

AGROTECHNIKA	N O R M A B R A N Ź O W A	BN-83
	Testy biologiczne	9180-25
	Ocena aktywności biologicznej herbicydów metodą testu hamowania wzrostu korzeni ogórka	Zamiast BN-65/6052-06
		Grupa katalogowa 1502

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy jest ocena aktywności biologicznej herbicydów typu regulatorów wzrostu (zawierających substancje aktywne o nazwach zwyczajowych — 2,4-D, MCPA, dichlorprop, mekoprop) za pomocą testu hamowania wzrostu korzeni ogórków.

1.2. Zakres stosowania normy. Norma może mieć zastosowanie jako uzupełnienie norm przedmiotowych, do oznaczania aktywności biologicznej preparatów pochodnych kwasów fenoksyalkanokarboksylowych, stanowiących substancję czynną preparatów: Aminopielik 39, Aminopielik D, Aminopielik M, Chwastox D, Chwastox M, Chwastox pł. 30, Dikotex P, Pielik, Sys 67 ME, Sys 67 Prop, w przypadkach:

- określenia aktywności biologicznej herbicydów pochodzących z rezydentów magazynowych,
- wyrywkowej kontroli aktywności biologicznej herbicydów pochodzących z bieżącej produkcji zakładów chemicznych,
- oceny aktywności biologicznej herbicydów zanieczyszczonych lub wykazujących zmienione właściwości fizyczne wskutek niewłaściwych warunków transportowania (np. przemrożenia lub zawilgocenia preparatów),
- analiz arbitrażowych i sądowych związanych z nieodpowiednią skutecznością preparatów w praktyce rolniczej.

2. METODA OZNACZANIA

2.1. Zasada oznaczania polega na określeniu stopnia zahamowania wzrostu korzeni ogórków przez preparat badany w porównaniu z preparatem standardowym.

2.2. Aparatura i przyrządy

- Igły preparacyjne.
- Kolby pomiarowe pojemności 100 cm³.
- Lodówka.
- Pipety pojemności 5, 10, 20 cm³.
- Sączki z bibuły do sączenia, o średnicy 9,8 cm.
- Szalki Petri'ego o średnicy 10 cm.
- Termostat z płaszczem wodnym.

2.3. Materiał biologiczny — nasiona ogórków odmiany Monastyrski, z ubiegłorocznego zbioru, zdrowe, o wyrównanej wielkości, mające zdolność kiełkowania 97 ÷ 100%. W przypadku braku świadectwa wartości siewnej nasion, należy sprawdzić ich zdolność kiełkowania wg PN-79/R-65950. Nasiona wysypać cienką warstwą na papier lub bibułę i przeprowadzić selekcję, usuwając egzemplarze z uszkodzoną lub pękniętą okrywą nasienną, skiełkowane lub słabo wykształcone.

Z wyselekcjonowanego materiału odliczyć po 10 sztuk nasion i wsypać do probówek. Dla preparatu badanego i standardowego oraz kontroli oblicza się 36×10 sztuk nasion.

W przypadku braku nasion ogórków odmiany Monastyrski, mogą być użyte inne odmiany ogórków.

2.4. Przygotowanie próbek herbicydów. Wymieszać dokładnie herbicydy w opakowaniach (np. pyliste — rozkruszyć grudy, doprowadzić do odpowiedniej wilgotności, jeżeli uległy zawilgoceniu; płynne — doprowadzić do rozpuszczenia osadu).

Odważyć na wadze analitycznej, z dokładnością do 0,002 g, 100 mg substancji aktywnej herbicydu standardowego i badanego. Ze względu na to, że zawartość substancji aktywnej w poszczególnych herbicydach jest różna, masę odważki preparatu (X) obliczyć w mg wg wzoru:

$$x = \frac{100}{y} \cdot 100 \quad (1)$$

w którym y — zawartość substancji aktywnej, %.

Preparatem standardowym dla herbicydów krajowych dysponują zakłady chemiczne produkujące dany środek. W przypadku preparatów importowanych, preparatem standardowym może być preparat pochodzący z bieżącej produkcji o sprawdzonej (w laboratorium chemicznym) zawartości substancji aktywnej i innych właściwościach fizykochemicznych.

2.5. Przygotowanie roztworów testowych z próbek herbicydów

Roztwór podstawowy — rozpuścić w kolbie pomiarowej odważkę preparatu w 100 cm³ wody destylowanej.

Zgłoszona przez Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa
Ustanowiona przez Dyrektora Instytutu Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa dnia 14 października 1983 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 lipca 1984 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 15/1983 poz. 29)

Roztwór A — 10 cm³ roztworu podstawowego rozcieńczyć 90 cm³ wody destylowanej.

Roztwór B — 50 cm³ roztworu A rozcieńczyć 50 cm³ wody destylowanej.

Roztwór C — 50 cm³ roztworu B rozcieńczyć 50 cm³ wody destylowanej.

Roztwór D — 50 cm³ roztworu C rozcieńczyć 50 cm³ wody destylowanej.

Roztwory herbicydu standardowego przygotować analogicznie jak herbicydu badanego. Może być on wykorzystany do oceny aktywności biologicznej kilku próbek herbicydów badanych. Roztwory należy przygotować bezpośrednio przed rozpoczęciem testowania.

2.6. Wykonanie testowania. Na stole laboratoryjnym ułożyć dla każdego z preparatów po 16 szalek w 4 rzędach (stężenia) po 4 sztuki (powtórzenia). Odległość między rzędami szalek powinna wynosić 10 ÷ 12 cm. Na wierzchach szalek oznaczyć numery próbek i stężeń herbicydów. Wierzchy szalek zdjąć i ułożyć na przeciw dolnych części, w miejsca pozostawione między rzędami. Do dolnej części szalek włożyć po 2 sączki bibuły do sączenia, zwracając uwagę, by przylegały one ściśle do dna. Wymieszać roztwór testowy w kolbie, odmierzyć pipetą 4 cm³ roztworu testowego i wlać do każdej z 4 szalek zawierających określone stężenie preparatu. Nalewanie roztworów testowych najlepiej rozpoczynać od stężeń najwyższych (A), przechodząc kolejno do niższych (D). Do nalewania poszczególnych stężeń należy używać czystych pipet, przepłukując je przed rozpoczęciem nalewania określonego stężenia tym samym roztworem testowym.

Podczas wlewania roztworów testowych należy zwracać uwagę na to, by pod lub między sączkami nie tworzyły się pęcherzyki powietrza.

W każdej z szalek rozłożyć równomiernie, na całej powierzchni sączka, po 10 sztuk nasion ogórków przygotowanych zgodnie z 2.3. Cztery szalki, stanowiące kontrolę, napełnić 4 cm³ wody destylowanej, a następnie ułożyć nasiona ogórków. Szalki przykryć wierzchami i wstawić do termostatu na 48 h, licząc czas od momentu umieszczenia nasion w roztworach. Inkubację przeprowadzić bez dostępu światła, w temperaturze 25°C. Po zakończeniu inkubacji wyjąć szalki z termostatu, zdjąć przykrywkę i polać za pomocą pipety stożki wzrostu korzeni ogórków denaturatem lub alkoholem metylowym (1 ÷ 3 kropli na 1 korzeń). Mierzenie korzeni najlepiej rozpocząć od stężeń najniższych.

Poszczególne nasiona ogórków wyjąć z szalki i za pomocą pęsety i igły preparacyjnej rozciągnąć na papierze milimetrym. Długość korzeni mierzyć od wierzchołka do dolnej krawędzi zgrubienia lub wyrostka znajdującego się między łodygą podliścieniową a korzeniem. Czynność tę wykonuje się z dokładnością do 1 mm.

Z uzyskanych danych obliczyć średnią długość korzeni ogórków dla powtórzeń (dzieląc sumę długości korzeni ogórków przez liczbę skielkowanych nasion), a następnie średnie dla stężeń i poszczególnych preparatów. W przypadku występowania dużych różnic w długości korzeni ogórków w powtórzeniach lub między powtórzeniami, wartości skrajne należy odrzucić. Wyniki pomiarów, jak również termin rozpoczęcia i zakończenia testu wpisać do odpowiedniej tablicy¹⁾.

2.7. Obliczanie wyników. Skuteczność hamowania wzrostu korzeni ogórków (h) obliczyć w procentach wg wzoru

$$h = \frac{100(k - n)}{k} \quad (2)$$

w którym:

k — średnia długość korzeni ogórków obliczona dla obiektu kontrolnego, mm,

n — średnia długość korzeni ogórków obliczona dla preparatu standardowego lub badanego, mm.

Wskaźnik skuteczności preparatu badanego w stosunku do preparatu standardowego (T) obliczyć w procentach wg wzoru

$$T = \frac{h_2}{h_1} \cdot 100 \quad (3)$$

w którym:

h_2 — skuteczność hamowania wzrostu korzeni ogórków przez preparat standardowy, %,

h_1 — skuteczność hamowania wzrostu korzeni ogórków przez preparat standardowy, %.

2.8. Interpretacja wyników. Wyższa niż 70-procentowa wartość wskaźnika skuteczności preparatu badanego w stosunku do preparatu standardowego (T) wskazuje, że aktywność biologiczna preparatu badanego jest zbliżona do aktywności biologicznej preparatu standardowego.

W celu uzyskania jednoznacznych wyników, test powinno się powtórzyć co najmniej dwukrotnie.

¹⁾ Przykład tablicy podano w Informacjach dodatkowych p. 4.

K O N I E C

INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę — Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa, Puławy.

2. Normy związane

PN-79/R-65950 Materiał siewny. Metody badań nasion

3. Autorzy projektu normy — dr Krystyna Gabińska i doc. dr Józef Rola — IUNG, Zakład Ekologii i Zwalczania Chwastów, Wrocław.

4. Wzór tablicy wyników oceny aktywności biologicznej herbicydu metodą testu hamowania wzrostu korzeni ogórków. Długość korzeni ogórków podano w mm.

Lp. mierzonego nasion, suma i średnia pomiarów	Preparat standardowy								Preparat badany								Kontrola	
	stężenia								stężenia									
	A		B		C		D		A		B		C		D			
	powtórzenia								powtórzenia								powtórzenia	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	2	2	5	4	15	15	30	29	2	2	4	5	12	15	30	35	42	43
2	1	1	6	6	12	16	26	28	1	2	5	6	13	15	29	30	40	42
3	2	1	4	6	13	12	27	25	1	2	4	4	13	12	30	30	39	40
4	1	1	7	6	12	12	28	30	1	1	4	4	13	12	28	27	45	40
5	2	2	7	6	10	13	29	31	1	1	4	4	14	14	26	27	47	40
6	3	3	6	5	11	12	31	32	1	1	3	5	12	15	30	28	42	45
7	2	1	5	4	14	13	33	33	2	1	2	5	11	16	31	30	43	47
8	1	1	5	6	13	14	32	30	1	1	3	3	15	12	32	32	45	47
9	2	—	5	5	12	14	30	25	—	1	4	4	17	11	33	30	49	44
10	2	—	5	—	12	14	31	27	—	1	5	4	16	15	30	31	40	49
Σ	18	12	55	48	124	135	297	290	10	13	38	44	136	137	299	302	432	437
x ₁	1,8	1,5	5,5	5,3	12,4	13,5	29,7	29,0	1,3	1,3	3,8	4,4	13,6	13,7	29,9	30,2	43,2	43,7
x ₂	1,65		5,4		12,95		29,35		1,3		4,1		13,65		30,05		43,45	

Termin założenia doświadczenia 23.05 godz. 12⁰⁰.
Termin analizy doświadczenia 25.05 godz. 12⁰⁰.
h₁ = 72%
h₂ = 72%
W tablicy podano przykładowo wyniki pomiarów długości korzeni ogórków tylko 2 powtórzenia.
 $T = \frac{72}{72} \cdot 100 = 100\%$