

I. Pierwszy test laboratoryjny: test resztkowej toksyczności środków ochrony roślin na dorosłej *Encarsia formosa*

1. Warunki doświadczenia

1.1 Zasada doświadczenia

Doświadczenie powinno być przeprowadzone w klatce. Dorosłe *E. formosa* (faza życia, która jest najbardziej

wrażliwa na działanie środków ochrony roślin) poddawane są działaniu pozostałości świeżo zastosowanego preparatu na szklanych podstawkach, osobnikom które przeżyją podaje się poczwarki *T. vaporariorum*. Ocenie poddawana jest zarówno śmiertelność *E. formosa* jak i stopień procentowy pasożytnictwa *E. formosa* na *T. vaporariorum*.

1.2 Warunki doświadczenia

Klatka składa się z okrągłej mosiężnej ramki (średnica 10 cm, wysokość 3 cm), dwóch szklanych kwadratowych podstawek (12 × 12 cm) i jednej okrągłej szklanej podstawki (średnica 9 cm). Szklane podstawki są spryskiwane, a następnie przykręcane dwoma śrubami. W jednej z kwadratowych podstawek znajduje się okrągły otwór (o średnicy 5 cm), który, w normalnej pozycji zasłonięty jest okrągłą szklaną

podstawką. W mosiężnej ramce umieszczonych jest osiem otworów wentylacyjnych pokrytych gazą, otwór służący do wprowadzania lub manipulowania pasożytami oraz rurka wentylacyjna podłączana do pompki wypompowującej powietrze (Rys. 2).

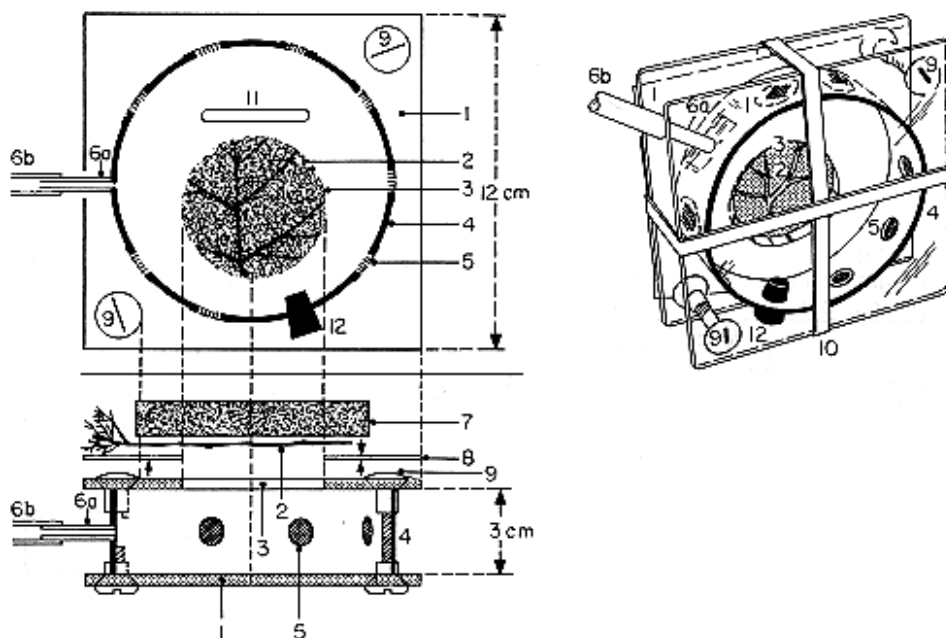
W czasie przeprowadzania testu klatki umieszczone są w gablocie o kontrolowanych warunkach środowiskowych, oświetlanej, jeżeli jest taka możliwość, z dwóch źródeł światła. Warunki temperaturowe/oświetleniowe realizowane są w programie 22°C/16 h światło i 16°C/8 h ciemność. Wilgotność względna wynosi około 70-80%. Powietrze jest usuwane z klatek w celu uniknięcia nawarstwiania się par preparatu. Klatki umieszczone są w szklanych gablotach, w których szklane podstawki umieszczone

są standardowo w pozycji poziomej i oświetlane od góry.

W niektórych momentach doświadczenia, 3. – 4. larwy instara *T. vaporariorum* podawane są pasożytom na ukorzenionych liściach fasoli. W tym przypadku, klatka znajduje się w pozycji pionowej i jest oświetlana z przodu. Liść wraz ze swoimi korzeniami umieszczany jest w wodzie i dociskany porażoną stroną w pozycji pionowej za pomocą filcowej poduszki do okrągłego otworu w jednej ze szklanych podstawek.

Szklane podstawki, przed ponownym wykorzystaniem pozostawiane są na noc w 2% roztworze Burtan® u a następnie pięciokrotnie czyszczone i płukane w gorącej wodzie.

Fig. 2. Klatka testowa wykorzystywana w teście toksyczności resztkowej *Encarsia formosa*. 1 = szklana podstawa, 2 = liść, 3 = otwór, 4 = pierścień, 5 = otwór wentylacyjny z gazą, 6a = miedziana rurka z gazą, 6b = plastikowa rurka podłączana do pompki awaryjnej, 7 = tampon filcowy, 8 = folia plastikowa, 9 = pasek, 10 = taśma elastyczna, 11 = pasek papieru posmarowany miodem, 12 = zatyczka gumowa.



1.3 Sposób przygotowania pasożytów

Sposób pozyskiwania pasożytów, których wiek musi być znany, został opisany w Załączniku I. W dniu poprzedzającym rozpoczęcie testu, czarne poczwarki umieszczane są na liściach na płytce Petriego w celu wylęgu. Na pokrywie naczynia Petriego umieszczony jest pasek papieru samoprzylepnego z naniesionymi niewielkimi kroplami miodu. Pokrywkę ostrożnie odsuwa się i kładzie na białą powierzchnię. Osy chodzące po powierzchni można łatwo złapać za pomocą niewielkiego zasysacza. Jeżeli jest to możliwe, dorosłe osobniki nie powinny mieć mniej niż 12 h i więcej niż 24 h.

1.4 Projekt i układ doświadczenia

Kombinacje doświadczenia: poletka chronione badanym preparatem (preparatami), poletko kontrolne poddane działaniu wody.

Powierzchnia testowa: jedna klatka.

Liczba powtórzeń: co najmniej 3.

2. Stosowanie zabiegów

Preparat, w najwyższym stężeniu przewidzianym dla zamierzonego stosowania, podawany jest na każdą ze szklanych podstawek (górną, dolną oraz pokrywającą) w celu zapewnienia standardowego wysokiego poziomu jednorodności osadu ($1 \text{ mg płynu cm}^{-2}$). Operacja ta może zostać przeprowadzona w laboratoryjnej chłodniczej wieży natryskowej. Krople powinny pokrywać około 80% powierzchni szklanej. Szklane podstawki poletka kontrolnego spryskiwane są wodą wodociągową. Podstawki są suszone przez okres 2 h, a następnie klatki są składane (patrz 1.2).

3. Sposób prowadzenia doświadczenia i sposób oceny

Do każdej klatki wprowadzanych jest piętnaście samic *E. formosa* (patrz punkt 1.3), gdzie podaje im się pożywienie, które stanowi miód. Drugiego, czwartego i siódmego dnia określa się liczbę samic, które przetrwały ekspozycję, a następnie podaje im się 250-350 łusek *T. vaporariorum* (wyhodowanych zgodnie z Załącznikiem II) na liściu fasoli (patrz 1.2) przez okres 4 h. Test kończy się siódmego dnia. Łuski testowe przetrzymywane są przez 12 dni po pasożytowaniu, a następnie ustalana jest liczba utworzonych czarnych łusek.

4. Wyniki

Dla każdej klatki zliczana jest liczba zakażonych pasożytami łusek. Następnie obliczany jest procentowy wskaźnik pasożytnictwa (wartość średnia na klatkę na okres 4 h na jedną samicę obecną od początku testu). Dla każdego testowanego produktu obliczane jest średnie zmniejszenie pasożytnictwa, wyrażane jako stosunek procentowy zwalczania.

Preparaty zmniejszające tendencje do pasożytnictwa o wartość mniejszą od ustalonej wartości progowej mogą

być klasyfikowane jako nieszkodliwe i nie wymagają dalszych testów. Jednakże, gdy ich tryb działania jest niestandardowy (regulatory wzrostu, wysokie ciśnienie pary) preparaty te powinny przejść dodatkowe testy laboratoryjne badające określone działanie (wyniki należy zinterpretować w sposób opisany powyżej).

Przeparaty redukujące zdolność do pasożytnictwa o wartość większą od ustalonej wartości progowej uznawane są za potencjalnie szkodliwe i przekazywane są do kolejnego testu z serii.

II. Drugi test laboratoryjny: test bezpośredniego kontaktu środków ochrony roślin na poczwarkach *Encarsia formosa*

1. Warunki doświadczenia

1.1 Zasada doświadczenia

Dojrzałe poczwarki *E. formosa* (faza życia najmniej podatna na większość środków ochrony roślin) na ujednoliconych liściach fasoli, na płytce Petriego, poddawane są bezpośredniemu rozpyleniu (opryskowi) preparatu.

1.2 Warunki doświadczenia

Dwa lub trzy dni przed pojawieniem się (Załącznik I), liście fasoli zakażone pasożytami poczwarkami przytwierdzone są do folii aluminiowej gumą tragakantową. Po wysuszeniu, liście są cięte na kawałki zawierające po około 40 poczwarek. Kawałki są umieszczane na papierowym filtrze na plastikowej płytce Petriego (o średnicy 9 cm). Filtr papierowy jest zwilżany, ponieważ utrzymuje kawałki liścia na miejscu w czasie ekspozycji.

1.3 Projekt i układ doświadczenia

Kombinacje doświadczenia: poletka chronione badanym preparatem (preparatami), poletko kontrolne poddane działaniu wody.

Wielkość poletka: jeden kawałek liścia.

Liczba powtórzeń: osiem (kawałków) z co najmniej czterech różnych liści.

2. Stosowanie zabiegów

Stosowane stężenie stanowi największe stężenie przewidziane dla zamierzonego stosowania dla praktycznego opryskiwania. Na liściach stosowana jest wysoka standardowa gęstość opryskiwania, $4 \text{ mg płynu cm}^{-2}$, tzn. około 257 mg na płytkę. Preparaty podawane są na spód liści, jeżeli jest to możliwe w laboratoryjnej wieży natryskowej. Krople powinny pokrywać około 80% powierzchni liścia. Poletko kontrolne spryskiwane jest wodą wodociągową.

3. Sposób prowadzenia doświadczenia i sposób oceny

Po zastosowaniu, kawałki liścia przenoszone są na

czyste dna płytek Petriego osadzonych w przykrytym korytku. Stałą wentylację zapewnia ssanie pompki akwariowej. Korytka przechowywane są w komorze klimatycznej w temperaturze 22°C, przy wilgotności względnej 70% oraz cyklu jasno/ciemno 16 h/8 h.

Większość przetrwałych poczwerek wylęga się po 2-3 dniach. Wylęgnięte i martwe poczwarki zliczane są po 10-14 dniach od zakończenia zabiegu. Średnia śmiertelność obliczana jest dla każdego stężenia preparatu z poprawką na śmiertelność w próbie kontrolnej (wzór Abbott'a).

4. Wyniki

Preparaty wywołujące śmiertelność wyższą od wartości progowej klasyfikowane są jako jednoznacznie nieszkodliwe i nie muszą przechodzić dalszych badań. Preparaty wywołujące śmiertelność niższą od ustalonej wartości progowej nadal traktowane są jako potencjalnie szkodliwe i przekazywane są do dalszych badań w serii (test trwałości).

III. Trzeci test laboratoryjny: trwałość toksyczności środków ochrony roślin testowana na dorosłych *Encarsia formosa*

1. Warunki doświadczenia

1.1 Zasada doświadczenia

Preparat stosowany jest na rośliny pomidora. Następnie, po wysuszeniu i procesie starzenia się pozostałości w praktycznych warunkach szklarniowych podczas danego okresu, dorosłe *E. formosa* poddawane są działaniu pozostałości w małych klatkach.

1.2 Warunki doświadczenia

Rodzaj klatki wykorzystywanej do poddawania samiec *E. formosa* ekspozycji na liściach pomidorów z pozostałościami preparatu to pleksiglasowa komórka

Munger'a (średnica 36 mm, wysokość 9 mm) z dwoma pokrytymi gazą otworami wentylacyjnymi i kolejnym otworem zatykanym korkiem (średnica 5 mm) po bokach. Przez jeden z otworów wentylacyjnych przechodzi rurka połączona z ssącą pompką akwariową (Rys. 3).

Górna strona komórki Munger'a przykryta jest kawałkiem szkła a część dolna kawałkiem filtra papierowego i kawałkiem szkła dociskającym liść pomidora do komórki. Świeżość liścia utrzymywana jest poprzez trzymanie ogonka liściowego w wodzie. Cała instalacja złączona jest razem za pomocą gumek. Komórki Munger'a utrzymywane są przez cały czas trwania eksperymentu w środowisku kontrolowanym, zgodnie z opisem zawartym w rozdziale I/1.2 testu na toksyczność resztkową.

Rośliny pomidora (np. cv. Moneymaker) hodowane są w szklarni w warunkach najbardziej zbliżonych do warunków komercyjnej uprawy pomidorów.

1.3 Projekt i układ doświadczenia

Kombinacje doświadczenia: poletka chronione badanym preparatem (preparatami), poletko kontrolne poddane działaniu wody.

Wielkość poletka: jedna komórka.

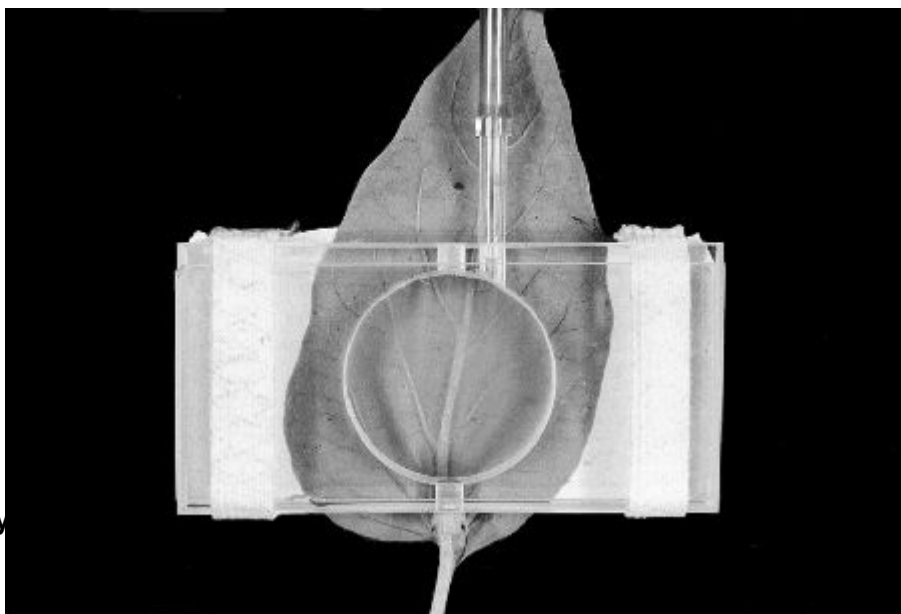
Liczba powtórzeń: co najmniej 3.

2. Stosowanie zabiegów

Preparat podawany jest na rośliny pomidora aż do chwili, kiedy zaczną słuwać. Substancja testowana jest przy najwyższym stężeniu określonym dla zamierzonego stosowania. Podanie preparatu realizowane jest 7 tygodni po rozpoczęciu wzrostu przez roślinę pomidora w szklarni.

Fig. 3. Klatka (Komórka Munger'a) wykorzystywana w teście na trwałość (III) na dorosłych osobnikach *Encarsia formosa*. Pasożyty wprowadzane są poprzez zatykany korkiem otwór w dolnej ścianie.

3. Sposób sposób oceny



Co najmniej 20 samiec *E. formosa* (maksymalnie 24 h) wprowadzanych jest do komórek Munger'a, gdzie podawany jest im pokarm w postaci miodu. Liście pomidora po upływie trzech dni (lub po upływie innego okresu) od opryskania są dociskane do komórek, po oderwaniu od roślin. W dalszej kolejności, klatki z liśćmi są przechowywane w gablocie o kontrolowanych warunkach środowiskowych.

Liczba samic *E. formosa*, które przetrwały ekspozycję ustalana jest po 7 dniach. W celu ustalenia skuteczności preparatu oblicza się średnią śmiertelność skorygowaną dla śmiertelności w próbie kontrolnej (wzór Abbott'a).

4. Wyniki

W przypadku gdy trzydniowe pozostałości na liściach wywołują śmiertelność dorosłych osobników *E. formosa* powyżej ustalonej wartości progowej, preparat klasyfikowany jest jako szkodliwy. W przypadku testowania innych preparatów, okres w którym preparat pozostaje szkodliwy może być określony dla zamierzonego stosowania. Preparaty wywołujące śmiertelność niższą od ustalonej wartości progowej nadal traktowane są jako potencjalnie szkodliwe i przekazywane są do badań polowych.

IV. Doświadczenia polowe mające na celu zbadanie efektów ubocznych stosowania środków ochrony roślin na *Encarsia formosa*

Wszystkie preparaty niesklasyfikowane we wcześniejszych testach powinny być poddane badaniom polowym.

1. Warunki doświadczenia

1.1 Organizmy badane, wybór rośliny uprawnej i jej odmiany

Organizm badany: *Encarsia formosa*.

Testy na ogórku *Cucumis sativus* (CUMSA), pomidorze *Lycopersicon esculentum* (LYPES) lub na

DLME). Stosowane
ne.

onywane w sposób zapewniający brak zakłóceń zewnętrznych oraz w warunkach naturalnych. Liczba obecnych *Trialeurodes vaporariorum* i *E. formosa* powinna być jednakowa, a osobniki powinny być odpowiednio zagęszczone. W przypadku nierównego rozkładu organizmów na poletku doświadczalnym należy oznaczyć co najmniej osiem roślin z odpowiednim poziomem zarobaczenia; rośliny te powinny pozostawać na poletku doświadczalnym w celu przyszłego wykorzystania przy dokonywaniu oceny. Warunki wzrostu i uprawy, temperatura i wilgotność powinny być jednakowe dla wszystkich badanych poletków. Należy zastosować osobne szklarnie lub osobne przegrody szklarniowe.

1.3 Projekt i układ doświadczenia

Kombinacje doświadczenia: poletka chronione badanych preparatem (preparatami), preparatem porównawczym i poletko kontrolne, powinny być rozmieszczone według odpowiedniego układu statystycznego.

Wielkość poletka (bez pasów ochronnych): co najmniej 8 roślin doniczkowych. Przegroda szklarniowa zawierająca co najmniej 8 roślin traktowana jest jako poletko. Wysokość roślin powinna wynosić co najmniej 1 m.

Liczba powtórzeń: zwykle co najmniej 4, w wyjątkowych przypadkach 3.

W celu uzyskania dalszych informacji odnośnie projektu badań, zob. Normę EPPO PP 1/152 Planowanie i analiza badań oceniających skuteczność.

2. Stosowanie zabiegów

2.1 Badany preparat (preparaty)

Oceniany preparat (preparaty) powinien być konkretnym środkiem ochrony roślin o określonej formulacji (zob. Normy EPPO PP 1/181 Przeprowadzanie i raporty z badań nad oceną skuteczności).

2.2 Preparat(y) porównawcze

Preparat porównawczy powinien być środkiem znanym z praktycznej skuteczności w warunkach uprawy i zdrowotności roślin oraz w warunkach środowiskowych (włącznie z klimatycznymi) na obszarze, na którym ma być prowadzone doświadczenie. Jeden z preparatów porównawczych powinien być dla *E. formosa* nieszkodliwy, a jeden szkodliwy dla tego gatunku. W zasadzie mechanizm działania, terminy i metody stosowania powinny być jak najbardziej zbliżone do tych dla badanego środka.

2.3 Sposób stosowania

Sposób stosowania winien odpowiadać dobrym standardom stosowanym w praktyce.

2.3.1 Sposób wykonania zabiegu

Sposób wykonania zabiegu (np. opryskiwanie) powinien być zgodny z zaleceniami dla danego środka ochrony roślin.

2.3.2 Rodzaj sprzętu

Zabiegi powinny być wykonane przy użyciu sprzętu pozwalającego na równomierne rozmieszczenie preparatu na obszarze całego poletka lub, jeśli jest to pożądane, naniesienie go dokładnie tam, gdzie ma być naniesiony w miarę możliwości dobrej praktyki produkcyjnej. Czynniki mogące wpłynąć na działanie na *E. formosa* (takie jak ciśnienie robocze, rodzaj dysz) winny być dobrane zgodnie z zaleceniami. Należy dołożyć wszelkich starań w celu uniknięcia znoszenia przy stosowaniu.

2.3.3 Terminy i częstotliwość stosowania

Liczba zabiegów oraz data każdego z nich winny być zgodne z zaleceniami.

Zwykle, pierwsze podanie wykonuje się kiedy populacje *T. urticae* i *E. formosa* mają odpowiednią gęstość.

2.3.4 Dawki i objętości

Preparat z reguły stosowany jest w szklarni w najwyższej dawce określonej dla zamierzonego stosowania. Zastosowana dawka powinna być wyrażana w kg (lub litrach) preparatu na ha. Użytecznym może również okazać się zapisywanie wielkości dawki w gramach substancji aktywnej na ha. W przypadku opryskiwań, należy również podać dane odnośnie stężenia (%) i objętości (l ha⁻¹).

W przypadku preparatów o wysokim ciśnieniu oparów, fumigantów, aerozoli lub mgieł, należy podać objętość szklarni i powierzchnię poletka kontrolnego.

Należy odnotować wszelkie odchylenia od zalecanego dawkowania.

2.3.5 Dane dotyczące innych środków ochrony roślin

Jeżeli zachodzi potrzeba zastosowania innych środków ochrony roślin (bądź czynników ochrony biologicznej),

powinny być one stosowane jednakowo na wszystkich poletkach, oddzielnie od badanego środka i środka porównawczego. Prawdopodobieństwo ich współoddziaływania powinno być ograniczone do minimum.

3. Sposób zbierania i rejestrowania wyników oraz dokonywana pomiarów

3.1 Dane meteorologiczne

Temperatura, wilgotność i, w razie stosowania, program sztucznego naświetlania i nawadniania powinny być rejestrowane przez cały czas wykonywania doświadczeń.

3.2 Sposób, terminy oraz częstotliwość dokonywania ocen

3.2.1 Rodzaj danych

Dla każdej oceny należy osobno oszacować lub zliczyć liczbę larw i dorosłych osobników *T. vaporariorum* oraz liczbę czarnych poczwerek *E. formosa*, na co najmniej jednym uprzednio oznaczonym liściu na każdej z co najmniej ośmiu losowo położonych roślin na każdym poletku. W czasie wstępnej oceny należy wybierać liście rosnące na średniej wysokości rośliny. Jeżeli jest to możliwe, spody liści powinny być dokładnie sprawdzone, bez naruszania owadów. Możliwe jest wprowadzanie własnych skali, które jednak należy opisać. Jeżeli ocena trwa przez okres dłuższy od 4 tygodni po zastosowaniu, należy wybrać i oznaczyć świeże zestawy liści, stosownie do potrzeby.

3.2.2 Terminy i częstotliwość

Ocena wstępna: bezpośrednio przed zastosowaniem.

Ocena główna: 4 tygodnie przed zastosowaniem (tj. przed zakończeniem jednego pełnego cyklu życia *E. formosa*).

Ocena, z jednodziennymi przerwami, może trwać maksymalnie przez okres 3 miesięcy po zastosowaniu.

3.3 Bezpośredni wpływ na roślinę uprawną

Bezpośrednie efekty oddziaływania na rośliny uprawne powinny być ocenione już podczas doświadczeń badających skuteczność preparatu (patrz odpowiednie normy EPPO w serii PP 1 Ocena skuteczności środków ochrony roślin), jednak wszystkie poszczególne wpływy powinny zostać odnotowane.

4. Wyniki

Skutki oddziaływania na *E. formosa* porównywalne z efektami spowodowanymi przez szkodliwy preparat porównawczy klasyfikowane są jako szkodliwe; skutki oddziaływania zgodne ze skutkami spowodowanymi przez nieszkodliwy produkt porównawczy klasyfikowane są jako nieszkodliwe. Bezpośrednie wyniki klasyfikowane są jako nieszkodliwe w specjalnych warunkach (koniec sekwencyjnego programu testowego).

V. Prezentacja wyników

Na wszystkich etapach programu testowego wyniki powinny być przedstawione w formie usystematyzowanej a raport powinien obejmować analizę i ocenę. Dane źródłowe (robocze) również powinny być dostępne. Należy też dokonać analizy statystycznej przy użyciu odpowiednich metod, które powinny być podane. Brak takiej analizy powinien być uzasadniony. Zobacz Normę EPPO PP 1/152 Planowanie i analiza skuteczności badań szacunkowych.

Załącznik I

Hodowla *Encarsia formosa*

Populacja hodowlana *E. formosa* wykorzystywana w testach powinna pochodzić ze źródeł wykorzystywanych przez zwykłych hodowców. Owady przybierają na wadze w klatce (0,25 m³) znajdującej się w pomieszczeniu, w którym temperatura, światło i wilgotność mogą być w pewnym zakresie regulowane. Odpowiednie czynniki klimatyczne to temperatura około 22°C, 16 h naświetlenia (o intensywności wystarczającej do wzrostu roślin) oraz wilgotność względna 60-70%. Rośliny pomidorów, porażone przez *T. vaporariorum*, pełnią rolę źródła spadzi i małych larw potrzebnych do utrzymania dorosłych osobników *E. formosa* w dobrej kondycji.

Rośliny fasoli, na których znajdują się łuski *T. vaporariorum* (patrz Załącznik II) umieszczane są w klatce masowej hodowli w celu poddania ich działaniu pasożytów. Rośliny z porażonymi przez pasożyty łuskami wrywane są po 2 dniach, dorosłe pasożyty wprowadzane są z powrotem do klatki. Rośliny przechowywane są w tym samym pomieszczeniu. Po około 9 dniach porażone przez pasożyty łuski czernieją, a 9 dni później zaczynają pojawiać się nowe osobniki dorosłe. Do badań wykorzystuje się liście z poczwarkami, które pojawiły się 2 lub 3 dni temu.

Równomierną dostawę zainfekowanych pasożytami łusek można zapewnić poprzez regularne (co drugi dzień) wprowadzanie nowych roślin fasoli z łuskami.

Załącznik II

Hodowla *Trialeurodes vaporariorum*

Białe muchy są tuczone w małej szklarni (przy temperaturze 20-30°C) na młodych roślinach fasoli (*Phaseolus vulgaris*, np. cvs Blokker lub Kogelboon). Rośliny są stale przycinane o góry, tak, że zawsze pozostają tylko dwa główne liście. Grupy roślin umieszczane są w klatkach z białymi muchami, gdzie zostają pokryte ich jajami, każda grupa roślin jest wyjmowana z klatki, a dorosłe osobniki białych much są z powrotem wdmuchiwane do klatki na nowe rośliny. Porażone rośliny są następnie przenoszone do pomieszczenia, w którym temperatura wynosi około 22°C, wilgotność względna 50-60% i w którym naświetlenie jest wystarczające do zapewnienia wzrostu roślin.

Stosowanie takiej procedury zapewnia stałą dostawę porażonych liści. Do 17 dnia większość łusek powinna osiągnąć czwarty instar (łuski 3-go lub 4-go instaru

najbardziej nadają się do składania jaj przez *E. formosa*). Rośliny są następnie wykorzystywane do hodowli *E. formosa* (Załącznik I) lub do badań.

Przed zastosowaniem należy przeprowadzić test na gęstość łusek. Liczba łusek w centralnej części liścia (poddawanej działaniu pasożytów w teście klatkowym) powinna wynosić 250-350 (około 12 na cm²). Większa liczba spowodowałaby przedwczesne więdnienie liści, podczas gdy liczba mniejsza spowodowałaby słabe porażenie pasożytami lub nawet hiperpasożytnictwo. W celu zapewnienia wystarczającej liczby żywotnych liści pokrytych odpowiednią ilością łusek do testu, należy uwzględnić liczbę roślin większą o 50%.

Bibliografia

HASSAN, S.A. (1985) Standardowe metody badania efektów ubocznych stosowania pestycydów na naturalnych wrogach owadów i roztoczek opracowane przez Grupę Roboczą IOBC/WPRS ds. 'Pestycydów i Organizmów Pożytecznych'. *Biuletyn OEPP/EPPO* **Biuletyn 15**, 213-255.

OOMEN, P.A. (1985) Wskazówki odnośnie oceny efektów ubocznych stosowania pestycydów - *Encarsia formosa*. *Biuletyn OEPP/EPPO* **Biuletyn 15**, 257-265.