

Ocena skuteczności fungicydów

Grzyby wywołujące choroby zbóż przenoszone z nasionami

Zakres

Niniejsza norma opisuje sposób przeprowadzania badań nad oceną skuteczności fungicydów w zwalczaniu grzybów przenoszonych z nasionami patogenicznych dla zbóż.

Zatwierdzenie normy i poprawki

Po raz pierwszy zatwierdzona w 1979-09.
Zgodne ze standardami ustalonymi w 1996.
Pierwsza poprawka zatwierdzona w 1999-09.
Druga poprawka zatwierdzona w 2003-09.

1. Warunki doświadczenia

1.1 Organizmy badane, wybór rośliny uprawnej i jej odmiany

Phaeosphaeria nodorum (anamorfa *Stagonospora nodorum*=*Septoria nodorum*) (LEPTNO) na pszenicy (TRZAX); *Monographella nivalis* (anamorfa *Microdochium nivale*=*Fusarium nivale*) (MONGNI) i inne *Fusarium* spp., na pszenicy, życie (SECCE), i pszenżycie (TTLSS) (występuje również na owsie i jęczmieniu); *Pyrenophora avenae* (anamorfa *Drechslera avenae*) (PYRNAV) na owsa (AVESA); *Pyrenophora graminea* (anamorfa *Drechslera graminea*) (PYRNGR) na jęczmieniu (HORVX); *Tilletia controversa* (TILLCO) na pszenicy ozimej; *Tilletia foetida* (TILLFO) na pszenicy; *Tilletia tritici* (TILLCA) na pszenicy; *Ustilago segetum* var. *avenae* (USTIAV and USTIAN) na owsa i jęczmieniu; *Ustilago segetum* var. *nuda* (USTINH) na jęczmieniu; *Ustilago segetum* var. *tritici* (USTINT) na pszenicy.

A także stosownie dla regionu w którym zamierza się zalecać stosowanie preparatu: *Cochliobolus sativus* (anamorfa *Drechslera sorokiniana*) (COCHSA) na jęczmieniu, pszenicy i życie; *Fusarium culmorum* (FUSACU) na pszenicy; *Pyrenophora teres* (anamorfa *Drechslera teres*) (PYRNTE) na jęczmieniu; *Urocystis occulta* (UROCOC) na życie, i pszenżycie; *Ustilago segetum* var. *hordei* (USTIHO) na jęczmieniu.

Na ogół wystarcza jedna odmiana, typowa dla danego regionu. Konieczne może być jednak przeprowadzenie badania na odmianie ozimej i na odmianie jarej, jeśli na obszarze na którym zamierza się zalecać stosowanie preparatu uprawia się obie formy. W przypadku *Tilletia tritici* zaleca się odmianę o grubych kłosach.

Zaleca się wykorzystanie sztucznie inokulowanych nasion dla gatunków *U. s. avenae*, *T. tritici* oraz *U. occulta* (Załącznik I). Dla innych patogenów należy wykorzystać naturalnie porażone nasiona. Konieczne jest poznanie siły kiełkowania nasion oraz poziomu porażenia za pomocą odpowiedniej metody, np. ISTA (2003). Badanie należy przeprowadzić na organizmie badanym (organizmach badanych) i roślinie uprawnej

(roślinach uprawnych) dla których zamierza się zalecać oceniany preparat.

1.2 Warunki doświadczenia

Doświadczenie może być prowadzone w warunkach polowych lub w warunkach kontrolowanych. Doświadczenie powinno stanowić część serii badań prowadzonych w różnych regionach, charakteryzujących się różnymi warunkami środowiskowymi oraz w miarę możliwości w różnych latach lub sezonach wegetacyjnych (patrz Norma EPPO PP 1/181 „Prowadzenie i opis badań oceniających skuteczność ” [Conduct and reporting of efficacy evaluation trials]).

1.2.1 Doświadczenia polowe

Nie zaleca się prowadzenia badania na polach sąsiadujących z uprawami zbóż przeznaczonymi na nasiona, lub na polach przeznaczonych do takich celów w kolejnym sezonie, aby uniknąć zanieczyszczenia tych pól patogenami. Warunki uprawowe (np. typ gleby, nawożenie, uprawki) powinny być jednakowe dla wszystkich poletek objętych doświadczeniem i dostosowane do miejscowych tradycji uprawy roślin. badań Najlepiej tak wybierać miejsca prowadzenia doświadczeń, by obejmowały różne typy gleb reprezentatywne dla obszaru na którym zamierza się stosować preparat.

1.2.2 Doświadczenie w szklarni/kamerze wzrostowej

Dla niektórych grzybów lepiej będzie przeprowadzić doświadczenie w szklarni lub w kamerze wzrostowej, aby wykluczyć możliwość infekcji z gleby, które mogą się zdarzyć na niektórych polach. Zaleca się używać ziemi z pola, piaszczystej, o niskiej zawartości próchnicy (lub lekkiego kompostu do doniczek), o której wiadomo, że jest wolna od patogenów., Podłoże (z wyjątkiem doświadczeń nad *Fusarium culmorum*, *Phaeosphaeria nodorum* oraz *Pyrenophora avenae*) powinno być wilgotne przez cały czas trwania eksperymentu. Poziom porażenia partii nasion należy ocenić przed rozpoczęciem doświadczenia za pomocą odpowiedniej metody (np. metody ISTA). Doświadczenia należy przeprowadzać w następujących

warunkach temperatury i wilgotności względnej *Cochliobolus sativus* - 20 °C, >95 % wilgotność; *Fusarium culmorum* - 20 °C, . wilgotność nieistotna; *Phaeosphaeria nodorum* - 8-10 °C, w wilgotność nieistotna; *Monographella nivalis* - 5-10 °C, >95 % . wilgotność; *Pyrenophora teres* oraz *P. avenae* - 7-8 °C, wilgotność nieistotna.

1.3 Projekt i układ doświadczenia

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

Wielkość poletka (bez pasów ochronnych) (w doświadczeniach polowych): co najmniej 3 m². Można wykorzystać mniejsze poletka (do 1 m²), jeśli są precyzyjnie obsiane w rzędach z określoną liczbą nasion (np. 400 nasion w pojedynczych rzędach o długości 9 m)

Wielkość poletka (doświadczenie w szklarni/komorze wzrostowej): 100 nasion na pojemnik (około 400 cm²).

Liczba powtórzeń: co najmniej 4.

Więcej informacji na temat projektu doświadczenia 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 preparat (preparaty)

Oceniany preparat (preparaty) powinien być konkretnym fungicydem (zaprawą nasienną) o określonej formulacji (patrz Norma EPPO PP 1/181 „Prowadzenie i opis badań oceniających skuteczność” [Conduct and reporting of efficacy evaluation trials]).

2.2 Preparat porównawczy

Preparat porównawczy powinien być preparatem znanym z zadowalającego działania w warunkach uprawy i zdrowotności roślin oraz w warunkach środowiskowych (w tym klimatycznych) na obszarze przewidzianym do prowadzenia badań. W zasadzie mechanizm działania, terminy oraz metody stosowania tego preparatu powinny być możliwie zbliżone do tych dla preparatu badanego.

2.3 Sposób stosowania

Stosowanie preparatu powinno być zgodne z podstawowymi zasadami dobrej praktyki rolniczej.

2.3.1 Sposób wykonania zabiegu

Zaprawianie nasion.

2.3.2 Rodzaj sprzętu

Nasiona powinny być zaprawiane w urządzeniu zapewniającym równomierne rozprowadzanie preparatu zgodnie z zasadami dobrej praktyki produkcyjnej. W większości przypadków ilość nasion będzie zbyt mała, by możliwe było wykorzystanie seryjnie produkowanych zaprawiarek, i wtedy dozwolone jest użycie innej odpowiedniej techniki zaprawiania. Zaleca się zachowanie próbki zaprawionych nasion, by sprawdzić dawkę substancji aktywnej zachowanej na nasionach.

2.3.3 Terminy i częstotliwość stosowania

Liczba poszczególnych zabiegów oraz data każdego z nich powinny być zgodne z zaleceniami dla badanego preparatu. Zwykle jest to pojedynczy zabieg bezpośrednio przed siewem.

2.3.4 Dawki i objętości

Preparat należy stosować w dawkach zgodnych z zaleceniami. Dawki większe lub mniejsze od dawki określonej w zaleceniach mogą być badane w celu określenia marginesu skuteczności działania i bezpieczeństwa roślin uprawnych. Stosowana dawka zwykle wyrażona jest w kg (lub litrach) preparatu na tonę nasion. Pożądane może okazać się również zapisanie dawki w g substancji aktywnej na ha. Należy odnotować wszelkie odstępstwa od zalecanego dawkowania.

2.3.5 Termin wysiewu i używany do tego sprzęt

Zasadniczo rozpoczęcie doświadczenia, tzn. siew, powinien mieć miejsce w normalnym czasie dla danej rośliny uprawnej dla danego obszaru, jednakże korzystniejsza może okazać się zmiana terminu siewu, żeby zwiększyć nasilenie choroby. Nasiona można wysiać bezpośrednio po zaprawieniu, ale zdecydowanie korzystniejszy jest siew po okresie przechowania (jeśli zalecenia nie przewidują inaczej, co najmniej po 3 dniach). W takim wypadku nasiona należy przechowywać w warunkach typowych dla przechowywania nasion. Nasiona wysiewa się z wykorzystaniem odpowiedniego siewnika rzędowego, który można łatwo i dokładnie oczyścić przed kolejną próbą i który wysiewa określoną ilość nasion na określoną powierzchnię. Nasiona można siać ręcznie.

2.3.6 Dane dotyczące innych środków ochrony roślin

Jeśli konieczne jest zastosowanie innych środków ochrony roślin (lub czynników zwalczania biologicznego), powinny one zostać użyte jednakowo na wszystkich poletkach, oddzielnie od preparatu badanego i preparatu porównawczego. Do minimum należy ograniczyć możliwe współoddziaływanie z tymi produktami.

3. Sposób oceniania, rejestracji wyników i dokonywania pomiarów

3.1 Dane meteorologiczne i edaficzne

3.1.1 Dane meteorologiczne

Doświadczenie polowe

Dla okresów przed i po wysiewie należy zebrać dane meteorologiczne, które mogą mieć wpływ na rozwój rośliny uprawnej i/lub agrofaga oraz na działanie środka ochrony roślin. Są to przede wszystkim dane dotyczące opadów atmosferycznych i temperatury. Wszystkie dane w miarę możliwości powinny zostać zebrane na miejscu prowadzonego doświadczenia, ale mogą być również uzyskane z pobliskiej stacji meteorologicznej.

W dniu wysiewu należy zebrać dane meteorologiczne, które mogą mieć wpływ na jakość i trwałość zabiegu. Są to co najmniej dane o opadach atmosferycznych (rodzaj i ilość w mm) oraz temperatura (średnia, maksymalna i minimalna w °C). Należy zanotować

wszelkie istotne zmiany pogodowe, a w szczególności czas ich wystąpienia w odniesieniu do czasu wysiewu.

W całym okresie trwania badania należy odnotowywać ekstremalne warunki pogodowe, takie jak ostra lub przedłużająca się susza, intensywne opady deszczu, późne przymrozki, grad, itp., które mogą wpłynąć na wyniki. Konieczne jest podanie wszystkich danych dotyczących nawadniania.

Próba w szklarni/kamerze wzrostowej

W całym okresie trwania doświadczenia należy zapisywać temperaturę, wilgotność, oraz, jeśli są stosowane, program doświetlenia oraz program nawadniania.

3.1.2 Dane edaficzne

Należy zanotować następujące cechy gleby: pH, zawartość materii organicznej, typ gleby (zgodnie z obowiązującą normą krajową lub międzynarodową), wilgotność (np. sucha, mokra, nasiąknięta), jakość podłoża, w które wysiano nasiona oraz program nawożenia.

Jeśli badane rośliny uprawia się w kompoście lub innym sztucznym podłożu, należy dokładnie to podłoże opisać, a także przedstawić szczegóły dotyczące programu stosowanego systemu nawadniania i dostarczania substancji odżywczych oraz doniczek lub innych pojemników, w których prowadzone są badania.

3.2 sposób, terminy i częstotliwość dokonywania oceny

3.2.1 Rodzaj danych

Doświadczenie polowe

Dla gatunków *P. graminea*, *T. controversa*, *T. foetida*, *T. tritici*, *U. s. avenae*, *U. s. hordei*, *U. s. nuda*, *U. s. tritici*, oraz *U. occulta* należy określić całkowitą liczbę zaatakowanych przez chorobę źdźbeł lub roślin na każde poletko. W przypadku *Tilletia* oraz *Ustilago* spp. kłosa zaatakowane przez chorobę należy usunąć po ich policzeniu. W przypadku *Tilletia* spp. korzystne będzie poprzeczne przecięcie kłosów w celu potwierdzenia porażenia (Uwaga: w oryginalnym tekście angielskim użyte jest określenie „cut ears” co oznacza rzeczywiście „przeciąć kłos”. Tymczasem, aby rzeczywiście przekonać się, czy materiał jest porażony przez *Tilletia* sp. należałoby przeciąć lub rozgnieść ziarniaki (seeds kernels). W przypadkach silnego porażenia (np. na grupie kontrolnej) należy policzyć źdźbła zaatakowane przez chorobę i źdźbła zdrowe na pięciu 2-metrowych odcinkach losowo wybranych rzędów, a następnie przeliczyć te wartości „na poletko”. Jeśli wymagane jest podanie procentowego udziału roślin porażonych, wówczas należy pobrać pięć próbek z powierzchni 0,5 m² każda i dokonać oceny kłosów w laboratorium.

W przypadku *P. avenae* oraz *P. teres* należy określić liczbę zaatakowanych przez chorobę roślin na każde poletko. Dla większych poletek wygodniej będzie ustalać udział procentowy roślin porażonych na 10 losowo wybranych grupach 30 siewek na poletko.

W przypadku *C. sativus*, *F. culmorum*, *P. nodorum*, *M. nivalis* na każdym poletku należy wykopać co najmniej 4 losowo wybrane równe odcinki rzędu (co najmniej 25

cm), żeby uzyskać próbę co najmniej 20 porażonych roślin z poletka kontrolnego i określić udział procentowy porażonych roślin. Wcześniej należy oszacować wschody (po zakończeniu wschodów), określając liczbę wzeszłych siewek na 10 losowo wybranych 1-metrowych długościach rzędu na poletko.

Próba w szklarni/kamerze wzrostowej

Dla gatunków *C. sativus*, *F. culmorum*, *P. nodorum*, *M. nivalis*, *P. avenae* oraz *P. teres* należy określić całkowitą liczbę roślin zaatakowanych przez chorobę na każde poletko. W celu zidentyfikowania patogena, który wywołał chorobę, po wykonaniu ostatniej oceny, należy zbadać co najmniej 10% roślin zaatakowanych przez chorobę na każde poletko (minimalna liczba: 10 roślin zaatakowanych przez chorobę na każde poletko) z wykorzystaniem odpowiedniego podłoża agarowego.

3.2.2 Terminy i częstotliwość

Doświadczenie polowe

W polu zasadniczo dokonuje się jednej oceny, ale w niektórych regionach dwie oceny mogą być konieczne.

T. controversa, *T. foetida*, *T. tritici*, *U. s. hordei*: pomiędzy wczesną fazą dojrzałości młecznicy i fazą pełnej dojrzałości (BBCH 73-92).

U. s. avenae, *U. s. nuda*, *U. s. tritici*: podczas kwitnienia (BBCH 60-69).

U. occulta: krótko po początku kłoszenia (BBCH 58 lub 59).

P. graminea: krótko po początku kłoszenia (BBCH 51 lub 59); późno tworzące się źdźbła nie podlegają ocenie.

P. avenae, *P. teres*: pomiędzy fazami 2-4 liścia (BBCH 12–14) i krzewienia (BBCH 21-29).

C. sativus, *F. culmorum*, *P. nodorum*, *M. nivalis*: ocena wschodów po zakończeniu wschodów, ocena stanu porażenia pomiędzy fazami 2-4 liścia (BBCH 12–14) i krzewienia (BBCH 21-29).

Próba w szklarni/kamerze wzrostowej

M. nivalis: pierwszej oceny należy dokonać w fazie pierwszego liścia do fazy koleoptylu (BBCH 10); kolejnych ocen dokonuje się dwa razy w tygodniu aż do końca badania (4 do 6 tygodni);

F. culmorum: jedna ocena w fazie 2-3 liścia (BBCH 12-13);

C. sativus, *P. nodorum*: jedna ocena w fazie 1-3 liścia (BBCH 11-13);

P. teres: jedna ocena w fazie 3 liścia (BBCH 13);

P. avenae: jedna ocena w fazie 2 liścia (BBCH 12).

3.3 Bezpośredni wpływ na roślinę uprawną

Z wyjątkiem doświadczeń nad zwalczaniem *C. sativus*, *F. culmorum*, *P. nodorum* oraz *M. nivalis* wschody powinno się liczyć od około BBCH 11-13 (rozwinięty liść pierwszy do trzeciego), np. licząc liczbę roślin na pięciu 2-metrowych długościach rzędu po przekątnej poletka. Jeśli uszkodzenie jest wyraźnie widoczne, rozwój rośliny należy oszacować w tym samym czasie, odnotowując w szczególności obecność krótkich koleoptylów, brak korzeni lub nierozwijanie się pierwszego liścia. Można przeprowadzić badania na kiełkowanie nasion zaprawionych i niezaprawionych.

Roślina uprawna powinna zostać przebadana na obecność objawów fitotoksyczności. Ponadto należy

zanotować wszelki korzystny wpływ na roślinę. Rodzaj i skalę takiego wpływu również należy opisać, a jeśli nie zaobserwowano żadnego wpływu, również ten fakt powinien zostać odnotowany.

Stopień fitotoksyczności powinien być oceniony w następujący sposób: (1) jeśli efekty działania fitotoksycznego są policzalne lub mierzalne, powinny zostać wyrażone w liczbach bezwzględnych; (2) w pozostałych przypadkach należy oszacować częstotliwość i intensywność wystąpienia uszkodzeń. Można tego dokonać na jeden z dwóch sposobów: każde poletko zostaje ocenione pod względem fitotoksyczności w odpowiedniej skali, lub każde poletko poddane zabiegowi zostanie porównane z poletkiem kontrolnym, a następnie szacuje się procent fitotoksyczności.

We wszystkich przypadkach należy precyzyjnie opisać oznaki uszkodzenia rośliny uprawnej (zahamowanie wzrostu, chloroza, deformacja, itp.). Dalsze informacje na ten temat znajdują się w Normie EPPO PP 1/135 „Ocena fitotoksyczności” [Phytotoxicity assessment], poświęcającej osobne sekcje poszczególnym roślinom uprawnym.

3.4 Wpływ na organizmy nie będące przedmiotem zwalczania

3.4.1 Wpływ na inne agrofagi

Należy opisać wszelki zaobserwowany wpływ, korzystny lub niekorzystny, na występowanie innych agrofagów.

3.4.2 Wpływ na inne organizmy nie będące przedmiotem zwalczania

Należy opisać wszelki zaobserwowany wpływ, korzystny lub niekorzystny, na naturalnie występujące lub wprowadzone owady zapylające i naturalnych wrogów. Należy opisać wszelki zaobserwowany wpływ, korzystny lub niekorzystny, na uprawy sąsiadujące lub następne. Należy opisać wszelki zaobserwowany wpływ na środowisko, zwłaszcza wpływ na dziko żyjącą faunę i florę.

3.5 Ilościowe i jakościowe rejestrowanie plonu

Na ogół nie jest wymagane.

4. Wyniki

Wyniki należy przedstawić w usystematyzowanej formie, przy czym dokumentacja ta powinna zawierać analizę i ocenę. Należy zapewnić dostęp do oryginalnych (nieobrobionych) danych. Powinno się stosować analizę statystyczną z wykorzystaniem odpowiednich metod, które powinny zostać wskazane. W przypadku niezastosowania analizy statystycznej należy podać uzasadnienie. Patrz Norma EPPO PP 1/152 „Planowanie i analiza badań oceniających wydajność” [Design and analysis of efficacy evaluation trials].

Literatura:

ISTA (2003) *Validated Seed Health Testing Methods/Handbook on Seed Health Testing* („Zatwierdzone metody testowania żywotności nasion/Podręcznik na temat testowania żywotności nasion”). ISTA, Bassersdorf CH

Załącznik I

Sztuczna inokulacja

Ustilago segetum var. *avenae*

Ważny jest termin inokulacji. W przypadku nasion owsa poddanych inokulacji i przechowywanych w suchych (poniżej 65% wilgotności względnej) i chłodnych (poniżej 10°C) warunkach, infekcja jest zwykle intensywniejsza niż w ziarnach inokulowanych na krótko przed wysiewem. Z tego powodu nasiona owsa należy poddać inokulacji już jesienią i przechowywać je do kolejnego sezonu. W pełni dojrzałe wiechy owsa z widocznymi objawami porażenia zbiera się i zostawia do wysuszenia w temperaturze 15-20°C; w takim materiale zarodniki pozostają żywe przez rok, jeśli materiał jest przechowywany w suchych warunkach w temperaturze 2-10°C. Młóci się wiechy i oddziela zarodniki od plew, przesiewając je przez drobne sito. W temperaturze 15-20°C przygotowuje się zawiesinę z zarodników (100 mg zarodników/litr) w wodzie wodociągowej lub roztworu z odżywką zawierającego 2 g (NH₄)₂SO₄, 2 g K₂SO₄, 1 g dekstrozy, 1 g MgSO₄, 1 g NaCl oraz 1 g CaCl₂ na litr H₂O; do tej intensywnie mieszanej zawiesiny dodaje się 250 g nasion owsa na litr, a następnie umieszcza się ją w desykatorze, w którym następnie wytwarza się próżnię. Desykatorem w warunkach próżni należy co jakiś czas potrząsać (przez około 20 min.), żeby doprowadzić do kontaktu zarodników i nasion. Następnie nasiona należy rozrzucić i pozwolić im schnąć w temperaturze pokojowej.

Tilletia tritici

Zbiera, suszy i przechowuje się kłosa pszenicy z widocznymi objawami porażenia i uzyskuje z nich zarodniki (jak wyżej). Nasiona inokuluje się potrząsając je przez 5 min. z suchymi zarodnikami (2 kg zarodników na kg nasion pszenicy). Nasiona inokulowane w ten sposób mogą zostać od razu poddane zabiegowi preparatem i zasiane.

Urocystis occulta

Słomę żyta z widocznymi objawami porażenia zbiera się przed normalnym czasem zbiorów, zanim zarodniki nie zostaną rozsiane przez wiatr. Słomę suszy się i przechowuje, a zarodniki zbiera się z nich szczoteczką (pędzelkiem) w momencie, gdy są potrzebne. Nasiona inokuluje się wytrząsając je przez 5 min. z suchymi zarodnikami (najlepiej, jeśli jest to 5 g zarodników na kg nasion żyta, ale 2 g na kg mogą wystarczyć, jeśli warunki są korzystne). Tak inokulowane nasiona nadają się do natychmiastowego zaprawiania.