

Ocena skuteczności działania środków ochrony roślin Evaluation biologique des produits phytosanitaires

Dezynfekcja w produkcji roślin

Zakres

Niniejsza norma opisuje sposób prowadzenia badań nad oceną skuteczności preparatów służących do dezynfekcji powierzchni konstrukcji cieplarni i konstrukcji innych pomieszczeń służących do uprawy roślin, powierzchni, na których umieszczane są donice, tace itd. (np. piasek, wióry, maty), oraz elementów wyposażenia (donice, tace, pudełka, noże, urządzenia rolnicze, itd.) w celu zapobiegania porażeniom roślin przez patogeny (np. grzyby, legniowce, bakterie, wirusy lub organizmy wirusopodobne). Doświadczenia należy prowadzić w laboratorium (część A) i w warunkach rzeczywistych (część B). Rodzaj badania zależy od planowanego miejsca zastosowania.

Zatwierdzenie normy i poprawki

Po raz pierwszy zatwierdzona we wrześniu 2008 r.

Część A Badania laboratoryjne

1. Warunki doświadczenia

1.1 Badany organizm

Doświadczenie można przeprowadzić na każdym organizmie badanym, dla którego istnieją odpowiednie warunki uprawy. W razie możliwości należy zastosować izolaty wirulentne badanych organizmów. Doświadczenia należy prowadzić w temperaturze pokojowej ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$). Preparat należy rozpuścić w wodzie dejonizowanej.

Dla każdego organizmu należy wybrać odpowiednią pożywkę.

1.2 Warunki doświadczenia oraz projekt i układ doświadczenia

Doświadczenia należy prowadzić przy użyciu torfu lub bez użycia tofru (ładunek związków organicznych tworzący warunki symulujące warunki produkcji ogrodniczej) lub przy użyciu bentonitu lub bez użycia bentonitu (który tworzy warunki symulujące warunki produkcji rolnej) na różnych etapach zabiegu.

Należy zbadać dwa z następujących okresów: 1, 5, 15, 30 min, 1 h. Zgodnie z zaleceniami, możliwe są dłuższe okresy reakcji. Należy zastosować preparat w trzech stężeniach: stężenie podane w zaleceniach dotyczących stosowania, rozcieńczenie dwukrotne i czterokrotne. Dla każdego patogenu należy przeprowadzić dwa niezależne doświadczenia.

Liczba powtórzeń: 3.

1.2.1 Ocena aktywności bakterii

Aktywność bakterii oceniana jest w ramach testów zawiesinowych zarówno przy zastosowaniu, jak i bez, odpowiednio, torfu i bentonitu.

1.2.1.1 Przygotowania zawiesiny bakteryjnej

Prekultury szczepów testowych są przygotowywane przy użyciu odpowiedniej pożywki w temperaturze 24°C przez 24 h. Należy ocenić i odnotować stężenie zawiesiny, której jednostka tworząca kolonię (ang. *colony forming unit* - CFU) - powinna wynosić co najmniej 10⁶ CFU/mL.

1.2.1.2. Zalecana procedura badawcza

a) Bez torfu/bentonitu:

- pobrać za pomocą pipety 0,1 mL nierozcieńczonej zawiesiny przetrwalników i przelać do 5 cm szalek Petriego lub innych stosownych naczyń;
- dodać 10 mL preparatu w odpowiednim stężeniu i dobrze wymieszać;
- po odpowiednim czasie roztwór należy wstrząsnąć i przenieść 0,1 mL do 10 mL pożywki (rozpuszczonej lub schłodzonej do 40°C) z substancją inaktywującą (substancja inaktywująca służy do zakończenia działania środka dezynfekującego; wnioskodawca powinien podać jej nazwę). Zaleca się, aby takie same ilości zostały przeniesione do utwardzonej pożywki, a następnie dokładnie rozprowadzone za pomocą sterylnej szpatułki. Należy odnotować czas inaktywacji.
- inkubować w temperaturze 25°C przez 72 h.

1. kontrola: woda wodociągowa (wymagana jest analiza pH, EC i twardości) lub woda o standardowej twardości (*water of standardised hardness* - WSH) – 17° twardość wody równoważna 300 ppm CaCO₃ bez preparatu; testy rozwojowe z zastosowaniem substancji inaktywującej.

2. kontrola: woda wodociągowa lub woda o standardowej twardości bez preparatu; testy rozwojowe bez zastosowania substancji inaktywującej.

b) Z dodatkiem, odpowiednio, torfu lub bentonitu:

- odważyć 0,1 g wysuszonego na powietrzu młodszego torfu (wielkość cząstek torfu < 2mm) lub bentonitu i przenieść do 5 cm szalek Petriego lub do butelek na odczynniki i do autoklawy;

- dodać 10 mL preparatu w odpowiednim stężeniu i dobrze wymieszać;
- po 30 minutach dodać 0,1 mL nierozcieńczonej zawiesiny przetrwalników i dobrze wymieszać;
- po odpowiednim czasie należy roztwór należy wstrząsnąć i przenieść 0,1 mL do 10 mL pożywki (rozpuszczonej lub schłodzonej do 40°C) z substancją inaktywującą;
- inkubować w temperaturze 25°C przez 72 h.

Należy przeprowadzić te same kontrole co w przypadku doświadczeń prowadzonych bez użycia torfu/bentonitu.

1.2.2 Ocena aktywności fungicydów

Aktywność fungicydów jest oceniana za pomocą badania „płytki nylonowej” (tkanina nylonowa i zabieg polegający na moczeniu) przy wykorzystaniu, odpowiednio, torfu lub bentonitu, lub bez ich wykorzystania.

1.2.2.1 Przygotowanie skażonych nośników

Tkanina nylonowa (wielkość porów 0,5 mm) należy pociąć na kawałki wielkości 1 cm² i wysterylizować (np. poprzez poddanie obróbce w autoklawie wielu ściśniętych płytek nylonowych). Należy położyć sterylne płytki nylonowe na powierzchni pokrytej agarem i inokulować agar małym kawałkiem zainfekowanego agaru (około 6 mm średnicy) zawierającego grzybnię. Kiedy grzyb przerasta przez tkanę i wytwarza przetrwalniki (lub sklerotę), płytka nylonowa jest gotowa do użycia. Aby płytki nylonowe zostały skażone najbardziej odporną strukturą badanych grzybów, należy odpowiednio dostosować warunki wzrostu (temperatura, światło) i czas inkubacji.

1.2.2.2 Procedura badawcza

a) Bez torfu

- należy włożyć trzy skażone nylonowe płytki do każdej z pięciu szalek Petriego i wlać 10 mL roztworu preparatu.
- po wymaganym czasie należy wyjąć nylonowe płytki i płukać je przez 10 min. w 10 mL sterylnej wody wodociągowej (wymagana analiza pH, EC i twardości) lub wody o standardowej twardości (17° twardość równoważna 300 ppm CaCO₃) z substancją inaktywującą (substancja badana) we wstrząsarce;
- nylonowe płytki należy wyjąć i osuszyć, umieszczając je na krótką chwilę na sterylnej bibule filtracyjnej, a następnie umieścić na płytkach agarowych;
- po nie więcej niż 14 dniach (w zależności od rozwoju patogenu) należy odnotować wzrost grzyba, przeżywalność patogenu.

1. kontrola: woda wodociągowa lub woda o standardowej twardości bez preparatu; testy rozwojowe z zastosowaniem substancji inaktywującej.

2. kontrola: woda wodociągowa lub woda o standardowej twardości bez preparatu; testy rozwojowe bez zastosowania substancji inaktywującej.

b) Z dodatkiem torfu

- odważyć 0,1 g wysuszonego na powietrzu młodszego torfu (wielkość cząstek torfu < 2mm) lub bentonitu i przenieść do 5 cm szalek Petriego lub innych stosownych pojemników i poddać sterylizacji przez autoklawowanie;
- dodać 10 mL preparatu w odpowiednim stężeniu i dobrze wymieszać;
- po 30 minutach do każdej szalki włożyć 3 skażone nylonowe płytki i delikatnie wymieszać;
- po wymaganym czasie należy wyjąć nylonowe płytki i płukać je przez 10 min. w 10 mL sterylnej wody wodociągowej lub wody o standardowej twardości;
- nylonowe płytki należy wyjąć i osuszyć, umieszczając je na krótką chwilę na sterylnej bibule filtracyjnej, a następnie umieścić na płytkach agarowych i ocenić wzrost grzybów, zgodnie z pkt. a);

Należy przeprowadzić te same kontrole co w przypadku doświadczeń prowadzonych bez użycia torfu/bentonitu.

1.2.3 Ocena aktywności wirusów

Środek dezynfekujący należy zbadać pod kątem skuteczności zwalczania chorobotwórczych wirusów roślin, prowadząc w tym celu zarówno doświadczenia *in vitro*, wykorzystujące sok mleczny, jak i doświadczenia dekontaminacji przy użyciu noży, stołów lub innych narzędzi.

1.2.3 Namnażanie wirusa roślin i przygotowanie soku mlecznego

Wirusy roślin należy namnażać przy użyciu odpowiednich roślin testowych. Homogenat (zawiesina wirusa) i zawiesina kontrolna są przygotowywane w drodze homogenizacji liści zainfekowanej i zdrowej rośliny przy użyciu, odpowiednio, wody lub buforu (0,5 M buforu fosforanu sodowego, pH 7,5) (w:v, 1:20).

1.2.3.2 Badanie *in vitro*

Aby móc określić zdolność badanego preparatu do inaktywacji wirusów roślin, w badaniu należy wykorzystać preparaty o szeregu różnych stężeń i prowadzić je w różnych terminach (zgodnie z zalecaną propozycją zastosowania, a mianowicie 30 s do 18 h). Do przygotowania homogenatu do badań należy wykorzystać rośliny zielne zakażone wirusami roślinnymi odpowiednie do namnażania wirusa, jak również rośliny niezakażone.

Homogenat roślinny należy mieszać ze środkiem dezynfekującym w różnych stężeniach. Działanie środka jest oceniane po upływie odpowiedniej ilości czasu w ramach badania biologicznego (mechaniczna inokulacja odpowiedniej rośliny wskaźnikowej) i badania serologicznego (ELISA). Woda i bufor są wykorzystywane odpowiednio jako substancje kontrolne bez dodatku preparatu, w celu przeprowadzenia oceny skuteczności zabiegu. Należy określić utrzymywanie się wirusa w soku mlecznym *in vitro*. Dla potrzeb badania biologicznego zawiesinę testową miesza się ze ścierniwem (celitem) i inokuluje się nią trzy najmłodsze, w pełni rozwinięte liście odpowiedniej rośliny wskaźnikowej. Najlepiej jeżeli

roślina wskaźnikowa po zabiegu wykaże charakterystyczne miejscowe objawy, niemniej jednak można również zbadać reakcje ogólnoustrojowe.

Rośliny wskaźnikowe uprawiane są w warunkach cieplarnianych (20°C). Oceny objawów występujących na liściach należy prowadzić przez okres około trzech tygodni. Badania serologiczne należy prowadzić zgodnie z metodą Büttner i Bandte (1999), wykorzystującą roztwory przeciwciał odpowiednie dla przeciwciał/zestawu testowego.

1.2.3.3 Dezynfekcja noży

Aby móc określić skuteczność badanego preparatu w odkażaniu noży, w badaniu należy wykorzystać preparaty o szeregu różnych stężeń i prowadzić je w różnych terminach (zgodnie z zalecaną propozycją zastosowania, a mianowicie 30 s do 18 h).

W ramach testów należy wykorzystać rośliny zielne zakażone wirusami roślinnymi odpowiednie do namnażania wirusa.

Istnieją dwie metody zanieczyszczenia noży (skalpeli), które można zastosować:

- a) należy odciąć kawałek porażonego wirusem liścia rośliny wskaźnikowej za pomocą opalonego nad płomieniem ale schłodzonego noża (skalpela);
- b) zanieczyszczenie noża (skalpela) ma miejsce podczas 5 min. inkubacji w homogenacie z liścia porażonej wirusem rośliny (zgodnie z pkt. 1.2.3.1).

W obu przypadkach oba zanieczyszczone skalpele są następnie inkubowane w roztworze testowym (środku dezynfekującym) i, odpowiednio, w wodzie lub buforze, będących substancjami kontrolnymi przez określony czas. Po zabiegu łodygę odpowiedniej zdrowej rośliny wskaźnikowej należy przeciąć w celu wywołania reakcji ogólnoustrojowej po zakażeniu badanym wirusem. W charakterze kontroli dodatkowo wykorzystuje się zanieczyszczony wirusem skalpel (nóż), który nie został poddany działaniu preparatu. Opalony nad płomieniem i schłodzony nóż (skalpel) bez dalszej obróbki służy jako kontrola ujemna. Rośliny wskaźnikowe są następnie uprawiane w warunkach cieplarnianych (20°C). Oceny objawów występujących na liściach należy prowadzić co trzy dni przez okres około trzech tygodni.

1.2.3.4 Dezynfekcja powierzchni (np. stołów, tac)

Aby móc określić skuteczność badanego preparatu w odkażaniu powierzchni, w badaniu należy wykorzystać preparaty o szeregu różnych stężeń i prowadzić je w różnych terminach (zgodnie z zalecaną propozycją zastosowania, a mianowicie 30 min do 18 h).

Do zanieczyszczania należy wykorzystać rośliny zielne zakażone wirusami roślinnymi odpowiednie do namnażania wirusa.

Zanieczyszczenie badanego materiału ma miejsce podczas 10 min. inkubacji w homogenacie z liścia porażonej wirusem rośliny (zgodnie z pkt. 1.2.3.1). Następnie zanieczyszczony badany materiał przed poddaniem go przez określony czas inkubacji w roztworze kontrolnym i, odpowiednio, w wodzie lub buforze, będących substancjami kontrolnymi, jest płukany w roztworze testowym (środku dezynfekującym). Następnie aby określić poziom

zanieczyszczenia należy poddać inkubacji kilka kropel wody wodociągowej na materiale poddanym działaniu preparatu przez około 5 min. Krople te są następnie przedmiotem badania biologicznego (mechaniczna inokulacja roślin wskaźnikowych, zgodnie z pkt. 1.2.3.2) i testu ELISA (zob. pkt. 1.2.3.2; Büttner i Bandte (1999)).

Część B Badania prowadzone w warunkach rzeczywistych

1. Warunki doświadczenia

1.1 Organizmy badane, wybór rośliny uprawnej i jej odmiany

Środki ochrony roślin zastosowane do dezynfekcji powinny zasadniczo działać przeciwko szeregowi mikroorganizmów oraz, w miarę możliwości, patogenów wirusowych. W związku z tym należy je zbadać pod kątem reprezentatywnych gatunków bakterii, grzybów i patogenów wirusowych, zgodnie z planowanym zastosowaniem. Należy uwzględnić różne rodzaje/grupy, zwłaszcza te gatunki, w przypadku których wiadomo, że nie są łatwe do zwalczania (na przykład te, które mają fazę odpornościową). W badaniach nad infekcją należy wykorzystywać rośliny żywicielskie w fazie podatności).

Doświadczenie należy prowadzić na roślinach uprawnych, organizmach badanych, powierzchniach i elementach wyposażenia określonych w zaleceniach dotyczących stosowania.

1.2 Warunki doświadczenia

Warunki uprawowe (np. typ gleby, stosowane nawozy, zabiegi uprawowe) powinny być jednakowe dla wszystkich poletek objętych doświadczeniem i dostosowane do miejscowych praktyk rolniczych.

Jeżeli preparaty są stosowane za pomocą technik, w przypadku których istnieje możliwość wystąpienia zjawiska znoszenia (np. preparaty pod wysokim ciśnieniem, fumiganty, aerozole lub wytwornice dymu), wówczas do każdego zabiegu należy wykorzystywać oddzielne pomieszczenia uprawowe (np. szklarnie) lub oddzielne komory.

Powierzchnie lub elementy wyposażenia muszą zostać skażone w takim stopniu, aby wystarczająca liczba roślin (najlepiej co najmniej 30%) należących do próby kontrolnej niepoddanej zabiegowi została zainfekowana. W niektórych sytuacjach dla potwierdzenia wyników doświadczenia można przeprowadzić badanie biologiczne lub test mikrobiologiczny, np. w przypadku urządzeń służących do przycinania).

Konieczne może okazać się przeprowadzenie wstępnego doświadczenia oceniającego poziom zanieczyszczenia/skażenia powierzchni lub elementów wyposażenia oraz poziomu zakażenia jakie powodują u roślin. W sytuacji gdy uzna się to za niewystarczające, wówczas należy przeprowadzić sztuczne skażenie powierzchni lub elementów wyposażenia.

W przypadku doświadczeń prowadzonych w odniesieniu do powierzchni, na których znajdują się rośliny, warunki muszą być takie, aby patogen mógł przedostać się na podłoże uprawowe rośliny w wyniku przemieszczania się wody lub przez kontakt bezpośredni, np. w wyniku zastosowania doniczek torfowych wykonanych ze sprasowanego torfu lub ziemi lub druczianych koszy.

Doświadczenie powinno być częścią serii badań prowadzonych w sytuacjach zgodnych z zastosowaniem. Zob. Normy EPPO PP 1/181 Prowadzenie i opis badań oceniających skuteczność, w tym dobrej praktyki eksperymentalnej [*Conduct and reporting of efficacy evaluation trials, including good experimental practice*].

1.4 Projekt i układ doświadczenia

Kombinacje doświadczenia: poletka chronione badanym(i) preparatem(i), preparatem(i) porównawczym(i) i poletko kontrolne skażone niepoddane działaniu preparatu i poletko kontrolne nieskażone niepoddane działaniu preparatu powinny być rozmieszczone według odpowiedniego układu statystycznego (zob. normę EPPO PP 1/152 Planowanie i analiza badań oceniających skuteczność [*Design and analysis of efficacy evaluation trials*]).

Rozmiar poletka doświadczalnego (bez pasów ochronnych): w przypadku prowadzenia dezynfekcji powierzchni (piasku lub wiórów) co najmniej 1 m² wystarczy dla 20 roślin, w przypadku dezynfekcji elementów wyposażenia (np. noży, doniczek, tac) co najmniej 10 roślin.

Liczba powtórzeń: na ogół co najmniej 4, jednak jeżeli wykorzystywane są oddzielne szklarnie lub komory szklarniowe, wówczas wyjątkowo 2 (zob. 1.2). W tym przypadku liczba doświadczeń należy być wyższa. W celu uzyskania dalszych informacji na temat projektu badań, zob. normę EPPO PP 1/152 Planowanie i analiza badań oceniających skuteczność [*Design and analysis of efficacy evaluation trials*].

2. Stosowanie zabiegów

2.1 Badany(e) preparat(y)

Badany preparat powinien być konkretnym preparatem o określonej formulacji, stosowanym zgodnie z zaleceniami (np. z adjuwantem). Zob. Norma EPPO PP 1/181 Prowadzenie i opis badań oceniających skuteczność, w tym dobrej praktyki eksperymentalnej [*Conduct and reporting of efficacy evaluation trials, including good experimental practice*].

2.2 Preparat(y) porównawczy(e)

Preparat porównawczy powinien być środkiem, którego skuteczność w warunkach, jakie występują na obszarze planowanego stosowania, jest znana. Zasadniczo sposób działania, terminy i metody stosowania powinny być możliwie najbardziej zbliżone do tych, które stosuje się w przypadku badanego preparatu.

2.3 Sposób stosowania

Sposób stosowania powinien odpowiadać dobrej standardowej praktyce.

2.3.2 Sposób wykonania zabiegu

Technika wykonania zabiegu powinna być zgodna z zaleceniami.

2.3.2 Rodzaj sprzętu

Zabiegi powinny być wykonywane przy użyciu sprzętu pozwalającego na równomierne rozproszczenie preparatu na obszarze całego poletka lub, stosownie do potrzeb, naniesienie go w miejsca, które tego wymagają. Czynniki, które mogą mieć wpływ na skuteczność (takie jak ciśnienie robocze, rodzaj dysz) powinny być dobrane zgodnie z zaleceniami.

2.3.3 Terminy i częstotliwość stosowania

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

2.3.4 Dawki i objętości

Preparat powinien być stosowany w dawkach określonych w zaleceniach. Dawki większe lub mniejsze od dawki zalecanej mogą być badane w celu określenia marginesu skuteczności działania i bezpieczeństwa roślin uprawnych.

Jeżeli preparat jest stosowany do moczenia należy podać jego stężenie (w %), jeżeli natomiast do odkażania powierzchniowego należy także podać jego objętość (L/m²). Stosowana dawka powinna być także wyrażona w kg lub litrach preparatu na m². Pożądane może okazać się również podanie dawki substancji aktywnej w g/m². Należy również podać średnią wysokość szklarni, jak również wszelkie odchylenia od zalecanego dawkowania.

W przypadku preparatów pod wysokim ciśnieniem, fumigantów, aerozoli lub wytwornic dymu należy podać odpowiednio objętość preparatu na m² i m³.

2.3.5 Dane dotyczące innych środków ochrony roślin

Jeśli zachodzi potrzeba zastosowania innych środków ochrony roślin (lub czynników zwalczania biologicznego), należy je zastosować jednakowo na wszystkich poletkach, niezależnie od preparatu badanego i preparatu porównawczego. Należy unikać ewentualnego współdziałania między tymi preparatami.

3. Metoda oceny, zapisu wyników i dokonywania pomiarów

3.1 Dane meteorologiczne i edaficzne

3.1.1 Dane meteorologiczne

W przypadku zabiegów prowadzonych na zewnątrz

W okresie poprzedzającym zabieg i następującym po nim należy rejestrować dane meteorologiczne, które mogą mieć wpływ na rozwój rośliny uprawnej, ewentualnie na rozwój chwastów oraz na działanie środka ochrony roślin. Są to na ogół dane dotyczące opadów atmosferycznych i temperatury. Wszystkie dane w miarę możliwości powinny być gromadzone w miejscu badania. Istnieje także możliwość uzyskania danych z pobliskiej stacji meteorologicznej, jednak wówczas należy podać informację na temat miejsca, w którym stacja ta się znajduje i odległości od miejsca prowadzenia doświadczenia.

W dniu zastosowania preparatu należy zebrać dane meteorologiczne, które mogą mieć wpływ na jakość i trwałość zabiegu. Są to przynajmniej dane o opadach atmosferycznych (rodzaj i ilość w mm) i temperatura (średnia, maksymalna i minimalna w °C). Należy opisać wszelkie

istotne zmiany pogodowe podając czas ich wystąpienia w odniesieniu do terminu przeprowadzenia zabiegu.

Przez cały okres trwania doświadczenia należy odnotowywać ekstremalne warunki pogodowe, które mogą mieć wpływ na wyniki doświadczenia, takie jak ostra lub przedłużająca się susza, intensywne opady deszczu, późne przymrozki, grad, itp. Konieczne jest odpowiednie udokumentowanie wszystkich danych dotyczących nawadniania.

W przypadku zabiegów prowadzonych wewnątrz (np. cieplarnie)

Przez cały okres trwania doświadczenia należy odnotowywać temperaturę, wilgotność, i w stosownych przypadkach, podać informacje na temat systemu sztucznego oświetlenia i nawadniania.

3.1.2 Dane edaficzne

Jeżeli rośliny są uprawiane na podłożu kompostowym lub innym sztucznym podłożu, należy podać ich pełen opis, jak również informacje na temat systemów nawadniania i dostarczania substancji odżywczych. Ponadto należy podać wyraźny opis powierzchni i pojemników, w których przechowywane są sztuczne podłoża.

3.2 Sposób, terminy oraz częstotliwość dokonywania oceny

3.2.1 Rodzaj danych

Należy skontrolować tylko nadziemne części roślin i policzyć zarówno rośliny zdrowe, jak i porażone występujące na poletku.

W większości przypadków wystarczy ocena odsetka porażonych roślin (części nadziemnych lub korzeni).

W stosownych przypadkach (w zależności od patogenu) w ramach końcowej oceny należy skontrolować rośliny i dla każdego poletka ocenić częstotliwość występowania następujących roślin:

- 0 = rośliny o zdrowych korzeniach/częściach nadziemnych;
- 1 = rośliny o niewielkim stopniu porażenia korzeni/części nadziemnych;
- 2 = rośliny o umiarkowanym stopniu porażenia korzeni/części nadziemnych;
- 3 = rośliny, których porażenie korzeni/części nadziemnych jest znaczące;
- 4 = rośliny, których korzenie/części nadziemne są prawie obumarłe.

Średnią ważoną dla każdego poletka można obliczyć na przykład na podstawie następującego wzoru:

$$\text{Średnia ważona} = (1N_1 + 2N_2 + 3N_3 + 4N_4) : N$$

Gdzie N₁, N₂, N₃ i N₄ oznaczają liczbę roślin należących do każdej z czterech kategorii, a N jest sumą wszystkich ocenianych roślin. Wartość należy podać do drugiego miejsca po przecinku.

Należy potwierdzić tożsamość patogenu na porażonych częściach nadziemnych rośliny i korzeniach.

3.2.2 Terminy i częstotliwość

Ocena wstępna: przed rozpoczęciem badania, co ma na celu zapewnienia, że zwalczane patogeny nie występują w materiale sadzeniowym.

1. ocena: w momencie wystąpienia objawów choroby;

Kolejne oceny są uzależnione od rozwoju choroby, jednak zaleca się przeprowadzenie co najmniej jednej oceny przed oceną końcową.

Ocena końcowa: w sytuacji gdy możliwość przeprowadzenia oceny skuteczności i fitotoksyczności preparatu jest oczywista.

3.3 Bezpośredni wpływ na roślinę uprawną

Roślina uprawna powinna zostać przebadana na obecność objawów fitotoksyczności (lub widocznych pozostałości preparatu). Należy pamiętać, że wpływ fitotoksyczny może być również skutkiem działania preparatu w formie gazowej. Ponadto należy zanotować wszelki korzystny wpływ na roślinę. Rodzaj i skalę takiego wpływu również należy opisać, podobnie jak brak jakiegokolwiek wpływu.

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 na dwa sposoby: każde poletko jest oceniane pod kątem fitotoksyczności na podstawie odpowiedniej skali, albo każde poddawane zabiegowi poletko jest porównywane z poletkiem, które nie było poddawane działaniu preparatu, a fitotoksyczność jest wyrażana procentowo.

We wszystkich przypadkach należy dokładnie opisać objawy uszkodzeń rośliny (skarłowacenia, chloroza, deformacje, itp.). Więcej informacji znajduje się w normie EPPO PP 1/135 Badanie fitotoksyczności [*Phytotoxicity assessment*], która zawiera rozdziały poświęcone poszczególnym uprawom.

3.4 Wpływ na inne organizmy

3.4.1 Wpływ na inne agrofagi

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

3.4.2 Wpływ na organizmy niebędące przedmiotem zwalczania

Należy odnotować wszelki zaobserwowany wpływ, korzystny lub niekorzystny, na naturalnie występujące lub wprowadzone owady zapylające i naturalnych wrogów. Należy odnotować wszelki zaobserwowany wpływ, pozytywny lub negatywny, na uprawy przyległe lub następcze. Należy opisać wszelki zaobserwowany wpływ na środowisko, zwłaszcza wpływ na dziko żyjącą faunę i florę.

3.5 Ilościowe i jakościowe rejestrowanie plonów

4. Wyniki

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

Literatura

Büttner C. & Bandte M. (1999) „Überprüfung der viruziden Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln am Beispiel von Menno-Florades”. *Gartenbauwissenschaft* 64, 214-219 (w języku niemieckim).

