

Ocena skuteczności fungicydów

Wpływ *Botrytis* spp. i *Sclerotinia* spp. na warzywa

Zakres

Niniejsza norma opisuje sposób prowadzenia badań nad oceną skuteczności fungicydów na *Botryotinia fuckeliana* oraz *Botrytis fabae* wywołujących odpowiednio metaliczną pleśń i brązowawe cętki, jak i *Sclerotinia sclerotiorum* oraz *Sclerotinia minor* wywołujących głównie gnicie łodyg warzyw.

Zatwierdzenie normy i poprawek

Po raz pierwszy zatwierdzona we wrześniu 1982.

Zgodnie z poprawkami wniesionymi do tekstu normy w 1996.

Poprawka zatwierdzona we wrześniu 2002.

1. Warunki doświadczenia

1.1 Organizmy badane, wybór rośliny uprawnej i jej odmiany

Organizmy badane:

Botryotinia fuckeliana (forma anamorficzna *Botrytis cinerea*) (BOTRCI), *Botrytis fabae* (BOTRFA), *Sclerotinia sclerotiorum* (SCLESC) i *Sclerotinia minor* (SCLEMI).

Rośliny uprawne:

B. fuckeliana, *S. sclerotiorum* i *S. minor* na sałacie *Lactuca sativa* (LACSA); *B. fuckeliana* i *S. sclerotiorum* na pomidorze *Lycopersicon esculentum* (LYPES), fasola biała *Phaseolus vulgaris* (PHSVX), roszpinka warzywna *Valerianella locusta* (VLLLO), groszek *Pisum sativum* (PIBST), ogórek *Cucumis sativus* (CUMSA), papryka *Capsicum annuum* (CAPSAN), bakłażan *Solanum melongena* (SOLME); *B. fabae* na bobie *Vicia faba major* (VICFJ). Inne warzywa uprawne porażone *Botrytis* spp. lub *Sclerotinia* spp. mogą zostać przebadane zgodnie z wytycznymi przedstawionymi w niniejszej normie.

Można przeprowadzić sztuczny proces inokulacji (Załącznik I), ale w przypadku *Sclerotinia* spp. nie jest on zbytnio skuteczny.

Rośliny wykorzystane do jednego doświadczenia powinny pochodzić z tego samego gatunku i odmiany uprawnej. Zaleca się wybór odmian uprawnych podatnych na patogeny oraz wykorzystanie odmian uprawnych, które znajdują się w stadium rozwoju, który wzmacnia rozwój choroby.

Doświadczenie powinno być przeprowadzone na roślinie uprawnej oraz organizmach poddanych badaniom określonym w zaleceniach.

1.2 Warunki doświadczenia

Doświadczenie powinno być przeprowadzone w warunkach polowych lub w warunkach chronionych. Należy zapewnić warunki sprzyjające rozwojowi choroby (zobacz Załącznik I).

Warunki uprawowe (np. rodzaj gleby, nawożenie, zabiegi uprawowe) powinny być takie same dla wszystkich poletek doświadczalnych i powinny odpowiadać miejscowej tradycji uprawy roślin.

W warunkach szczególnej ochrony roślin wskazane jest użycie oddzielnych szklarni lub oddzielnych pomieszczeń szklarniowych do przeprowadzenia poszczególnych doświadczeń, w przypadku gdy preparaty są stosowane przy wykorzystaniu techniki, która powoduje ich rozprzestrzenianie się (np. preparaty o wysokiej prężności pary, fumiganty, aerozole lub mgiełki).

Doświadczenie powinno być częścią serii badań przeprowadzonych w różnych regionach o odmiennych warunkach środowiskowych i najlepiej w różnych latach lub sezonach wegetacji (zob. Normy EPPO PP 1/181 Przeprowadzanie i raporty z badań nad oceną skuteczności).

1.3 Projekt i układ doświadczenia

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

Rozmiar poletka (bez pasów ochronnych): minimalne wymiary poletka doświadczalnego (bez pasów ochronnych) są podane w Tabeli nr 1.

W przypadku pomidora i ogórka, może powstać konieczność zwiększenia ilości roślin, kiedy istnieje prawdopodobieństwo znacznej straty roślin spowodowanej porażeniem łodygi.

Ilość powtórzeń: zazwyczaj przynajmniej 4, ale w wyjątkowych przypadkach również 3, w szczególności w warunkach szczególnej ochrony, jeżeli zastosowane

zostaną oddzielne szklarnie lub pomieszczenia szklarniowe (patrz 1.2). W takim przypadku należy zwiększyć ilość przeprowadzonych doświadczeń.

Więcej informacji na temat projektu badania znajduje się w Normie EPPO PP 1/152, Planowanie i analiza badań oceniających skuteczność stosowanych środków [Design and analysis of efficacy evaluation trials].

Tabela nr 1 Minimalny rozmiar poletka doświadczalnego (bez pasów ochronnych)

Roślina uprawna	W polu	Warunki szczególnej ochrony
Salata	30 roślin (w przypadku <i>Botrytis</i>) 40 roślin (w przypadku <i>Sclerotinia</i>)	30 roślin (w przypadku <i>Botrytis</i>) 40 roślin (w przypadku <i>Sclerotinia</i>)
Fasola biała	5 m ²	5 m ²
Roszpunka warzywna	5 m ²	2.5 m ²
Groszek, bób	10 m ²	10 m ²
Pomidor, bakłażan, papryka	10 roślin	10 roślin
Ogórek	10 roślin lub 6 m rząd	5 roślin

2. Stosowanie zabiegów

2.1 Badany preparat (preparaty).

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

2.2 Preparat porównawczy

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. 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 dobremu standardom stosowanym w praktyce.

2.3.1 Sposób wykonania zabiegu

Sposób wykonania zabiegu (na przykład opryskiwanie) powinien być zgodny z zaleceniami.

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

skuteczność (takie jak ciśnienie robocze, rodzaj dyszy, głębokość wprowadzania) winny być dobrane zgodnie z zaleceniami.

2.3.3 Terminy i częstotliwość stosowania

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

2.3.4 Dawki i objętości

Preparat powinien w zasadzie być stosowany w dawkach określonych w zaleceniach. Dawki wyższe lub niższe niż zalecane mogą być sprawdzone w celu określenia zakresu skuteczności i bezpieczeństwa uprawy.

Stosowana dawka powinna być wyrażona w kg (lub litrach) produktu na 1 ha. Przydatnym może również okazać się zapisanie dawek w g substancji aktywnej na ha. W przypadku opryskiwania, należy również podać informacje dotyczące stężenia (%) oraz objętości wody (L ha⁻¹).

Należy odnotować wszelkie odchylenia od zalecanego dawkowania.

W przypadku preparatów stosowanych przy wykorzystaniu dużej prężności pary, fumigantów, aerozoli lub mgiełek, zastosowana dawka powinna być wyrażona w jednostkach na 1 m² i 1 m³ powierzchni szklarni.

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 dokonywania pomiarów

3.1 Dane meteorologiczne i edaficzne

3.1.1 Dane meteorologiczne

Badanie przeprowadzane w polu

W okresie przed i po zastosowaniu preparatu, dane meteorologiczne powinny być zebrane, gdyż mogą mieć wpływ na rozwój rośliny uprawnej i/lub chwastów oraz działanie środka ochrony roślin. Obejmują one zazwyczaj dane dotyczące opadów atmosferycznych i temperatury. Wszystkie dane powinny być zebrane z miejsca prowadzenia doświadczenia, lecz mogą też pochodzić z pobliskiej stacji meteorologicznej.

Dane meteorologiczne powinny być również zarejestrowane w dniu zastosowania preparatu, gdyż istnieje prawdopodobieństwo, że mogą one mieć wpływ na jakość i ciągłość stosowania zabiegów. Odnosi się to zazwyczaj do opadów (rodzaj, czas, intensywność oraz ilość w mm), temperatury (przeciętna, maksymalna i minimalna w °C), wiatru, zachmurzenia, nasłonecznienia oraz wilgotności. Należy również odnotować wszelkie znaczące zmiany pogody oraz czas ich wystąpienia w stosunku do czasu zastosowania preparatu.

Ponadto, podczas okresu stosowania preparatu, należy odnotować wszelkie ekstremalne warunki pogodowe, które mogą mieć wpływ na wyniki, takie jak dotkliwa lub długotrwała susza, obfite opady, późne przymrozki, grad. itp. We właściwy sposób należy też odnotować dane dotyczące nawadniania.

Doświadczenia przeprowadzane w szklarni

W przeciągu okresu przeprowadzania doświadczeń należy odnotować wysokość temperatury, stopień wilgotności, oraz jeżeli zajdzie taka konieczność, wymogi dotyczące oświetlenia oraz podlewania.

3.1.2 Dane edaficzne

Należy podać następujące cechy gleby: pH, zawartość materii organicznej, typ gleby (zgodnie z obowiązującą normą krajową lub międzynarodową), wilgotność (np. sucha, mokra, nasiąknięta), a także informacje o rodzaju podłoża przeznaczonego do wysiewu oraz o programie stosowania nawozów sztucznych.

3.2 Sposób, terminy oraz częstotliwość dokonywania oceny

Należy odnotować fazę rozwojową rośliny uprawnej BBCH każdorazowo w dniu zastosowania preparatu i zbierania danych służących do jego oceny.

3.2.1 Rodzaj danych

We wszystkich przypadkach, należy rozróżnić pomiędzy oceną przeprowadzaną w przypadku porażenia *Botrytis* spp. i *Sclerotinia* spp. W badaniach prowadzonych na siewkach, obecność lub brak symptomów choroby wykorzystywane są raczej do oznaczenia stopnia porażenia.

Salata (Botrytis fuckeliana)

Przynajmniej 20 roślin na poletku doświadczalnym powinno być sklasyfikowanych według skali przedstawionej poniżej, która powinna uwzględniać:

- 1 = brak porażenia;
- 2 = znikome oznaki choroby, porażenie dotknęło jedynie podstawy ogonków;
- 3 = umiarkowany poziom choroby, zmiany patologiczne łodygi niewychodzące poza łodygę;
- 4 = ogromna powierzchnia porażenia, zmiany patologiczne łodygi rozprzestrzeniające się poza łodygę, lub porażenie wyższych liści, salata nienadająca się do sprzedaży (również rośliny całkowicie zniszczone przez *B. fuckeliana* podczas przeprowadzania doświadczeń).

Salata (Sclerotinia spp.)

Spośród 40 roślin z poletka doświadczalnego bez pasów ochronnych, należy policzyć wszystkie porażone lub zwiędnięte rośliny i/lub wykazujące istnienie grzybni *Sclerotinia* spp. (i dlatego nienadające się na sprzedaż). Rośliny takie mogą być w ramach dalszych działań zaklasyfikowane zgodnie ze skalą, która powinna być opisana.

Roszpunka warzywna

Należy oszacować procentowy odsetek całkowitego porażonego 1m² obszaru w przynajmniej trzech przypadkowo wybranych punktach poletka doświadczalnego.

Pomidor i bakłażan

Ilość oraz zasięg zmian patologicznych łodygi powinny być określone na każdej roślinie porażonej *B. fuckeliana* i/ lub *S. sclerotiorum*, przy wykorzystaniu odpowiedniej skali, która powinna być opisana. Porażenie liści *B. fuckeliana* może być określone poprzez przebadanie 5 najstarszych liści z każdej rośliny oraz policzenie tych porażonych, jeżeli ogonki końcowe liści lub listki wykazują symptomy choroby. Należy dokonać oceny zaplamienia na wiązkach z owocami o rozmiarach większych niż 2 cm w średnicy, przy zastosowaniu odpowiedniej skali, która powinna być opisana (przynajmniej 50 owoców z jednego poletka doświadczalnego powinno zostać poddanych

ocenie). Można również uwzględnić ilość opadłych owoców (zarówno porażonych jak i zdrowych).

Ogórek

Ilość oraz zasięg zmian patologicznych łodygi powinny być określone na każdej roślinie porażonej *B. fuckeliana* i/ lub *S. sclerotiorum*, przy wykorzystaniu odpowiedniej skali, która powinna być opisana. Należy również oszacować odsetek porażonych liści i owoców.

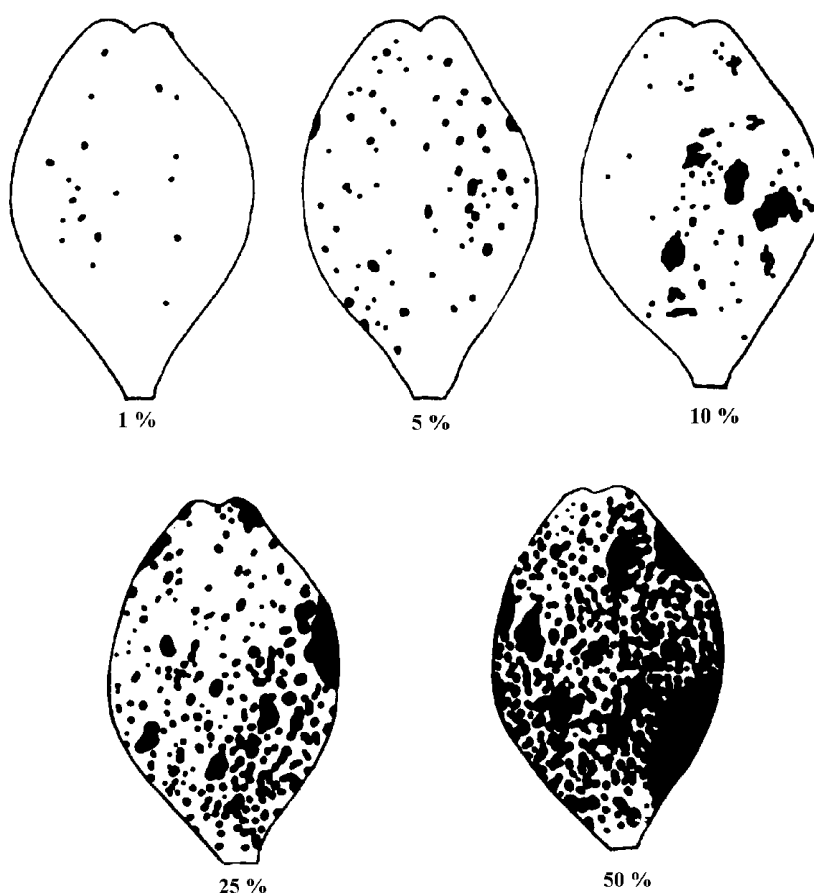
Papryka

Należy obliczyć ilość poprzecznych odrośli porażonych lub nieporażonych, tj. wykazujących zmiany patologiczne łodygi wywołane *B. fuckeliana* lub *S. sclerotiorum*, najbardziej powszechne na liściach, kwiatach lub owocach.

Groch, fasola i bób

Części roślin porażone przez *B. fuckeliana* i *S. sclerotiorum* w przypadku groszku, fasoli lub bobu różnią się symptomami. *B. fuckeliana* atakuje kwiaty, owoce, liście i łodygi. *S. sclerotiorum* powoduje głównie gnicie łodygi. Dlatego wymagane jest zastosowanie różnych technik dokonywania oceny. W przypadku porażenia łodygi groszku, fasoli białej, bobu *S. sclerotiorum* należy policzyć ilość roślin z zakażoną

łodygą główną na obszarze obejmującym przynajmniej 50 roślin z każdego poletka doświadczalnego. W przypadku porażenia groszku i fasoli białej *B. fuckeliana* należy określić procentowo (%) obszar porażenia 100 przypadkowo wybranych strąków lub w przypadku gdy wymagane jest uzyskanie informacji dotyczącej opadania strąków, należy obliczyć całkowitą liczbę strąków oraz ilość porażonych strąków na 10 przypadkowo wybranych roślinach w każdym poletku doświadczalnym. W przypadku porażenia liści *B. fuckeliana* fasoli białej, należy oszacować % porażenia liścia na 10 przypadkowo wybranych roślin z każdego poletka doświadczalnego; zaleca się również dokonanie oddzielnej oceny części kwitnących i niekwitnących. Każda łodyga jest dzielona na trzy równe długości (sekcje) i ze środka każdej sekcji pobierany jest jeden liść (składający się z 2 lub więcej listków). Procentowy zasięg porażenia liścia (powierzchnia górna) *B. fabae* powinien być oszacowany, przy wykorzystaniu wskazówek przedstawionych na ilustracji 1. Zalecane jest również odnotowanie procentowego usuwania liści, w szczególności gdy jest ono znaczne.



Ilustracja 1 *Botrytis fabae* na fasoli białej: procentowy zakres porażonej powierzchni liścia.

3.2.2 Terminy i częstotliwość

Salata, roszpuka warzywna, pomidor, bakłażan, ogórek, papryka

Ocena wstępna: bezpośrednio przed pierwszym zastosowaniem.

Pośrednie oceny: według rozwoju choroby (zazwyczaj przed kontynuacją rozwoju choroby). Nie jest konieczne przeprowadzanie szczegółowych ocen pośrednich na sałacie, ale mogą okazać się one pomocne. Wymagany minimum jest odnotowanie informacji dotyczących roślin, które znajdują się w dużym stopniu na wczesnym etapie prowadzenia badań, tak aby można było je wykorzystać w ocenie ostatecznej nawet jeżeli do tego czasu zwiędły i praktycznie znikły.

Ocena ostateczna: 10–14 dni po ostatnim zastosowaniu (w warunkach szklarniowych 7 dni po ostatnim zastosowaniu).

Dalsze oceny mogą być przeprowadzane w 14-dniowych przerwach w celu przygotowania do badań długotrwałego oddziaływania.

Część zebranych plonów może być przetrzymana przez odpowiednio długi okres czasu po zbiorach (przynajmniej 48 godzin), a następnie zbadana pod względem oddziaływania *B. fuckeliana* zachodzącego po zbiorach.

Groch, fasola biała i bób

Ocena skuteczności wszystkich trzech roślin uprawnych powinna być przeprowadzona około 21 dni po zabiegu i zebraniu plonów.

3.3 Bezpośredni wpływ na roślinę uprawną

Należy zbadać działanie preparatu na rośliny uprawne pod kątem wykazywania fitotoksyczności (lub widocznych pozostałości stosowanego środka). Ponadto należy opisać wszelkie objawy korzystnego działania preparatu. Wszelkie pozytywne efekty, ich rodzaj oraz rozmiary widoczne w uprawie powinny być opisane, a nawet brak jakichkolwiek efektów powinien być odnotowany.

Fitotoksyczność powinna być szacowana następująco:

- (1) Jeśli objawy fitotoksyczności są policzalne lub mierzalne, powinny być wyrażone w liczbach bezwzględnych.
- (2) W pozostałych przypadkach częstotliwość i natężenie uszkodzeń powinny być oszacowane. Można to zrobić dwojako: każde poletko jest oceniane na obecność środków fitotoksycznych w odpowiedniej skali, bądź też każde traktowane poletko jest porównywane z poletkiem kontrolnym, a fitotoksyczność jest wyrażana procentowo.

We wszystkich przypadkach objawy uszkodzenia roślin powinny być dokładnie opisane (skarłowacenia, chloroza, deformacje, itp.). W celu uzyskania dalszych szczegółów zob. Normę EPPO PP 1/135 Badanie

fitotoksyczności, która zawiera rozdziały poświęcone poszczególnym uprawom.

3.4. Wpływ na organizmy niebędące przedmiotem zwalczania

3.4.1. Wpływ na inne agrofagi

Jakiegokolwiek zaobserwowane efekty, korzystne bądź niekorzystne, mogące mieć wpływ na występowanie innych agrofagów powinny być odnotowane.

3.4.2. Wpływ na inne organizmy niebędące przedmiotem zwalczania

Każde zaobserwowane działanie, korzystne bądź niekorzystne na naturalnie występujące lub wprowadzane owady zapylające lub naturalnych wrogów powinno być zarejestrowane. Jakiegokolwiek zaobserwowane efekty, pozytywne bądź negatywne, występujące na plantacjach przylegających i następczych powinny być odnotowane. Dotyczy to również wszelkich zjawisk w zakresie ochrony środowiska, w szczególności wpływu na dziko żyjącą faunę i florę.

3.5 Ilościowe i jakościowe rejestrowanie plonów

Ilość zebranych zbiorów (oraz ich jakość, jeżeli zachodzi taka konieczność) powinny być odnotowane, dzięki czemu będzie można uzyskać dodatkowe informacje na temat fitotoksyczności oraz kontrolowania rozprzestrzeniania się choroby.

4. Wyniki

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

Warunki sprzyjające rozwojowi choroby na poszczególnych roślinach uprawnych

Botrytis spp. na sałacie

W przypadku badań przeprowadzanych w polu należy zastosować odmianę uprawną podatną na porażenie. Chłodna wilgotna pogoda sprzyja rozwojowi infekcji, jak również umiarkowana wilgotność gleby. Wysoka wilgotność gleby sprzyja rozwojowi *Thanatephorus cucumeris*. Naturalne inokulum jest zazwyczaj wystarczające, ale, jeżeli zachodzi taka konieczność, zawiesiny zarodnikowe mogą być rozprowadzone w formie opryskiwania na uprawach (przed rozpoczęciem formowania się koszyczka). Zarodniki mogą być uzyskane z porażonych roślin lub innych upraw. W warunkach uprawy chronionej, różnice w podatności są niewielkie. Uprawy jesienno-zimowe są najlepsze, ze zbiorami mającymi miejsce pod koniec drugiej połowy marca. Gęste posadzenie roślin sprzyja rozwojowi choroby, tak jak hiperoptymalne warunki uprawy.

Botrytis spp. na bobie

Należy zastosować odmianę uprawną podatną na porażenie. W przypadku gęsto ustawionych przykrytych stanowisk uprawnych na wilgotnej glebie istnieje największe prawdopodobieństwo porażenia. Regularne opady, wilgotna pogoda, wysoka wilgotność sprzyjają porażeniu. Materiał inokulacyjny może być hodowany w szklarni w temperaturze 20 °C i przy wysokiej wilgotności względnej. Zarodniki z tego źródła będą porażać w większym stopniu, jeżeli zostaną zamoczone w roztworze 0.05% glukozy lub 0.5% słoðu

biologicznego a nie w wodzie. Poprzez zastosowanie sztucznej inokulacji, istnieje możliwość badania preparatów oddzielnie pod kątem działania na *B. fuckeliana* oraz *B. fabae*.

Botrytis spp. na fasoli białej hodowanej w polu

Należy zastosować krzakowate i mocno kwitnące odmiany uprawne. Wysiew powinien mieć miejsce jak najpóźniej. Rozwojowi choroby sprzyjają ciepłe i wilgotne warunki umożliwiające rozprzestrzenianie się grzybów i ich rozwój na opadłych płatkach, itd., które stanowią podłoże infekcji.

Botrytis spp. na ogórku w warunkach uprawy chronionej

Należy użyć szybko rosnące odmiany uprawne wymagające częstego przycinania. Wysoka wilgotność podczas kwitnięcia lub przycinania sprzyja infekcji. Można zastosować sztuczną inokulację przy zastosowaniu zawiesiny zarodnikowej przygotowanej w oparciu o porażone rośliny lub hodowle.

Sztuczna inokulacja przy zastosowaniu Botrytis spp. na każdym rodzaju roślin uprawnych

W zasadzie w celu zapewnienia rozprzestrzeniania się grzybów na poletko doświadczalne poddane badaniom przy pomocy naturalnych środków, należy sztucznie porazić rzędy strzegące, albo poprzez bezpośrednią inokulację lub poprzez posadzenie inokulowanych roślin. Badania nad *Sclerotinia spp.* Trials powinny być przeprowadzone na polach charakteryzujących się w przeszłości porażeniem *Sclerotinia spp.* Utrzymywanie wilgotnej gleby sprzyja porażeniu.