

WYROBY PRZEMYSŁU CHEMICZNEGO	NORMA BRANŻOWA	BN-63
	Środki ochrony roślin Biologiczne oznaczanie skuteczności płynnych środków owadobójczych na musze domowej	6052-02
		Grupa katalogowa X 16

## 1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy jest metoda biologiczna oznaczania skuteczności płynnych środków owadobójczych na musze domowej.

1.2. Zastosowanie. Metodę stosuje się do płynnych środków owadobójczych zawierających w swym składzie substancje biologicznie czynne o działaniu kontaktowym lub kontaktowo-oddechowym z grupy chlorowanych węglowodorów i związków fosforoorganicznych.

### 1.3. Dokumenty związane

St. Byrdy: Owady testowe (bioindykatory) używane do laboratoryjnej oceny skuteczności chemicznych środków owadobójczych. Biuletyn Informacyjny IPO "Środki Ochrony Roślin" nr 2/1960, s. 38-45

A. Bojanowska: Statystyczne metody obliczania  $LD_{50}$ . Biuletyn Informacyjny IPO "Środki Ochrony Roślin" nr 4/1961

## 2. METODA OZNACZANIA

2.1. Owad testowy. Dojrzałe muchy domowe (*Musca domestica*) w wieku 5 dni, płci żeńskiej, hodowane laboratoryjnie wg metody Peet-Grady podanej w artykule St. Byrdego wymienionym w 1.3. Przed posegregowaniem wg płci oziębic muchy do temperatury  $1^{\circ}\text{C}$  przez włożenie probówek z owadami do naczynia z wodą i lodem na okres 5 min.

2.2. Preparaty wzorcowe. Do badań kontrolnych i rozjemczych należy stosować wzorzec krajowy ustalony wg obowiązującego trybu postępowania. Do badań wykonywanych przy rejestracji należy stosować odpowiedni preparat zagraniczny.

2.3. Roztwory. Do oznaczania należy stosować roztwory środka badanego i wzorca w 4 stężeniach wg postępu geometrycznego i tak dobranych, żeby działanie trujące roztworu o stężeniu najniższym powodowało porażenie około 20% owadów, a roztworu o stężeniu najwyższym około 90% owadów. Dla płynnych środków owadobójczych opartych na DDT, HCH i DMDT, jak Azotox płynny 25%, Azotox płynny 40%, Tritox płynny 30% itp. stężenia roztworów wynoszą 0,01%, 0,005% i 0,0025% i 0,00125% składnika czynnego.

### 2.4. Przygotowanie roztworów

2.4.1. Rozpuszczalnik i rozcieńczalnik. Należy stosować aceton cz.d.a. z dodatkiem oleju parafinowego w ilości 2 g oleju na 500 g acetonu.

2.4.2. Wytyczne ogólne. Do sporządzenia roztworów środka badanego i wzorca o potrzebnym stężeniu należy przygotować 2 roztwory przejściowe o następującym stężeniu składnika czynnego:

roztwór I - 1% wag,

roztwór II - 0,1% obj.

Zjednoczenie Przemysłu Organicznego i Tworzyw Sztucznych „Erg”

Ustanowiona przez Dyrektora Zjednoczenia Przemysłu Organicznego i Tworzyw Sztucznych „Erg” dnia 8 czerwca 1963 r. jako norma obowiązująca w zakresie metod badań od dnia 26 września 1963 r. (Mon. Pol. nr 71/1963 poz. 357 oraz Mon. Pol. nr 67/1966 poz. 323)

Roztwór I jest roztworem podstawowym, a roztwór następny otrzymuje się przez rozcieńczenie roztworu podstawowego.

2.4.3. Przygotowanie roztworu I. Odważyć po 1 g badanego środka i wzorca z dokładnością do 0,0002 g do kolb stożkowych z wąską szyjką, pojemności 50 lub 100 ml, zależnie od ilości substancji aktywnej w badanych preparatach.

Odważki rozpuścić w takiej ilości rozpuszczalnika, aby otrzymać roztwór o zawartości 1% składnika czynnego. Do obliczeń przyjąć ciężar właściwy rozpuszczalnika odpowiadający ciężarowi właściwemu acetonu - 0,796 g/ml.

2.4.4. Przygotowanie roztworu II. Z roztworu środka badanego i wzorca przygotowanego wg 2.4.3 pobrać pipetą 1 ml, umieścić w probówkach i dodać po 9 ml rozcieńczalnika.

2.4.5. Przygotowanie roztworów do oznaczania. Przygotować roztwory przez dalsze kolejne objętościowe rozcieńczanie. Każdy roztwór następny otrzymać przez odpowiednie rozcieńczanie roztworu poprzedniego.

2.4.6. Przykład przygotowania roztworów Azotoxu płynnego 40%

2.4.6.1. Przygotowanie roztworu I. Roztwór wykonać jak w 2.4.3. Odważkę rozpuścić w 49 ml rozpuszczalnika.

2.4.6.2. Przygotowanie roztworu II. Roztwór wykonać jak w 2.4.4.

2.4.6.3. Przygotowanie roztworów do oznaczania. Potrzebne roztwory 0,01%, 0,005%, 0,0025% i 0,00125% środka badanego i wzorca przygotować przez pobranie do probówki, o objętości i stężeniu podanym w tablicy, oraz przez dodanie rozcieńczalnika o objętości podanej w tablicy.

Stężenie roztworu otrzymywanego %	Roztwór, który należy użyć do przygotowania		Rozcieńczalnik
	stężenie %	objętość ml	ml
0,01	0,1	2,5	22,5
0,005	0,01	10	10
0,0025	0,005	9	9
0,00125	0,0025	7	7

2.5. Warunki oznaczania. Oznaczanie wykonywać w pomieszczeniu o temperaturze 23 - 24°C i wilgotności względnej powietrza 40 ÷ 50%. Preparat i wzorzec badać w 4 stężeniach. Dla każdego stężenia wykonać 5 powtórzeń stosując po 10 owadów na płytkę.

2.6. Wykonanie oznaczania. Pod górne części płytek Petriego (o mniejszej średnicy) wpuścić po 10 samic muchy domowej. Na dolnej części tych płytek (o większej średnicy) odmierzyć pipetą po 2 ml roztworów środka badanego i wzorca przygotowanych wg 2.4. Po upływie 1 godz połączyć ze sobą obie części płytek Petriego: górną z muchami i dolną z roztworem środka owadobójczego. Przy łączeniu płytek należy zachować równe odstępy czasu.

Obserwować zachowanie się much. W chwili, kiedy porażenie owadów (*knock down*) na płycie z najniższym stężeniem roztworu wyniesie około 20%, a na płycie z najwyższym stężeniem - około 90%, policzyć porażone owady na wszystkich płytkach.

Należy dokonywać liczenia w tej samej kolejności i w tych samych odstępach czasu co przy łączeniu płytek ze sobą - w celu zachowania warunku tego samego czasu ekspozycji.

zycji dla wszystkich prób z badanym środkiem i wzorcem.

Dla każdego powtórzenia przeprowadzić równoległe próbę kontrolną śmiertelności eksponując owady na płytkach zwilżonych 2 ml acetonu (z dodatkiem oleju parafinowanego) bez środka owadobójczego,

2.7. Obliczanie wyników. Wskaźnik skuteczności biologicznej  $T$  obliczyć wg wzoru

$$T = \frac{LC_{50} \text{ wzorca}}{LC_{50} \text{ środka badanego}}$$

w którym:

$LC_{50}$  odpowiada stężeniu roztworu środka badanego lub wzorca, przy którym pada 50% owadów, obliczonemu metodą statystyczną wg Lichtfielda i Wilcoxona, podaną w artykule A. Bojanowskiej wymienionym w 1.3.

K O N I E C