

Ocena skuteczności insektycydów **Evaluation biologique des insecticides**

Mszyce jako wektory wirusów cebulowych i bulwiastych kwitnących roślin ozdobnych

Zakres

Niniejsza norma opisuje sposób prowadzenia badań nad oceną skuteczności insektycydów w zwalczaniu mszyc cebulowych i bulwiastych roślin ozdobnych.

Zatwierdzenie normy oraz poprawki

Po raz pierwszy zatwierdzona we wrześniu 2008 r.

1. Warunki doświadczenia

Uwagi ogólne

Badania skuteczności preparatów przeciwko mszycom są prowadzone na dwóch etapach. Na etapie pierwszym przeprowadzane są badania w warunkach polowych polegające na zastosowaniu insektycydów i ocenie ich wpływu na mszyce. Na etapie drugim zebrane cebulki i bulwy są badane pod kątem zarażenia wirusem. Opisana poniżej metoda przedstawia sposoby oceny w przypadku nietrwałych wirusów, takich jak na przykład wirus pstrości tulipana (Tulip Breaking Virus – TBV) czy wirus utajony lilii (Lily Symptomless Virus – LSV).

1.1 Organizmy badane, wybór rośliny i jej odmiany uprawnej

Organizmy badane: wirus pstrości tulipana (TBV), wirus utajony lilii (LSV), wirus mozaiki ogórka (CMV), wirus pstrości lilii (LMoV) oraz mszyc, będących ich nosicielami, we wszystkich stadiach rozwoju. Do mszyc będących nosicielami należą *Aphis fabae* (APHIFA), *Aphis gossypii* (APHIGO), *Dysaphis tulipae* (DYSATY), *Macrosiphum euphorbiae* (MACSEU), *Myzus persicae* (MYZUPE), *Aulacorthum solani* (AULASO) oraz inne liczne uskrzydłone odmiany mszyc, nie kolonizujących cebulowych i bulwiastych ozdobnych roślin kwiatowych.

W doświadczeniach szklarniowych można wykorzystać następujące rośliny: cebulki *Tulipa* spp. (TULSS) lub *Lilium* spp. (LILSS). Norma ta może zostać dostosowana do innych cebulek i bulw kwiatowych, takich jak na przykład *Gladiolus* spp. (GLASS).

Doświadczenia należy przeprowadzać na odmianach uprawnych charakteryzujących się od średniej do wysokiej podatności na badany wirus. Całość materiału roślinnego wykorzystanego w doświadczeniu powinna pochodzić z tej samej partii i powinna posiadać certyfikację. Należy ustalić poziom zakażenia wirusem materiału nasadzeniowego (poprzez poddanie badaniu 100 cebulek testem ELISA lub równoważnym). Wykrycie wirusa w cebulkach odmian uprawnych lilii orientalnej *Lilium* spp. nie jest możliwe; zamiast tego dla wykrycia wirusa mogą zostać użyte liście w drugim roku.

Źródła inokulacji wirusem można zapewnić rozmieszczając losowo zakażone wirusem cebulki lub bulwy kwiatowych równomiernie na każdym doświadczalnym poletku. Liczba zakażonych cebulek lub bulw musi stanowić 10% całkowitej liczby cebulek lub bulw użytych w badaniu. Zakażenie wirusem źródłowego materiału nasadzeniowego powinno być określone poprzez poddawanie cebulek lub bulw testowi ELISA lub równoważnemu.

Doświadczenie powinny być przeprowadzone na testowanym(ych) organizmie(ach) i roślinie(ach) przeznaczonej(ych) do planowanego stosowania.

1.2 Warunki doświadczenia

Etap 1 badania powinien być zrealizowany w warunkach polowych, najlepiej w środkowej części obszaru uprawnego. Należy unikać zdrowych miejsc nie narażonych na zakażenie (małe ilości lub brak mszyc).

Warunki uprawy (np. rodzaj gleby, nawożenie, przygotowanie gleby) powinny być jednakowe dla wszystkich poletek doświadczalnych i zgodne z lokalnymi praktykami rolniczymi.

Doświadczenie powinno wchodzić w skład serii badań prowadzonych w różnych regionach o odmiennych warunkach środowiskowych, najlepiej w różnych latach lub okresach wegetacji (zob. Normy EPPO PP 1/181 *Przeprowadzanie i raporty z badań nad oceną*

skuteczności, włącznie z dobrą praktyką eksperymentalną oraz PP 1/226 Liczba badań 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): co najmniej 100 cebulek lub bulw. Należy opisać w dokumentacji obszar, na którym rosną.

Liczba powtórzeń: co najmniej 4.

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

2. Stosowanie zabiegów

2.1 Badany preparat (preparaty)

Oceniany preparat(y) powinien(ny) być konkretnym(i) insektycydem(ami) o określonej formulacji (zob. Normy EPPO PP 1/181 *Przeprowadzanie i raporty z badań nad oceną skuteczności, włącznie z dobrą praktyką eksperymentalną*).

2.2 Preparat porównawczy

Preparat porównawczy powinien być środkiem znanym ze swojej skuteczności w praktycznym stosowaniu w warunkach przewidywanego wykorzystania (odpowiednio zdrowotność roślin, rolnicze, ogrodnicze, leśne, klimatyczne, środowiskowe). W zasadzie mechanizm działania, terminy i metody stosowania preparatu porównawczego i badanego środka powinny być jak najbardziej do siebie zbliżone. Jeśli nie jest to możliwe, preparat referencyjny i preparat badany powinny być stosowane zgodnie z zaleceniami.

W wyborze preparatu porównawczego należy również uwzględnić potencjalną odporność populacji mszyc na insektycyd, którą szczególnie często wykazują *Myzus persicae* oraz, w mniejszym stopniu, *Aphis* spp.

2.3.1 Sposób stosowania

Sposób stosowania winien odpowiadać dobrej standardowej praktyce.

2.3 Sposób wykonania zabiegu

Sposób wykonania zabiegu (np. opryskiwanie lub zaprawianie cebulki lub bulwy) powinien odpowiadać zaleceniom dla danego insektycydu.

2.3.2 Rodzaj sprzętu

Zabiegi powinny być wykonane przy użyciu odpowiedniego sprzętu umożliwiającego równomierne rozprowadzenie preparatu na całym poletku, lub zastosowanie preparatu tam, gdzie zachodzi taka potrzeba. Czynniki mające ewentualny wpływ na skuteczność (jak ciśnienie robocze, rodzaj dysz) należy dobierać zgodnie z zaleceniami.

W przypadku zaprawiania cebulek lub bulw, preparat należy nanosić za pomocą urządzenia umożliwiającego jego równomierne rozmieszczenie, w miarę możliwości zgodnie z dobrą praktyką handlową. Zaprawianie może być przeprowadzone z użyciem adjuwantu lub bez, w zależności od preparatu i przewidywanej dawki.

2.3.3 Terminy i częstotliwość stosowania

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

W przypadku stosowania dolistnego, pierwszy termin zależy zwykle od wyroju mszyc. W przypadku przenoszenia nietrwałego wirusa, decydującym momentem jest generalny wyrój mszyc (niezależnie od gatunku). Może okazać się konieczne wcześniejsze przeprowadzenie pierwszych zabiegów, gdy występuje niski stopień zagrożenia, w zależności od badanej uprawy i aktywności mszyc.

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 zbadane w celu określenia zakresu skuteczności i bezpieczeństwa uprawy (zob. Norma EPPO PP 1/225 *Minimalna dawka skuteczna*).

Pełne informacje na temat dawek i objętości zostały zawarte w Normie EPPO PP 1/239 *Wyrażanie dawek dla stosowania w środkach ochrony roślin*.

Stosowana dawka zwykle wyrażona jest w kg (lub litrach) preparatu na ha, zaś w przypadku oprysków należy również podawać objętość wody na ha. Przydatne może okazać

się również zapisanie dawki w g substancji czynnej na ha. W pewnych okolicznościach dawka może być wyrażona jako stężenia (np. % lub g hL^{-1}), o ile możliwe w połączeniu z objętością (L^{-1}) zgodnie z zaleceniami.

W przypadku zaprawiania cebulek lub bulw, zastosowaną dawkę należy wyrazić w g, kg, Ml , lub L na jednostkę ciężaru (lub liczbę w stosownych przypadkach) materiału, na którym ma zostać dokonany zabieg opryskiwania. W przypadku produktów używanych do moczenia bulw, dawka podawana jest w kg lub L na 100 l wody. Należy podać również czas zanurzania oraz ilość moczonego materiału w danej objętości mieszanki. Należy podać dane odnośnie stężenia (%) i objętości (litr/ha).

Należy odnotować wszelkie odstępstwa 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, niezależnie od badanego preparatu i preparatu referencyjnego. Prawdopodobieństwo ich współoddziaływania musi być ograniczone do minimum. Nie jest dozwolone stosowanie innych preparatów o potwierdzonym działaniu w zwalczaniu mszyc ani preparatów, które mogą ograniczyć zakażenie wirusem.

3. Metoda oceny, zapisu i pomiarów

3.1 Dane meteorologiczne i edaficzne

3.1.1 Dane meteorologiczne

W dniach poprzedzających zabieg i po zabiegu (w przypadku zaprawiania cebulek lub bulw – dzień sadzenia) należy zebrać dane meteorologiczne, które mogą mieć wpływ na rozwój rośliny lub patogenu oraz na działanie środka ochrony rośliny. Obejmują one zazwyczaj dane dotyczące opadów atmosferycznych i temperatury. Można również odnotować poziom wilgotności. Wszystkie dane powinny być zebrane na miejscu doświadczenia, lecz mogą też być dostarczone przez pobliską stację meteorologiczną.

W dniu zastosowania preparatu (w przypadku zaprawiania cebulek lub bulw – dzień sadzenia) należy odnotować dane meteorologiczne, które mogą mieć wpływ na jakość i trwałość zastosowanych preparatów. Jest to zazwyczaj co najmniej wysokość opadów atmosferycznych (rodzaju i ilości w mm) i temperatury (średniej, maksymalnej i minimalnej w $^{\circ}\text{C}$). Należy również odnotować wszelkie znaczące zmiany pogody oraz czas ich wystąpienia względem czasu zastosowania preparatu.

Ponadto, w ciągu całego okresu przeprowadzania doświadczenia należy notować wszelkie ekstremalne warunki pogodowe, które mogą mieć wpływ na wyniki, takie jak dotkliwa lub długotrwała susza, obfite opady, późne przymrozki, grad itp. Należy też odpowiednio odnotować dane dotyczące nawadniania.

3.1.2 Dane edaficzne

Należy przedstawić szczegóły dotyczące podłoża: pH, zawartość substancji organicznych, rodzaj gleby (wg określonej normy krajowej lub międzynarodowej), wilgotność (np. sucha, wilgotna, nasiąknięta), jakość wierzchniej warstwy gleby (przygotowanie) oraz nawożenia.

3.2 Sposób, terminy oraz częstotliwość dokonywania oceny

Każdorazowo w dniu zastosowania preparatu i zbierania danych służących do jego oceny należy odnotować fazę rozwojową rośliny uprawnej w skali BBCH.

3.2.1 Rodzaj danych

W przypadku zaprawiania cebulek lub bulw wnioskodawca powinien ustalić kolejne zabiegi przeciwko przenoszącym wirus mszycom, jakie będą miały być stosowane w przyszłości podczas doświadczeń. Ocenę należy kontynuować w okresie ochrony zalecanym dla danego produktu.

Etap 1: Badanie występowania mszyc w badaniach polowych

Ocena jest przeprowadzana na pasach ochronnych poletek. Należy określić liczbę mszyc na wszystkich liściach co najmniej 10 wcześniej oznaczonych roślin na każdym poletku. Formy bezskrzydłe i uskrzydłone są liczone osobno.

Przed pierwszym zastosowaniem należy zidentyfikować osobniki dorosłe gatunków bezskrzydłych (np. *Aphis*, *Aulacorthum*, *Dysaphis*, *Macrosiphum*, *Myzus*) i policzyć je jedynie na poletkach kontrolnych. Następnie mszyce są identyfikowane i liczone w powiązaniu z każdym zabiegiem i w każdym terminie. Jeżeli gęstość populacji mszyc jest wysoka, należy pobrać na każdym poletku ze wszystkich części rośliny próbkę reprezentatywnej grupy co najmniej 50 dorosłych mszyc w celu ustalenia liczebności poszczególnych rodzajów.

Etap 2: Badanie cebulek lub bulw na zakażenie wirusem za pomocą testu ELISA po ich zebraniu z pola

Należy zachować ostrożność podczas zbioru, aby ograniczyć do minimum możliwość przeniesienia wirusa pomiędzy bulwami.

Zakażenie wirusem zebranych cebulek lub bulw bada się przeprowadzając test ELISA (lub równoważny). Wykrycie wirusa w cebulkach upraw lili orientalnej *Lilium* spp. nie jest możliwe; zamiast tego dla wykrycia wirusa mogą zostać użyte liście w drugim roku (np. za pomocą testu ELISA).

3.2.2 Terminy i częstotliwość

Etap 1: Badanie występowania mszyc w badaniach polowych

Zaprawianie cebulek lub bulw

Ocena jest przeprowadzana co najmniej co 2 tygodnie po wschodzie uprawy i na przestrzeni okresu ochrony zalecanego dla danego preparatu.

Opryski

Pierwsza ocena: bezpośrednio po pierwszym zastosowaniu na wszystkich poletkach.

Kolejne oceny: ocena pod kątem obecności mszyc przeprowadzana jest na krótko przez każdym zastosowaniem insektycydów. Jeśli jednak przerwy między opryskiwaniem są krótkie, występowanie mszyc ocenia się co 12-16 dni aż do zbiorów i dopóki liście rośliny są zielone.

Etap 2: Pobieranie próbek cebulek lub bulw podczas zbioru i badanie zakażenia wirusem

Cebulki lub bulwy są zbierane z całej powierzchni poletka netto. Do momentu przeprowadzenia badania pod kątem obecności wirusa, zebrane cebulki lub bulwy są magazynowane, w zależności od uprawy, przez co najmniej 6 tygodni w normalnych warunkach przechowywania. Cebulki upraw lili orientalnej *Lilium* spp. są sadzone w szklarniach aby doprowadzić do wytworzenia drugorocznych liści w celu dla wykrycia wirusa (np. za pomocą testu ELISA).

3.3 Bezpośredni wpływ na roślinę

Roślina powinna być zbadana na obecność objawów fitotoksyczności. Ponadto należy opisać wszelkie objawy korzystnego działania preparatu. Należy odnotować wszelkie pozytywne oddziaływania na roślinę, ich rodzaj oraz zakres, a także brak takich oddziaływań.

Fitotoksyczność powinna być oceniona w następujący sposób:

(1) Jeśli objawy fitotoksyczności są policzalne lub mierzalne, należy podać wyniki w liczbach bezwzględnych.

(2) W pozostałych przypadkach należy oszacować częstotliwość i natężenie uszkodzeń. Można to zrobić dwójako: każde poletko jest oceniane pod kątem fitotoksyczności w odpowiedniej skali, bądź też każde poletko, na którym użyto preparatu, jest porównywane z poletkiem kontrolnym, a fitotoksyczność jest wyrażana procentowo.

We wszystkich przypadkach należy dokładnie opisać niezamierzony wpływ na roślinę (skarłowacenia, chloroza, deformacje, itp.). W celu uzyskania dodatkowych informacji zob. Norma EPPO PP 1/135 *Badanie fitotoksyczności*, która zawiera rozdziały poświęcone poszczególnym uprawom.

3.4 Wpływ na organizmy

3.4.1 Wpływ na inne agrofagi

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

3.4.2 Wpływ na inne organizmy, nie będące przedmiotem zwalczania

Należy odnotować każde zaobserwowane oddziaływanie, korzystne bądź niekorzystne, na naturalnie występujące lub wprowadzone owady zapylające lub naturalnych wrogów. Należy odnotować wszelkie zaobserwowane oddziaływania, pozytywne bądź negatywne, występujące na plantacjach przylegających i następczych. Dotyczy to również wszelkiego oddziaływania na środowisko naturalne, w szczególności wpływu na faunę i florę.

3.5 Ilościowe i jakościowe rejestrowanie zbiorów

W badaniach selektywności należy dokonać zbioru materiału dla doświadczeń. Należy odnotować jakość kwiatów kolejnego pokolenia. Cebulki lub bulwy są doprowadzane do kwitnienia w warunkach szklarniowych lub hodowane na powietrzu w kolejnym roku. W okresie kwitnienia przeprowadzana jest co najmniej jedna ocena.

4. Wyniki

Wyniki powinny być usystematyzowane, a raport powinien obejmować analizę i ocenę. Powinny być również udostępnione dane źródłowe (robocze). Niezbędna jest też analiza statystyczna przy użyciu odpowiednich metod, które należy podać. Brak takiej analizy

powinien być uzasadniony. Zobacz Norma EPPO PP 1/152 *Planowanie i analiza skuteczności badań szacunkowych*.

