

AGROTECHNIKA	N O R M A B R A N Ż O W A	BN-83
	Testy biologiczne Ocena aktywności biologicznej herbicydów metodą testu hamowania kiełkowania gorczycy	9180-26
		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 na nasionach gorczycy.

1.2. Zakres stosowania normy. Norma ma zastosowanie do oznaczania aktywności biologicznej preparatów pochodnych kwasów fenoksyalkanokarboksyłowych, stanowiących substancję aktywną preparatów: Aminopielik 39, Aminopielik D, Aminopielik M, Aminopielik P, Chwastox płynny 30, Chwastox D, Chwastox M, Dikotex P, Pielik, Sys 67 ME, Sys 67 M Prop, w przypadkach:

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

2. METODA OZNACZANIA

2.1. Zasada oznaczania polega na określeniu stopnia zahamowania kiełkowania gorczycy przez preparat badany w porównaniu z preparatem standardowym.

2.2. Aparatura i przyrządy

- a) Kolby pomiarowe pojemności 100 cm³.
- b) Lodówka.
- c) Pipety pojemności 5, 10 i 20 cm³.
- d) Sączki z bibuły do sączenia o średnicy 9,8 cm.
- e) Szalki Petriego o średnicy 10 cm.
- f) Termostat z płaszczem wodnym.

2.3. Materiał biologiczny — nasiona gorczycy białej odmiany Nakielska, pochodzące najlepiej z ostatniego

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 do sączenia i przeprowadzić selekcję, usuwając egzemplarze z uszkodzoną lub pękniętą okrywą nasionną, skiełkowane lub słabo wykształcone.

Z wyselekcjonowanego materiału odliczyć po 100 sztuk nasion i wsypać do próbek. Dla preparatu standardowego i jednego preparatu badanego oraz kontroli odlicza się 44 × 100 sztuk nasion.

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

$$x = \frac{160}{y} \quad (1)$$

w którym y — zawartość substancji aktywnej, %.

Preparat standardowy powinien zawierać zgodną z atestem zawartość substancji aktywnej tej samej co preparat badany.

Preparatom 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 A — rozpuścić w kolbie pomiarowej odważkę herbicydu badanego w 100 cm³ wody destylowanej.

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

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

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

Roztwory herbicydu standardowego przygotowuje się analogicznie jak herbicydu badanego. Może on być 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 20 szalek w 5 rzędach (stężenia) po 4 sztuki (powtórzenia). Odległość między rzędami szalek powinna wynosić 10 ÷ 12 cm. Na wierzchach szalek oznaczyć numery próbek i stężenia herbicydów. Wierzchy szalek zdjąć i ułożyć na przeciw dolnych części, w miejsca pozostawione między rzędami. Do dolnej części szalek włożyć po 1 sączku bibuły do sączenia, zwracając uwagę, by sączek przylegał ściśle do dna szalki.

Wymieszać roztwór testowy w kolbie, odmierzyć pipetą po 4 cm³ roztworu testowego i wlać do każdego z 4 szalek zawierających określone stężenie preparatu. Nalewanie roztworów testowych do szalek najlepiej rozpoczynać od stężeń najwyższych (A), przechodząc kolejno do niższych (E). Do nalewania poszczególnych stężeń testowych należy używać czystych pipet, przepłukując je przed rozpoczęciem nalewania określonego stężenia tym samym roztworem testowym.

Do każdej z szalek wsypać po 100 sztuk nasion gorczycy przygotowanej wg 2.3. Cztery szalki, stanowiące kontrolę, napełnić 4 cm³ wody destylowanej, następnie wsypać po 100 sztuk nasion gorczycy. Nasiona gorczycy należy rozmieścić równomiernie na całej powierzchni sączka. Przykryć dna szalek z nasionami odpowiednimi wierzchami.

Szalki umieścić w termostacie, bez dostępu światła, w temperaturze 25°C na 24 h, licząc czas od momentu umieszczenia nasion w roztworze. Po zakończeniu okresu inkubacji, ale przed rozpoczęciem liczenia, przenieść szalki z termostatu do nastawionej na maksymalne chłodzenie lodówki na 30 min. Szalki z lodówki wyjmować stopniowo, w miarę wykonywanej pracy. W każdej z szalek oddzielić nasiona skielkowane od

nieskielkowanych (przesuwając pęsetą), a następnie policzyć nasiona nieskielkowane. Za nasiona skielkowane przyjmuje się takie, w których wyrosły korzenie zarodkowe lub końce korzeni są widoczne w pękniętych okrywach nasiennych. Najlepiej rozpoczynać liczenie nieskielkowanych nasion gorczycy od stężeń najniższych (E), przechodząc kolejno do wyższych (A). Liczbę nieskielkowanych nasion z poszczególnych powtórzeń i stężeń, jak również termin rozpoczęcia, z zakończenia testowania wpisać do odpowiedniej tablicy¹⁾.

Obliczyć średnią liczbę nieskielkowanych nasion gorczycy dla poszczególnych stężeń i próbek herbicydów oraz kontroli. W przypadku dużych różnic w wartościach liczby nieskielkowanych nasion gorczycy między powtórzeniami, wartości skrajne należy odrzucić.

2.7. Obliczanie wyników. Skuteczność preparatu (h) obliczyć w procentach wg wzoru

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

w którym:

n — średnia liczba nieskielkowanych nasion gorczycy pod wpływem preparatu (standardowego lub badanego),

k — średnia liczba nieskielkowanych nasion gorczycy w kontroli.

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_1 — skuteczność hamowania kiełkowania nasion gorczycy przez preparat standardowy, %.

h_2 — skuteczność hamowania kiełkowania nasion gorczycy przez preparat badany, %.

2.8. Interpretacja wyników. Wyższa niż 70-procentowa wartość wskaźnika skuteczności preparatu badanego w stosunku do standardu (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 2-krotnie.

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

K O N I E C

INFORMACJE DODATKOWE

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

2. Normy związane
PN-79/R-65950 Materiał siewny. Metody badania 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 preparatu Chwastox 30 metodą testu hamowania kiełkowania gorczycy.

Nr próbki	Stężenie preparatu	Liczba nieskiełkowanych nasion gorzycy				dla stężenia	dla preparatów	Skuteczność hamowania kiełkowania gorzycy	Wskaźnik skuteczności preparatu badanego w stosunku do standardowego
		w powtórzeniach							
		a	b	c	d				
Preparat standardowy	A	98	99	100	100	99,25	76,00	75,76	—
	B	95	94	93	94	94,0			
	C	80	82	83	84	82,25			
	D	65	62	60	61	62,00			
	E	42	40	49	39	42,50			
Preparat badany	A	95	94	96	95	95,00	70,25	69,95	92,33
	B	91	90	91	93	91,25			
	C	79	78	75	72	76,0			
	D	58	57	53	51	54,75			
	E	35	36	35	31	34,25			
Kontrola	—	2	1	—	1	1,00	—	—	—

Rozpoczęcie testowania — 25.07 godz. 12⁰⁰.
Zakończenie testowania — 26.07 godz. 12⁰⁰.