

## **Ocena skuteczności insektycydów** **Evaluation biologique des insecticides**

### **Mszyce jako wektory nietrwałych wirusów na sadzeniakach ziemniaka**

#### **Zakres**

Niniejsza norma opisuje sposób przeprowadzania badań związanych z oceną skuteczności insektycydów w zwalczaniu mszyc stanowiących nosicieli nieodpornych wirusów ziemniaka w uprawach nasiennych, tj. wirus „Y” ziemniaka – potyvirus (PVY). Dla mszyc będących wektorami trwałych wirusów, zob. Norma EPPO PP 1/71(3) *Mszyce - nosiciele luteowirusa liściozwoju ziemniaka w uprawach nasiennych*.

W przypadku, gdy konieczne jest ustalenie bezpośredniego wpływu insektycydów na mszyce należy zapoznać się z Normą EPPO PP 1/230(1) *Mszyce ziemniaka*..

#### **Terminy zatwierdzenia i wprowadzania zmian**

Zatwierdzona po raz pierwszy we wrześniu 2008 r.

---

#### **1. Warunki doświadczenia**

*Uwagi ogólne*

Badania powinny być przeprowadzone w dwóch etapach: na etapie pierwszym prowadzone są badania polowe z użyciem insektycydów i ocena skuteczności ich oddziaływania na mszyce; na drugim etapie, wybrane bulwy są badane pod kątem zakażenia wirusem. Opisywana poniżej metoda przedstawia sposób przeprowadzania oceny dla PVY, ale norma ta może również zostać zastosowana do innych nietrwałych potyvirusów.

### **1.1 Badane organizmy, wybór rośliny i jej odmiany uprawnej**

Badane organizmy: mszyce jako wektory wirusa na wszystkich stadiach rozwoju. W zakres organizmów badanych mogą wchodzić również bezskrzydłe gatunki mszyc, nie występujące na ziemniakach. W celu zapoznania się z kluczem identyfikacji, zob. załącznik 1.

Uprawa: *Solanum tuberosum* (SOLTU) przeznaczona na uprawę sadzeniaków ziemniaka. Doświadczenie może również przeprowadzić na odmianach, których podatność na PVY waha się od średniej do wysokiej. Bulwy dla każdego rodzaju zabiegów w doświadczeniu powinny pochodzić z tej samej partii. Przydatne może być zapoznanie się z okresem kiełkowania bulw w przypadku zaprawiania bulw.

Źródło inokulacji PVY można zapewnić sadząc bulwy o znanym poziomie zakażenia na wszystkich poletkach objętych doświadczeniem. Inną możliwość stanowi sadzenie zakażonego wirusem materiału w granicznych rzędach poza obszarem doświadczalnym, co może poprawić przekazywanie wirusa. W każdym przypadku musi być znany poziom zakażenia materiału nasadzeniowego (badanie 100 bulw za pomocą testu ELISA lub równoważnego)<sup>1</sup>. Zakażenie PVY powinno wynosić na przykład od 4 do 10% (minimalna wartość zakażenia powinna gwarantować odpowiedni poziom infekcji. Nie należy przekraczać maksymalnej wartości, aby zachować możliwość zbadania skuteczności produktu). Zakażenie materiału nasadzeniowego luteowirusem liściozwoju ziemniaka (PLRV) powinno wynosić poniżej 2%. Na ile to możliwe materiał nasadzeniowy powinien być wolny od wszelkich innych wirusów, aby nie wystąpiły trudności z interpretacją wyników doświadczeń.

### **1.2 Warunki doświadczenia**

Doświadczenie powinno być przeprowadzone w warunkach polowych.

Warunki uprawy (np. typ gleby, nawożenie, przygotowanie gleby) powinny być takie same dla wszystkich poletek doświadczalnych i zgodne z lokalną praktyką rolniczą.

Doświadczenie powinno wchodzić w skład serii badań prowadzonych w różnych regionach charakteryzujących się odmiennymi warunkami środowiskowymi oraz, w miarę możliwości, w różnych latach lub okresach wegetacyjnych (zobacz Norma EPPO PP 1/181,

---

<sup>1</sup> Najlepiej, jeśli wykorzystany byłby materiał nasadzeniowy o znanym poziomie narażenia na wszystkie rodzaje PVY.

*Przeprowadzanie badań i sporządzanie sprawozdań dotyczących oceny skuteczności działania, 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 8 rzędów o długości 10 m i co najmniej 3 ochronne rzędy z każdej strony.

Liczba powtórzeń: co najmniej 4.

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

## **2. Stosowanie zabiegów**

### **2.1 Badany(e) preparat(y)**

Badany(e) preparat(y) powinien(nny) być (i) insektycydem(ami) o określonej formulacji dostępnym(i) w handlu pod konkretną a nazwą (zobacz Norma EPPO PP 1/181, *Przeprowadzanie badań i sporządzanie sprawozdań dotyczących skuteczności stosowanego środka, włącznie z dobrą praktyką eksperymentalną*).

### **2.2 Preparat(y) porównawczy(e)**

Preparat referencyjny powinien być środkiem znanym ze swojej skuteczności w praktycznym stosowaniu w warunkach przewidywanego wykorzystania stosowania (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 bulw, stosowanie granulatu doglebowo) powinien odpowiadać zaleceniom dla danego preparatu.

### *2.3.2 Rodzaj sprzętu*

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

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

### *2.3.3 Terminy i częstotliwość stosowania*

Liczba zabiegów oraz data każdego z nich winny 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.

W przypadku stosowania zabiegów na bulwach, należy określić skuteczne stosowanie przeciwko mszycom przenoszącym wirusa w przyszłości podczas przeprowadzania doświadczenia.

### *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*.

Zasadniczo, stosowana dawka zwykle wyrażana jest w kg (lub litrach) preparatu na ha, zaś w przypadku oprysków należy również podawać objętość wody na ha. Przydatne może okazać się również podanie dawki w g substancji czynnej na ha. W pewnych okolicznościach dawka może być wyrażona jako stężenie (np. % lub g hL<sup>-1</sup>), o ile to możliwe w połączeniu z objętością (L<sup>-1</sup>) zgodnie z zaleceniami.

W przypadku zaprawiania bulw, zastosowaną dawkę należy wyrazić w g (lub mL) preparatu, lub w g substancji czynnej na kilogram bulw.

### *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 porównawczego. Prawdopodobieństwo ich współoddziaływania musi być ograniczone do minimum. Nie jest dozwolone stosowanie innych preparatów o potwierdzonym działaniu w zwalczaniu mszyc lub 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 (np. siedem dni przed i siedem dni po) 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.

Wszystkie dane powinny być zebrane na miejscu doświadczenia, lecz mogą też być dostarczone przez pobliską stację meteorologiczną.

W dniu zastosowania preparatu należy odnotować dane meteorologiczne, które mogą mieć wpływ na jakość i trwałość zastosowanych preparatów. Jest to zazwyczaj co najmniej wysokość opadów atmosferycznych (okresu między naniesieniem preparatu a rozpoczęciem opadów, jak również ilości opadów w mm) i temperatury (średniej, maksymalnej i minimalnej w °C), względną wilgotność oraz, jeśli to możliwe, pokrywę chmur i natężenie światła. Należy również odnotować wszelkie znaczące zmiany pogody.

Ponadto, w ciągu całego okresu prowadzenia doświadczenia należy odnotować 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.

W przypadku zabiegów na bulwach, należy podać dane meteorologiczne dla okresu sadzenia (np. temperaturę gleby, wilgotność gleby).

### *3.1.2 Dane edaficzne*

W przypadku preparatów stosowanych doglebowo, należy przedstawić szczegóły dotyczące podłoża: pH, zawartość substancji organicznych, rodzaj gleby (wg określonej normy krajowej lub międzynarodowej), wilgotność (np. gleba sucha, wilgotna, nasiąknięta), jakość wierzchniej warstwy gleby (przygotowanie) oraz warunki 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.

### *Etap 1: Badanie występowania mszyc w badaniach polowych*

Ocena jest przeprowadzana na zewnętrznych rzędach pasów ochronnych poletek. Ma to na celu uniknięcie mechanicznego przeniesienia wirusa. Należy określić liczbę mszyc na co najmniej 1 liściu pierzastym 15 różnych roślin. Oceniane są trzy poziomy ulistnienia (niski, średni, szczyt), które są najbardziej reprezentatywne dla rozprzestrzenienia mszyc na roślinie. Przed pierwszym zastosowaniem należy zidentyfikować dorosłe osobniki gatunków uskrzydłych i bezskrzydłych (np. *Aphis*, *Aulacorthum*, *Dysaphis*, *Macrosiphum*, *Myzus*) i policzyć ich liczbę jedynie na poletkach kontrolnych. Następnie mszyce są identyfikowane i liczone na wszystkich poletkach 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 z poletka w celu ustalenia liczebności poszczególnych rodzajów.

Pierwsza ocena: bezpośrednio przed pierwszym zastosowaniem na wszystkich poletkach.

Kolejne oceny (opcjonalnie): liczba mszyc jest szacowana na krótko przed każdym zastosowaniem insektycydu. Jeśli jednak przerwy między opryskiwaniem są krótkie, liczbę mszyc szacuje się co 12-16 dni, aż do zbiorów i jedynie dotąd, dopóki liście rośliny są zielone.

W przypadku zaprawiania bulw ocena jest dokonywana co najmniej co dwa tygodnie po wschodach uprawy i prowadzona nadal w okresie ochrony zalecanym dla produktu.

### *Etap 2: Pobieranie próbek bulw i badanie zakażenia wirusem*

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

Załącznik 2 opisuje objawy PVY i PLRV.

W celu zbadania zakażenia nowymi wirusami, dokonywana jest ocena w czasie fizjologicznej dojrzałości bulw (nieuszkodzona skóra). Próbki bulw pobiera się z co najmniej 20 punktów na każdym poletku, przy pobraniu bulw z przyległych roślin w rzędach w celu dostarczenia równorzędnej próbki co najmniej 100 bulw z każdego poletka. Podczas pobierania próbek należy unikać obszarów, gdzie może dojść do mechanicznego przekazania wirusa.

następuje przypadku wysuszenia łętów, pobierane próbki bulw nie mogą pochodzić od roślin, które odbiły. W przypadku silnego odbicia osuszanie łętów należy niezwłocznie powtórzyć. Do momentu przeprowadzenia badania pod kątem obecności wirusa, zebrane bulwy z każdego poletka są przechowywane osobno, w temperaturze poniżej 16°C. Należy unikać kolonizacji wschodów przez mszyce.

Zakażenie wirusem zbieranych bulw jest badane za pomocą testu ELISA (lub równoważnego) na jednym pędzie każdej bulwy. Pędy uzyskuje się poprzez stymulację oczek do wschodu za pomocą środków pobudzających wzrost lub po naturalnym kiełkowaniu bulw po dłuższym okresie magazynowania.

### **3.3 Bezpośredni wpływ na roślinę uprawną**

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. Należy zwrócić uwagę na rozróżnienie między skutkami fitotoksyczności a symptomami spowodowanymi przez zakażenie wirusem.

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 środka 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**

Nie jest wymagane.

## **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*.

## **Załącznik I**



Zasadniczo można rozróżnić bezskrzydłe i uskrzydłone dorosłe osobniki mszyc czterech głównych rodzajów spotykanych na ziemniakach za pomocą szkła powiększającego, na podstawie klucza przedstawionego w tabeli 1 oraz ilustracji na rys. 1. Dorosłe osobniki rodzajów mszyc wymienionych w niniejszej normie mogą być odróżnione od poczwerek, ponieważ ich *cauda* jest dłuższa niż szerszy.

**Tabela 1.** Podstawowe cechy mszyc zwykle występujących na ziemniakach

<i>Aphid</i> spp. (głównie <i>Aphis nasturtii</i> i <i>Aphis frangulae</i> )	Mszyce ciemnego lub jasnego koloru; profil przedniej części głowy w kształcie w (sigmoidalne), ponieważ przednie guzki są słabo wykształcone, siphunculi: ciemnego koloru ( <i>Aphis frangulae</i> ) lub jasne, z końcami ciemniejszymi ( <i>Aphis nasturtii</i> ), krótkie.
<i>Aulacorthum</i> spp. (głównie <i>Aulacorthum solani</i> )	Mszyce żółtawe lub zielonkawe, profil przedniej części głowy: wewnętrzne krawędzie dobrze rozwiniętych przednich guzków biegną równolegle; siphunculi: jasnego koloru, średniej długości.
<i>Myzus</i> spp. (głównie <i>Myzus persicae</i> )	Mszyce głównie koloru zielonego (czasami również żółtawe lub czerwone), profil przedniej części głowy: wewnętrzne krawędzie dobrze rozwiniętych przednich guzków skierowane do wewnątrz (zbiegające się); siphunculi: jasnego koloru, średniej długości, często nieco nabrzmięte.
<i>Macrosiphum</i> spp. ( <i>Macrosiphum euphorbiae</i> )	W większości mszyce koloru zielonego, o ciemnozielonych podłużnych paskach na odwłoku; profil przedniej części głowy: wewnętrzne krawędzie dobrze rozwiniętych przednich guzków skierowane na zewnątrz (rozchodzące się); siphunculi: jasnego koloru, długie.

**Rys. 1** Mszyce występujące na ziemniakach. Ilustracja dzięki uprzejmości Syngenta AG. Nie w skali.

*Aphis frangulae* (1-2 mm długości)

*Aulacorthum solani* (2-3 mm długości)

*Myzus persicae* (1,9 – 2,3 mm długości)

*Macrosiphum euphorbiae* (2,4 – 3,4 mm długości)

*Aphis nasturtii* (1,2 – 1,7 mm długości)

Gatunki mszyc na ziemniakach mogą być zidentyfikowane dokładniej na podstawie ilustrowanego klucza Thieme i Heimbacha (1994).

## **Załącznik 2**

### **Objawy**

Zarówno w przypadku objawów PVY, jak i PLRV wystąpienie objawów zależy od tego, czy zakażenie pochodzi od sadzeniaka (zakażenie wtórne) czy od mszyce-nosiciela (zakażenie pierwotne). Objawy będą się również różnić jeśli chodzi o natężenie, w zależności od stopnia odporności odmiany oraz szczepu danego wirusa.

#### *PVY*

Rośliny wyhodowane z zakażonych nasion wykazują silne objawy mozaiki, a ich liście są szorstkie lub pomarszczone, blade i cętkowane. Rośliny zakażone przez mszyce są słabe i karłowate. Objawy mogą pojawiać się nawet dopiero po 4 tygodniach. Na liściach a następnie wzdłuż łodygi pojawiają się brązowe plamy lub smugi.

PVY-N: mozaika może być słaba lub wyraźna.

PVY-O: wyraźna mozaika, cętki, marszczenie, punkty i smugi, tracenie liści, miotlastość.

PVY-NTN: mozaika, cętki, marszczenie, nekroza liści.

#### *PLRV*

Pierwotne zakażenie (przez mszyce) może nie skutkować zmianami patologicznymi podczas sezonu, o ile do zakażenia nie dojdzie bardzo wcześnie. Młode liście szczytowe zwijają się do góry i na zewnątrz na krawędziach i mogą być zabarwione na różowo lub purpurowo. Wtórne (przeniesione przez bulwy) zakażenie powoduje bardziej wyraźne objawy dotykające starsze

liście. Liście zwijają się i grubieją od gromadzącej się skrobi. Rośliny mogą być skarłowaciałe i wytwarzać mniejszą ilość mniejszych bulw.

## **Bibliografia**

*Potato Diseases* (2005). A. Mulder i L.J. Turkensteen, wyd. The Hague, NIVAP. Strona internetowa: <http://www.nivap.nl>

Potato Virus Y (PVY). C. Cuperus i H. van de Haar

Thieme T. i Heimbach U. (1994) [Illustrated key for the identification of aphids on potatoes]. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* **46**, 161-169 (w jęz. niemieckim).

