

Ocena skuteczności fungicydów

Choroby przechowalnicze ziemniaka powodowane przez grzyby

Zakres

Niniejsza norma opisuje sposób przeprowadzania badań nad skutecznością fungicydów w ochronie przed zgniliznami przechowalniczymi powodowanymi przez grzyby

Zatwierdzenie normy i poprawek

Po raz pierwszy zatwierdzona w 1983-09.
Uzgodniona ze standardami wprowadzonymi w 1996 roku.

1. Warunki doświadczenia

1.1 Badane organizmy, wybór roślin i odmiany hodowlanej

Badane organizmy: wszelkie grzyby powodujące gnicie ziemniaków, w szczególności

Gibberella cyanogena (forma anamorficzna *Fusarium sulphureum*) (GIBBCN),

Gibberella pulcaris (anamorfa *Fusarium sambucinum*) (GIBBPU),

Nectria haematococca (anamorfa *F. solani* var. *coeruleum*) (FUSASC),

Phoma exigua var. *foveata* (PHOMEF).

Badania tego samego typu mogą być wykorzystane do oceny działania na *Helminthosporium solani* (HELMISO) oraz *Polyscytalum pustulans* (PLSCPU).

Badanie powinno być przeprowadzone na organizmach, które mogą być zwalczane przez oceniany fungicyd.

Bulwy odmian ziemniaka *Solanum tuberosum* (SOLTU) podatne na poszczególne zgnilizny przechowalnicze oraz w miarę możliwości odporne na porażenie przez *Phytophthora infestans* (PHYTIN).

Bulwy ziemniaka wykorzystywane w poszczególnych badaniach powinny pochodzić z tej samej odmiany uprawnej i z tego samego pola. Powinny być w takim samym stanie i w miarę możliwości, powinny być uprawiane w glebie pozbawionej kamieni. Zalecane jest, aby zbiory były dokonywane mechanicznie, a sposób kopania był jednolity. Bulwy nie powinny być obmywane po zbiorze, ale powinny być oczyszczone z ziemi. Należy odnotować obecność jakiegokolwiek większej ilości. W zasadzie pobrane próbki być wolne od widocznych objawów zgnilizn. (patrz 3.2.1).

Jeśli to możliwe należy wykorzystać naturalnie porażone bulwy, ale bulwy mogą być sztucznie inokulowane (zobacz Załącznik I opisujący metody inokulacji stosunku do *Fusarium solani* var. *coeruleum* oraz *F. sulphureum*). Jeżeli preparaty wykażą się skutecznym działaniem podczas badań z wykorzystaniem sztucznie zakażanych bulw, zaleca się,

sprawdzenie ich działania w doświadczeniach przeprowadzonych na naturalnie porażonych bulwach.

1.2 Warunki przechowywania

Badania powinny być przeprowadzone w warunkach praktycznego przechowywania ziemniaków. Bulwy, które zostały poddane zabiegom, jak i te które nie zostały poddane zabiegom, muszą być przechowywane w tych samych warunkach. Jeśli ziemniaki są przechowywane luzem, można oddzielić każdą kombinację w każdym powtórzeniu przez umieszczenie bulw w nylonowej/ plastikowej siatce i umieszczenia wszystkich kombinacji doświadczenia w tej samej komorze przechowalniczej, jeżeli zastosowany środek chemiczny nie jest lotny.

Doświadczenie powinno stanowić fragment serii badań przeprowadzonych w różnych regionach charakteryzujących się odmiennymi warunkami środowiska oraz w miarę możliwości przeprowadzonych w różnych latach lub okresach wegetacyjnych (zobacz Norma EPPO PP 1/181, Przeprowadzanie badań i sporządzanie sprawozdań dotyczących oceny skuteczności [*Conduct and reporting of efficacy evaluation trials*]).

1.3 Projekt i układ doświadczenia

Kombinacje doświadczenia: kombinacje traktowane badanym(mi) środkiem(kami), preparatem(ami) porównawczym(mi), oraz kombinacje nie poddane zabiegom, powinny być rozlokowane według odpowiedniego układu statystycznego.

Powierzchnia poletka doświadczalnego właściwym "poletkiem doświadczalnym" jest przynajmniej 50 kg ziemniaków. Jednakże próbka stanowiąca jedno "poletko" może być zredukowana do 100 bulw, jeżeli zostały one sztucznie uszkodzone przy wykorzystaniu odpowiedniej metody bezpośrednio przed zabiegiem (Dodatek II).

Liczba powtórzeń: przynajmniej 4.

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

2. Stosowanie zabiegów

2.1 Badany środek(ki)

Badany(e) środek(ki) powinien być konkretnym handlowym fungicydem o określonej formulacji (zobacz Norma EPPO PP 1/181, Przeprowadzanie badań i sporządzanie sprawozdań dotyczących skuteczności [*Conduct and reporting of efficacy evaluation trials*]).

2.2 Preparat(y) porównawczy(e)

Preparat porównawczy powinien być preparatem znanym ze swego praktycznie skutecznego działania w określonych warunkach uprawy i zdrowotności roślin oraz w warunkach środowiska (w tym klimatycznych) na obszarze prowadzenia badań. W zasadzie, mechanizm działania, terminy oraz metody stosowania powinny być w największym stopniu zbliżone do tych dla badanego środka.

2.3 Sposób stosowania

Sposób stosowania powinien być zgodny z odpowiednimi normami stosowanymi w praktyce.

2.3.1 Sposób wykonania zabiegu

Sposób wykonania zabiegu (np. opryskiwanie, kapiel, zaprawianie na sucho, zraszanie lub zamgławianie) powinien być zgodny z zaleceniami dla stosowanych preparatów. Zaleca się, aby zabiegi zostały przeprowadzone bezpośrednio po zebraniu bulw, a bulwy powinny być umieszczone w przechowalni tego samego dnia. Jeżeli przeprowadzenie zabiegu natychmiast po zbiorze jest niemożliwe, opóźnienie powinno być możliwe najmniejsze i w takim przypadku zaleca się mechaniczne sortowanie bulw bezpośrednio przed przeprowadzeniem zabiegu, gdyż uszkodzenia spowodowane podczas sortowania mogą sprzyjać infekcji. Ziemniaki różnych klas wielkości powinny mieć równy udział w poszczególnych kombinacjach (zobacz 1.3). Jeżeli zalecenia nie przewidują inaczej, ziemniaki powinny być presortowane, inokulowane (jeżeli zachodzi taka konieczność), potraktowane fungicydem oraz złożone do przechowalni w tym samym dniu.

W przypadku opryskiwania lub kapieli, bulwy powinny być wysuszone przed złożeniem do przechowalni.

2.3.2 Rodzaj sprzętu

Preparat powinien być naniesiony przy wykorzystaniu sprzętu, który zapewni równomierne rozprowadzenie preparatu na całej powierzchni poletka doświadczalnego lub precyzyjne naniesienie go tam, gdzie jest to wskazane, tak jak na to pozwalają warunki dobrej praktyki. Czynniki, które mogą mieć wpływ na

skuteczność i/lub trwałość działania fungicydu (takie jak ciśnienie robocze), powinny być zgodne z zaleceniami. Zaleca się sprawdzenie ilości fungicydu naniesionego na bulwy poprzez przeprowadzanie analizy.

2.3.3 Terminy i częstotliwość stosowania

Liczba oraz terminy zabiegów powinny być zgodne z zaleceniami.

Zazwyczaj jednokrotny zabieg bezpośrednio przed złożeniem do przechowalni.

2.3.4 Dawki i objętości

Preparat powinien być stosowany w dawkach określonych w zaleceniach. Można przetestować działanie dawek wyższych lub niższych niż dawki zalecane, w celu określenia marginesu skuteczności oraz bezpieczeństwa roślin uprawnych.

Zastosowana dawka powinna być wyrażona w kg lub L) gotowego produktu na .tonę ziemniaków. Potrzebne może również okazać się uwzględnienie dawek w g substancji aktywnej na tonę bulw. W przypadku opryskiwań należy podać wartość użytego stężenia (%) oraz objętość (L/t) zastosowaną. Jeśli stosuje się zamgławianie, zadymianie lub inne formy gazowe, należy podać kubaturę komory do gazowania, wagę jednorazowo gazowanych bulw i dawkę preparatu na m³.

Wszelkie odstępstwa od zalecanego dawkowania powinny być odnotowane..

2.3.5 Dane dotyczące innych środków ochrony roślin

Bulwy nie powinny być traktowane jakimkolwiek innym środkiem chemicznym z wyjątkiem regulatorów wzrostu nie mających żadnego działania grzybobójczego, który powinien być zastosowany jednakowo we wszystkich kombinacjach doświadczenia, oddzielnie od fungicydu badanego i preparatu porównawczego. Wszelkie możliwe współoddziaływanie tych środków powinno być zminimalizowane..

3. Sposób oceniania, rejestrowania wyników i dokonywania pomiarów

3.1 Dane meteorologiczne i edaficzne

3.1.1 Dane meteorologiczne

Przez cały okres trwania doświadczenia temperatura (°C) i wilgotność względna (%) w masie przechowywanych ziemniaków powinny być rejestrowane.

3.1.2 Dane edaficzne

Bez znaczenia

3.2 Sposób, terminy oraz częstotliwość dokonywania oceny

3.2.1 Sposób

Ocena wstępna: ocena ogólnego poziomu nasilenia chorób, włącznie z mokrą zgnilizną (tj. gniciem spowodowanym przez *Erwinia* spp. (ERWISP)) oraz zarazą ziemniaka *Phytophthora infestans*, powinna być dokonana na losowo wybranej grupie 100 bulw z całej próby. Udział zgniłych bulw jest określany procentowo (%) w odniesieniu do wagi lub liczebności.

Główna ocena: procentowy (%) udział wagi lub liczby bulw z objawami suchej zgnilizny (tj. *Fusarium* and *Phoma*) w reprezentatywnej grupie przynajmniej 100 bulw z każdego powtórzenia powinien zostać oznaczony, a także procentowej (%) ilości bulw z mokrą zgnilizną oraz bulw porażonych przez zarazę ziemniaka. Może pojawić się konieczność zwiększenia próby, jeżeli poziom gnicia jest zbyt niski. Patogen(y) powinien być zidentyfikowany w 20 losowo wybranych bulwach z objawami suchej zgnilizny z każdej kombinacji.

Jeżeli ma być przeprowadzona ocena porażenia przez *H. solani* oraz *P. pustulans*, należy procentowo (%) ocenić zasiedloną powierzchnię na przynajmniej 50 bulwach.

3.2.2 Terminy i częstotliwość

Ocena wstępna: bezpośrednio przed zastosowaniem środka.

Główna ocena: przynajmniej 10 tygodni po zastosowaniu lub pod koniec okresu przechowywania.

3.3 Bezpośredni wpływ na roślinę hodowlaną

Ziemniaki powinny być przebadane na obecność objawów fitotoksyczności (lub widocznych pozostałości preparatu). Ponadto, wszelkie korzystne działanie powinno być odnotowane. Rodzaj oraz nasilenie takiego działania na bulwy powinny być odnotowane, a jeśli nie ma żadnego wpływu, fakt ten również powinien zostać odnotowany. Fitotoksyczność powinna być określona w następujący sposób:

- (1) jeżeli efekty działania fitotoksycznego są policzalne lub mierzalne, powinny być wyrażone w liczbach bezwzględnych;
- (2) w innych przypadkach, częstotliwość i nasilenie uszkodzeń powinny być oszacowane. Można tego dokonać na dwa sposoby: fitotoksyczność dla każdej próbki bulw powinna być wyrażona w odpowiedniej skali, lub każda próbka bulw jest porównana z próbą kontrolną a fitotoksyczność jest oszacowana w %.

We wszystkich przypadkach, objawy uszkodzeń w uprawach powinny być dokładnie opisane (karłowacenie, chloroza, deformacja, itd.). Więcej informacji na temat projektu badania znajduje się w Normie EPPO Standard PP 1/135, Ocena toksyczności względem roślin zawierająca rozdziały odnoszące się do poszczególnych upraw [*Phytotoxicity assessment which contains sections on individual crops*]).

Jeżeli fungicyd ma być zalecany dla sadzeniaków ziemniaka, należy przebadać próbki traktowane każdym z preparatów, aby sprawdzić, czy nie wpływa on na wzrost i rozwój

3.4 Wpływ na organizmy nie będące przedmiotem zwalczania

3.4.1 Wpływ na pozostałe agrofagi

Wszelkie zaobserwowane działanie, korzystne lub niekorzystne, na występowanie innych agrofagów powinny być również zarejestrowane.

3.4.2 Wpływ na inne organizmy nie będące przedmiotem zwalczania

Wszelkie zaobserwowane działanie, korzystne lub niekorzystne, na naturalnie występujące lub wprowadzone owady rozpylające lub naturalnych wrogów powinno być również zarejestrowane. Wszelkie zaobserwowane działanie, korzystne lub niekorzystne, na przylegające lub następne uprawy, powinno być również zarejestrowane. Wszelki wpływ na środowisko powinien również być zarejestrowany, w szczególności wpływ na dziką przyrodę

3.5 Ilościowe i jakościowe dokumentowanie zbiorów

Należy odnotować jakikolwiek wpływ na smak i zapach bulw ziemniaka.

4. Wyniki

Wyniki powinny być przedstawione w usystematyzowanej formie, a raport powinien zawierać analizę i ocenę. Oryginalne (surowe) wyniki powinny być dostępne. Analiza statystyczna powinna zazwyczaj być przeprowadzona przy wykorzystaniu odpowiednich metod, które powinny być określone. Jeżeli analiza statystyczna nie została przeprowadzona, powinno to być uzasadnione. Patrz Norma EPPO PP 1/152 Planowanie i analiza badań oceniających skuteczność [*Design and analysis of efficacy evaluation trials*].

Załącznik I

Inokulacja bulw ziemniaka *Fusarium solani* var. *coeruleum* i *F. sulphureum*

1. Przygotowanie zawiesiny zarodników

Odpowiedni gatunek *Fusarium* jest hodowany w płytce Petriego (9 cm) na podłożu takim jak Czapek-Dox agar lub na agarze z ekstraktem z ziemniaka do momentu aż zarodnikowanie jest obfite.

Hodowla jest przenoszona do czystej wody wodociągowej i wytrząsana z przerwami przez 30 min. Fragmenty podłoża są usuwane przy przeciedaniu.

Zawiesina zarodników jest doprowadzana do przynajmniej 50.000 zarodników/ml. Dwie do trzech hodowli na płytce Petriego powinny dać 1 L zawiesiny zarodników o wyżej określonej gęstości.

2. Inokulacja bulw

Po mechanicznym przesortowaniu (co spowoduje uszkodzenia), bulwy są delikatnie i równomiernie spryskiwane zawiesiną zarodników przy użyciu odpowiedniego sprzętu. Wystarczy zastosować niewielkie ilości zawiesiny zarodników . , Powierzchnia bulw powinna wyschnąć przed przeprowadzeniem zabiegu chemicznego. Należy osuszyć bulwy bezpośrednio po przeprowadzeniu zabiegu chemicznego. Cały sprzęt, pojemniki, itd., wykorzystywane do przygotowania zawiesiny zarodników oraz przeprowadzania inokulacji muszą być dokładnie umyte.

Podobna metoda może być zastosowana w stosunku do *Phoma exigua* odmiana *foveata*, która jest hodowana na agarze z płatkami owsianymi i dojrzewa pod światłem w zakresie bliskiego ultrafioletu do momentu aż okaże się, że piknidia wytworzyły się obficie . W takim przypadku, zaleca się inokulację bulw matecznych lub roślin na polu, tak aby uzyskać zakażone bulwy w okresie zbiorów.

Załącznik II

Metoda sztucznego kaleczenia

Należy wybrać naturalnie porażone bulwy odmian podatnych . Wszystkie należy uszkodzić w ten sam sposób albo przez pocieranie materiałem ściernym albo przez lub nadgniecenie bezpośrednio przed zabiegiem. Po zabiegu, należy trzymać bulwy przez około 7 dni w zimnym pomieszczeniu o temperaturze 4°C (osłabia to gojenie skaleczenia, a zatem sprzyja infekcji). W przypadku *Phoma exigua* odmiany *foveata*, należy utrzymać temperaturę 4°C przez przynajmniej 45 dni lub do momentu pojawienia się objawów na bulwach kontrolnych Dla *Fusarium* spp., należy utrzymać temperaturę odpowiednią dla tych gatunków (zazwyczaj 10-15°C) przez przynajmniej 30 dni. Należy przechowywać bulwy w torbach (najlepiej papierowych).