

STRESZCZENIA Z REALIZACJI ZADAŃ

prowadzonych przez IOR–PIB w ramach programu wieloletniego:

pn. „**Ochrona roślin uprawnych z uwzględnieniem bezpieczeństwa żywności oraz ograniczenia strat w plonach i zagrożeń dla zdrowia ludzi, zwierząt domowych i środowiska**”

w okresie od dnia 01 stycznia 2011 r. do listopada 2015 r.

Obszar tematyczny 1.: INTEGROWANA OCHRONA ROŚLIN ORAZ OGRANICZANIE ZAGROŻEŃ ZWIĄZANYCH ZE STOSOWANIEM ŚRODKÓW OCHRONY ROŚLIN DLA LUDZI, ZWIERZĄT I ŚRODOWISKA.

Zadanie 1.1. „Aktualizacja i opracowanie metodyk integrowanej ochrony roślin” (kierownik: prof. dr hab. Marek Mrówczyński)

Zgodnie z dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady 2009/128/WE z dnia 21 października 2009 r. ustanawiającą ramy wspólnotowego działania na rzecz zrównoważonego stosowania pestycydów oraz Rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) Nr 1107/2009 z 21 października 2009 r. dotyczącym wprowadzania do obrotu środków ochrony roślin i uchylającym Dyrektywy Rady 79/117/EWG i 91/414/EWG, państwa członkowskie Unii Europejskiej zostały zobowiązane do wprowadzenia integrowanej ochrony roślin najpóźniej od 01.01.2014 r. W związku z powyższym zaistniał wymóg przygotowania producentów rolnych do wprowadzenia i przestrzegania zasad integrowanej ochrony roślin. Jednym z narzędzi skierowanych bezpośrednio do odbiorcy, zarówno producenta, jak i doradcy, są metodyki integrowanej ochrony poszczególnych gatunków roślin uprawnych. Opracowanie nowych oraz aktualizacja już istniejących metodyk stało się konieczne dla wdrożenia zasad integrowanej ochrony. W ramach realizacji zadania, każdego roku zespół wykonawców tematu, we współpracy z naukowcami z różnych jednostek badawczych, opracowywał oraz publikował metodyki zgodnie z założonym harmonogramem programu wieloletniego.

W 2011 r. opracowano:

- Metodyka integrowanej ochrony pszenżyta ozimego i jarego,
- Metodyka integrowanej ochrony wyki siewnej oraz wyki kosmatej,
- Metodyka integrowanej ochrony jęczmienia.

W 2012 r. opracowano:

- Metodyka integrowanej ochrony słonecznika dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony soi dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony łąbinu wąskolistnego, żółtego i białego dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony łąbinu wąskolistnego, żółtego i białego dla doradców,
- Metodyka integrowanej ochrony buraka cukrowego i pastewnego dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony buraka cukrowego i pastewnego dla doradców,
- Metodyka integrowanej ochrony lucerny siewnej dla producentów i doradców.

Ponadto w 2012 r. dokonano aktualizacji:

- Metodyka integrowanej ochrony pszenżyta ozimego i jarego dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony wyki siewnej i wyki kosmatej dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony wyki siewnej i wyki kosmatej dla doradców,
- Metodyka integrowanej ochrony jęczmienia ozimego i jarego dla producentów.

W 2013 r. opracowano:

- Metodyka integrowanej ochrony gorczycy: białej, czarnej i sarepskiej dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony kukurydzy dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony pszenicy ozimej i jarej dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony rzepaku ozimego i jarego dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony wierzby krzewiastej dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony ziemniaka dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony żyta ozimego i jarego dla producentów.

Ponadto w 2013 r. dokonano aktualizacji metodyk w zakresie mikotoksyn:

- Metodyka integrowanej ochrony pszenżyta ozimego i jarego dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony jęczmienia ozimego i jarego dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony łubinu wąskolistnego, żółtego i białego.

W 2014 r. opracowano:

- Metodyka integrowanej ochrony owsa dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony prosa dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony gryki dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony bobiku dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony grochu dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony komonicy zwyczajnej dla producentów.

W 2015 r. opracowano:

- Metodyka integrowanej ochrony mieszanek zbożowych dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony koniczyny dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony facelii błękitnej dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony kapusty pastewnej dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony rzodkwi oleistej dla producentów,
- Metodyka integrowanej ochrony traw dla producentów (życie, festulium, stokłosy uniolowatej, wiechlin, wyczyńca łąkowego).

Istotną rolę w realizacji zadania odegrała współpraca z naukowcami i praktykami reprezentującymi następujące jednostki: COBORU w Słupi Wielkiej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – PIB w Puławach, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – PIB w Radzikowie, w Poznaniu oraz w Boninie, Hodowla Roślin Strzelce Sp. z o. o. – Grupa IHAR, Małopolska Hodowla Roślin, PIORIN, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, CDR w Brwinowie.

Zadanie 1.2. „Analiza możliwości kompleksowej ochrony wybranych upraw małoobszarowych” (kierownik: dr hab. Roman Kierzek, prof. nadzw. IOR-PIB)

Cel zadania

Celem zadania było stworzenie kompleksowych programów ochrony wybranych rolniczych upraw małoobszarowych, w tym roślin energetycznych, dla których brak jest obecnie w Rzeczypospolitej Polskiej skutecznych metod ochrony.

W uprawie wybranych roślin małoobszarowych należy uwzględnić najbardziej szkodliwe agrofagi, które w największym stopniu przyczyniają się do ograniczenia produkcji i jakości produktów roślinnych. Ważnym zadaniem jest ustalenie poziomu szkodliwości agrofagów w warunkach kompleksowej ochrony, przy użyciu ochrony chemicznej, metod nie chemicznych, z uwzględnieniem zastosowanego poziomu agrotechniki.

Efekty/najważniejsze osiągnięcia realizacji zadania

W celu utworzenia kompleksowych programów ochrony wybranych rolniczych upraw małoobszarowych wykonano następujące zadania:

- 1) dokonano przeglądu potencjalnych agrofagów i stopnia ich szkodliwości dla wybranych małoobszarowych upraw rolniczych tj. gryki (*Fagopyrum esculentum*), sorgo (*Sorghum vulgare*), łubinu wąskolistnego (*Lupinus angustifolius*), łubinu żółtego (*Lupinus luteus*), gorczycy białej (*Synapis alba*), wierzby na cele energetyczne (wierzba wiciowa – *Salix viminalis* z rodziny *Salix* spp.), bobiku (*Vicia faba*), słonecznika (*Helianthus annuus*), soi (*Glycine max*), wyki siewnej (jarej) (*Vicia sativa*), wyki kosmatej (ozimej) (*Vicia villosa*), lucerny (*Medicago sativa*), maku (*Papaver somniferum*) i proso (*Panicum miliaceum*);
- 2) dokonano aktualizacji i przeglądu dostępnych strategii i metod ochrony dla wybranych upraw małoobszarowych przed agrofagami (szkodniki, choroby, chwasty);
- 3) opracowano aktualną listę substancji czynnych chemicznych i niechemicznych środków ochrony roślin, dopuszczonych do stosowania w państwach członkowskich Unii Europejskiej, w uprawach małoobszarowych takich jak: gryka, sorgo, gorczyca biała, łubin wąskolistny i żółty, wierzba wiciowa, bobik, słonecznik, soja, wyka siewna (jara) i wyka kosmata (ozima), lucerna, mak i proso;
- 4) opracowano metodyki oznaczania pozostałości wybranych środków ochrony roślin, przeznaczonych do ochrony wytypowanych roślin małoobszarowych;
- 5) oznaczono dynamikę zanikania substancji czynnych w materiale roślinnym (łubiny, gorczyca biała, bobik, słonecznik, soja, wyka siewna, mak, lucerna i proso) dla wytypowanych upraw w warunkach doświadczeń polowych lub szklarniowych;
- 6) wykazano możliwość wykorzystania dopuszczonych do obrotu w Polsce środków ochrony roślin, do ochrony wybranych upraw małoobszarowych (łubin żółty, bobik, słonecznik, soja, wyka siewna, lucerna, mak).

Znaczenie dla praktyki rolniczej i służb państwowych

Zebrane informacje i pozyskany materiał może być wykorzystywany do oceny skali zagrożeń upraw małoobszarowych przed patogenami, a także do opracowywania programów ochrony i zwalczania najważniejszych agrofagów w wybranych rolniczych uprawach małoobszarowych, z wykorzystaniem różnych strategii i metod ochrony roślin. Dostarczona wiedza i możliwości ochrony zapewnią potencjalnym producentom roślin małoobszarowych lepszą opłacalność produkcji i minimalizują niekorzystne oddziaływanie na zdrowie ludzi, zwierząt i środowisko. Wyniki z realizacji tego zadania są udostępniane podmiotom zainteresowanym uzyskaniem zezwolenia na tzw. „pozaetykietowe” stosowanie środków ochrony roślin w uprawach małoobszarowych, tj. instytucjom państwowym lub naukowym z dziedziny rolnictwa, społeczno-zawodowym organizacjom rolników oraz izbom rolniczym. Odbiorcami wyników jest również MRiRW.

Zadanie 1.3. „Monitorowanie uodparniania się agrofagów na środki ochrony roślin oraz tworzenie programów redukcji ryzyka” (kierownik: prof. dr hab. Paweł Węgorek)

Cel zadania

Celem zadania było opracowanie instrukcji i strategii użytkowania poszczególnych grup chemicznych środków ochrony roślin, w szczególności dla fungicydów, insektycydów i herbicydów, w stosunku do najważniejszych gatunków odpornych agrofagów. Bardzo istotne było wczesne wykrycie zmian, które mogą prowadzić do wystąpienia odporności, jak również wprowadzenie odpowiednich programów ochrony przeciwdziałających temu zjawisku.

Efekty/najważniejsze osiągnięcia realizacji zadania

- 1) określono ryzyko wystąpienia odporności dla różnych gatunków agrofagów z grupy szkodników, patogenów grzybowych i chwastów, na podstawie danych literaturowych (polskich oraz zagranicznych), a także dotychczas przeprowadzonych badań i obserwacji

- własnych oraz napływających od rolników i służb państwowych zgłoszeń nieskuteczności działania środków ochrony roślin;
- 2) w ramach prowadzanego monitoringu poziomu odporności różnych grup agrofagów na środki ochrony roślin:
 - a) wykazano, w niektórych przypadkach, błędną interpretację istnienia lub braku zjawiska odporności, np. w odniesieniu do słodyszka rzepakowego i chloropiryfosu,
 - b) udowodniono pojawienie się nowych przypadków odporności wśród agrofagów, dotyczących substancji, odnośnie których do tej pory nie obserwowano tego zjawiska, np. odporność stonki ziemniaczanej na metaflumizon,
 - c) udowodniono bardzo silny wzrost poziomu odporności niektórych agrofagów na niektóre substancje czynne, np. słodyszka rzepakowego na pyretroidy i stonki ziemniaczanej na neonikotynoidy,
 - d) udowodniono zdecydowany spadek poziomu odporności niektórych populacji agrofagów na skutek stosowania strategii antyodpornościowych, np. stonki ziemniaczanej na niektóre pyretroidy;
 - 3) przetestowano substancje czynne niezarejestrowane do zwalczania określonych agrofagów, w celu zwiększenia liczby możliwych rotacji substancji czynnych, co jest podstawowym elementem strategii zapobiegania odporności;
 - 4) określono wpływ wielu substancji czynnych insektycydów na pszczołę miodną; badania takie są niezbędnym elementem do opracowywania strategii antyodpornościowych, które powinny uwzględniać bezpieczeństwo pszczół;
 - 5) określono mechanizmy odporności niektórych gatunków agrofagów w celu opracowywania strategii antyodpornościowych;
 - 6) przekazano do praktyki rolniczej przez publikacje naukowe i popularno-naukowe, a także konferencje, szkolenia dla rolników i aktualizowaną obecnie stroną internetową, wszystkie wyniki otrzymane na podstawie obserwacji, lustracji terenowych, ankiet i prowadzonych doświadczeń; przekazywane do praktyki rolniczej informacje zawierały zalecenia i strategie stosowania środków ochrony roślin, mające na celu minimalizację negatywnych skutków zjawiska odporności;
 - 7) w 2013 r. opublikowano i rozpowszechniono ulotkę „Dobra praktyka rolnicza przeciwdziałająca odporności agrofagów na środki ochrony roślin”, która zawiera podstawy strategii przeciwdziałających narastaniu zjawiska odporności.
 - 8) w 2015 opracowano trzy broszury: „Strategia przeciwdziałania odporności słodyszka rzepakowego i stonki ziemniaczanej na insektycydy”, „Strategia przeciwdziałania uodparnianiu się chabru bławatka i miotły zbożowej na herbicydy”, „Strategia przeciwdziałania odporności grzybów rodzaju *Oculimacula* spp powodujących łamliwość źdźbła i *Cercospora beticola* wywołującego chwościka buraków na fungicydy”.

Należy podkreślić, iż opisane, osiągnięte cele nie są i nigdy nie będą całkowicie zrealizowane. Dynamika zjawiska powoduje bowiem, iż uzyskiwane w tej dziedzinie wiedzy wyniki są aktualne w czasie rzeczywistym i konkretnym miejscu, mogą się zmieniać i dlatego wymagają ciągłej kontynuacji.

Znaczenie dla praktyki rolniczej i służb państwowych

Eliminacji skutków odporności nie można raz na zawsze osiągnąć, a jedynym właściwym rozwiązaniem jest stały monitoring tego zjawiska i opracowywanie, na jego podstawie, zaleceń mających na celu minimalizację skutków omawianego zjawiska. Odporność jest zjawiskiem dynamicznym, stale ulegającym zmianom, zanikającym bądź nasilającym się w różnych okresach czasu, w odniesieniu do różnych gatunków agrofagów i dotyczącym różnych substancji aktywnych. Dlatego ciągły monitoring zjawiska, będący podstawą opracowywania strategii antyodpornościowych, jest elementem niezbędnym dla zapewnienia bezpieczeństwa polskiego rolnictwa i właściwej realizacji programów integrowanej ochrony roślin. Odbiorcami wyników są producenci i doradcy rolni oraz służby państwowe. Przekaz wiedzy na temat odporności do praktyki

rolniczej pozwala na stosowanie środków, na które odporność nie została jeszcze wykształcona oraz na podejmowanie działań mających na celu zapobieganie wystąpieniu tego zjawiska. Uzyskiwany dzięki tym działaniom wzrost świadomości służb doradczych oraz rolników, istotnie wpływa na poprawę jakości i ilości produkcji roślinnej w Polsce.

Zadanie 1.4. „Adaptacja do polskich warunków i upowszechnianie systemów wspomagających decyzje o ochronie roślin” (kierownik: dr hab. Anna Tratwal)

Cel zadania:

Celem zadania jest wdrażanie i upowszechnianie systemów wspomagania decyzji w prognozowaniu krótkoterminowym zabiegów ochrony roślin, w realizowaniu zasad dobrej praktyki ochrony roślin i integrowanej ochrony roślin, która zakłada stosowanie środka ochrony roślin w optymalnym terminie.

Efekty/najważniejsze osiągnięcia realizacji zadania:

Zaraza ziemniaka – wdrażanie systemu NegFry:

Model prognostyczny dostarcza użytkownikom informacji o spodziewanym terminie wystąpienia pierwszych w sezonie objawów chorobowych zarazy ziemniaka. Tym samym pozwala na podjęcie w odpowiednim czasie decyzji o potrzebie zastosowania środka ochrony roślin. W ramach zadania w latach 2011-2015:

1. zainstalowano automatyczne polowe stacje meteorologiczne w TSD: Toruń, Rzeszów i Białystok;
2. przeszkolono pracowników odpowiedzialnych za obsługę stacji meteorologicznej i programu NegFry w TSD: Toruń, Rzeszów i Białystok, służącego do sygnalizowania zabiegów przeciwko zarazie ziemniaka na ziemniakach;
3. w ramach rozbudowy internetowego systemu wspomagającego podejmowanie decyzji w ochronie ziemniaka przed *Phytophthora infestans* przeszkolono ogółem 280 osób obsługujących polowe stacje meteorologiczne zakupione przez: Zakłady Przemysłu Ziemniaczanego w Pile „ZETPEZET” Spółka z o.o. - w 10 miejscowościach, Wielkopolski Ośrodek Doradztwa Rolniczego - w 37 miejscowościach oraz przez Zrzeszenie Plantatorów i Producentów Ziemniaków w Luboniu - w jednej miejscowości;
4. uruchomiono przesyłanie i pobieranie danych meteorologicznych na i z serwera ftp IOR – PIB w Poznaniu oraz podłączono do systemu internetowego obliczającego prognozę negatywną z polowych stacji meteorologicznych.

Najważniejszym osiągnięciem zadania jest rozbudowa internetowego systemu wspomagającego podejmowanie decyzji w ochronie ziemniaka przed *Phytophthora infestans*, szkolenie doradców i producentów rolnych w zakresie obsługi systemu NegFry oraz porównanie liczby zabiegów, plonu i kosztów ochrony prowadzonej rutynowo z ochroną realizowaną na podstawie wyników działania systemu NegFry, który w latach badań okazał się korzystniejszy dla środowiska i opłacalny dla producentów ziemniaka.

Choroby zbóż pochodzenia grzybowego:

Pszenica ozima i jara – PC-Plant Protection

1. przeprowadzono doświadczenia w celu weryfikacji systemu PC-Plant Protection i wdrożenia do praktyki zmodyfikowanego systemu wspomagającego podjęcie decyzji o zwalczaniu najważniejszych chorób pszenicy w Polsce;
2. zmodyfikowano i wdrożono do praktyki, we współpracy z informatykiem, program PC-Plant Protection w PSD IOR—PIB Winna Góra i SD IUNG—PIB Baborówko. Przygotowano materiały do współpracy z informatykiem w zakresie upowszechniania opracowanego i zamieszczonego na stronie internetowej IOR – PIB programu PC-Plant Protection do ochrony pszenicy ozimej i jarej oraz w wybranych gospodarstwach demonstracyjnych Wielkopolskiego

Ośrodka Doradztwa Rolniczego w Poznaniu. Omówiono zasady współpracy i przeprowadzono odpowiednie szkolenia.

Jęczmień ozimy – wybór systemu spośród: EpiPRE, MetPole i Kentucky Decision Guide

1. przeprowadzono badania pod kątem oceny skuteczności systemów: EpiPRE, MetPole i Kentucky Decision Guide, wspomagających podejmowanie decyzji o zwalczaniu mączniaka prawdziwego zbóż na jęczmieniu ozimym, w celu wyboru najlepszego i wdrożenia go do praktyki. We współpracy z informatykiem opracowywano aplikację komputerową do wspomagania podjęcia decyzji o ochronie jęczmienia ozimego przed mączniakiem prawdziwym zbóż i traw na podstawie zmodyfikowanego systemu, który wykazywał się najlepszą trafnością w wyznaczaniu terminu zabiegu. Trwa współpraca z informatykiem w zakresie modyfikowania wdrażanego programu ochrony jęczmienia ozimego przed mączniakiem prawdziwym zbóż i traw;
2. przygotowano i przekazano materiały do współpracy z informatykiem w zakresie upowszechniania opracowanej i zamieszczonej na stronie internetowej IOR – PIB aplikacji komputerowej – wdrażanego systemu doradczego do ochrony jęczmienia ozimego przed mączniakiem prawdziwym zbóż w wybranych gospodarstwach demonstracyjnych Wielkopolskiego Ośrodka Doradztwa Rolniczego w Poznaniu. Przeprowadzono szkolenia w zakresie obsługi.

Szkodniki owadzie roślin rolniczych:

1. przeprowadzono badania polegające na monitorowaniu rolnic, we współpracy z firmą Pfeifer & Langen Polska S.A., na 13 wybranych plantacjach buraka cukrowego w województwie wielkopolskim i dolnośląskim, w celu weryfikacji prognozowanego terminu chemicznego zwalczania rolnic;
2. opracowano program komputerowy do prognozowania krótkoterminowego rolnic z wykorzystaniem opracowanej wcześniej sumy ciepła i sumy temperatur efektywnych, który został udostępniony w roku 2012 na stronie internetowej IOR – PIB;
3. przygotowano i przekazano informatykowi niezbędne materiały (opracowane równanie regresji z dokładnym opisem i przykładami zastosowania), w celu opracowania programu komputerowego do prognozowania krótkoterminowego skrzypionek;
4. opracowano program komputerowy do prognozowania krótkoterminowego skrzypionek, który został wdrożony w Baborówku i udostępniony na stronie internetowej IOR – PIB.

Znaczenie dla praktyki rolniczej i służb państwowych:

Efektom realizacji zadania jest dostarczenie rolnikom i doradcom rolnym możliwości korzystania z funkcjonalnych systemów wspomagania decyzji. Systemy wspomagania decyzji oraz programy komputerowe do prognozowania agrofagów są udostępniane na stronie internetowej IOR-PIB, a także upowszechniane przez artykuły w czasopiśmie popularno-naukowym i prezentowane na konferencjach naukowych. Systemy te są użytkowane przez doradców oraz producentów rolnych. Stanowią one niezbędne narzędzie w realizowaniu zasad dobrej praktyki ochrony roślin i integrowanej ochrony roślin, która zakłada stosowanie środka ochrony roślin w optymalnym terminie. Odbiorcami wyników jest również Państwowa Inspekcja Ochrony Roślin i Nasiennictwa oraz Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

Systemy wspomagające podejmowanie decyzji umożliwiają ograniczenie liczby zabiegów, przy jednoczesnym zabezpieczeniu skutecznej ochrony roślin uprawnych. Założenia te zapewniają ochronę konsumentów i środowiska naturalnego oraz podnoszą poziom ochrony roślin. Uwzględniają również założenia Krajowego Planu Działania na rzecz ograniczenia ryzyka związanego ze stosowaniem środków ochrony roślin na lata 2013-2018, który zakłada „budowę informatycznej platformy internetowej poświęconej tematyce integrowanej ochrony roślin, na której zostaną udostępnione systemy wspomagania decyzji oraz wszelkie dostępne opracowania naukowe dotyczące ochrony roślin”.

**Zadanie 1.5. „Modernizacja i aktualizacja metodyk do monitorowania agrofagów dla potrzeb krótko i długoterminowego ich prognozowania”
(kierownik: dr hab. Anna Tratwal)**

Cel zadania:

Celem zadania jest opracowanie i doskonalenie metodyk obserwacji polowych dla prawidłowego prognozowania agrofagów w oparciu o literaturę i najnowsze wyniki badań. Aktualizowane metodyki umożliwiają doradcom i producentom praktyczne wykorzystanie najnowszych wyników badań ułatwiających diagnostykę agrofagów, wyznaczanie optymalnego terminu zabiegu chemicznego i racjonalne stosowanie środków ochrony roślin.

Efekty/najważniejsze osiągnięcia realizacji zadania:

1. przeprowadzono badania uzupełniające w warunkach polowych i opracowano metodyki w formie aneksów do instrukcji oraz dwie ulotki dla agrofagów będących zagrożeniem dla roślin zbożowych, które zostały także zamieszczone na stronie internetowej IOR – PIB:
 - niezmiarki paskowanej (*Chlorops pumilionis*),
 - skoczka sześciorka (*Macrostelus laevis*),
 - paciornicy pszenicznej (*Contarinia tritici* Kirby),
 - pryszczarka pszenicznego (*Sitodiplosis mosellana* Gerh.),
 - pryszczarka liściowca (*Dasyneura marginemtorquens*),
 - rdzy wierzby (*Melampsora larici-epitae*),
 - mszycy grochowiarki (*Acyrtosiphon pisum*);
2. opracowano ulotki dla rolników:
 - paciornicy pszenicznej (*Contarinia tritici* Kirby),
 - pryszczarka pszenicznego (*Sitodiplosis mosellana* Gerh.);
3. udoskonalono metodykę mszycy burakowej i udostępniono w publikacji pt. „Poradnik sygnalizatora ochrony buraka”;
4. opracowano i wydrukowano broszurę upowszechnieniową pt. „Metodyki ochrony ziemniaka i buraka przed mszycami (*Aphididae*)”, która została także zamieszczona na stronie internetowej IOR – PIB w Poznaniu;
5. opracowano metodykę w formie materiałów szkoleniowych dotyczącą opracowania metod monitorowania wybranych chorób i szkodników zbóż (fuzariozy, sporyszu i wybranych agrofagów kwarantannowych w państwach importujących zboża z Polski, tj.: śnieci cuchnącej pszenicy (*Tilletia caries* (DC.) Tul. & C. Tul.), śnieci karłowej pszenicy (*Tilletia controversa* G. Kühn) i głowni liściowej pszenicy (*Urocystis agropyri* (Preuss)).

Znaczenie dla praktyki rolniczej i służb państwowych:

Opracowywane i doskonalone metodyki są niezbędnym elementem przy realizowaniu integrowanej ochrony roślin, a pośrednio integrowanej produkcji roślinnej.

Uzyskane wyniki służą producentom i doradcom rolnym do przeprowadzania obserwacji polowych, dla potrzeb prognozowania krótkoterminowego agrofagów. Aktualizowane metodyki umożliwiają praktyczne wykorzystanie najnowszych wyników badań, które mają ułatwić diagnostykę agrofagów, wyznaczanie optymalnego terminu zabiegu chemicznego i racjonalne stosowanie środków ochrony roślin. Odbiorcami wyników jest również Państwowa Inspekcja Ochrony Roślin i Nasiennictwa oraz Ministerstwo Rolnictwa i Rozwoju Wsi.

**Zadanie 1.6. „Upowszechnianie i wdrażanie wiedzy o integrowanej ochronie roślin”
(kierownik: dr Paweł Olejarski)**

Cel zadania

Celem zadania było upowszechnianie wiedzy o integrowanej ochronie roślin, zgodnie z najważniejszymi aktami prawa krajowego i międzynarodowego oraz wdrożenie jej do praktyki rolniczej przez producentów rolnych, doradców i inspektorów ochrony roślin i nasiennictwa.

Efekty/najważniejsze osiągnięcia realizacji zadania

- 1) nawiązano dwustronną współpracę Instytutu z kadrą doradców wybranych wojewódzkich ośrodków doradztwa rolniczego;
- 2) systematycznie upowszechniano szczegółową wiedzę na temat integrowanej ochrony roślin uprawnych, z uwzględnieniem przepisów prawa krajowego i międzynarodowego, osobom bezpośrednio zaangażowanym w jej wdrażanie do praktyki rolniczej;
- 3) opracowano i upowszechniano literaturę fachową na temat integrowanej ochrony roślin;
- 4) integrowano pracowników ośrodków doradztwa rolniczego, doradców prywatnych, inspektorów wojewódzkich inspektoratów ochrony roślin i nasiennictwa, producentów rolnych, kadrę nauczycielską oraz specjalistów reprezentujących różne jednostki naukowe;
- 5) zorganizowano 20 szkoleń, w których wzięło udział ponad 1600 osób z całej Polski. Największą grupę przeszkolonych osób stanowili doradcy rolni, producenci oraz inspektorzy PIORiN. Wszyscy uczestnicy szkoleń otrzymali materiały upowszechnieniowe dotyczące integrowanej ochrony różnych gatunków upraw rolniczych oraz zaświadczenia o uczestnictwie w szkoleniu.

Znaczenie dla praktyki rolniczej i służb państwowych

W procesie rozwoju obszarów wiejskich bardzo istotną rolę odgrywa odpowiednio wysoki poziom wiedzy doradców i producentów rolnych. Jak dotychczas najlepszym narzędziem edukacji są bezpośrednie spotkania ze specjalistami na szkoleniach, w trakcie których jest okazja do dyskusji na wszystkie nurtujące to środowisko problemy. Realizowane zadanie pozwoliło na ich ustawiczne, wielopoziomowe szkolenie w zakresie wdrażanych do praktyki rolniczej zasad integrowanej ochrony roślin.

Efektym praktycznym szkoleń przeprowadzonych w ramach realizowanego zadania było wyposażenie doradców, producentów rolnych i inspektorów PIORiN w odpowiednią wiedzę praktyczną oraz materiały pomocnicze mające im pomóc w podejmowaniu decyzji o celowości, terminie i rodzaju wykonywanych zabiegów ochrony roślin, zgodnie z najnowszymi przepisami prawa.

Mechanizmy promocji osiągnięć realizacji zadania

Przeprowadzono 20 szkoleń i wydano 20 publikacji w formie materiałów szkoleniowych oraz jedną publikację popularno-naukową.

Zadanie 1.7 „Opracowanie podstaw statystycznych działań kontrolnych Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa” (kierownik: dr Kazimierz Waleczek)

Celem zadania było opracowanie podstaw statystycznych kontroli prowadzonych przez PIORiN (kontrola jakości, kontrola pozostałości i kontrola stosowania środków ochrony roślin) zapewniających wiarygodność wyników i wysoką wykrywalność nieprawidłowości, a także przedstawienia statystycznych podstaw wnioskowania o stanie fitosanitarnym kraju w zakresie występowania organizmów szkodliwych podlegającym regulacjom prawnym.

W wyniku realizacji zadania opracowano systemy kontroli jakości, pozostałości i stosowania środków, oparte na wspólnym założeniu, że kontrole te powinny mieć zarówno charakter monitoringowy, jak i prewencyjny, czyli pozwalać na ocenę statystyczną sytuacji, jak i na wykrywanie jak największej liczby nieprawidłowości we wszystkich kontrolowanych obszarach. Opracowano również program obliczeniowy pozwalający na statystyczną ocenę rezultatów kontroli fitosanitarnej oraz na planowanie liczby kontroli umożliwiającej wnioskowanie z wymaganą

wiarygodnością o występowaniu organizmów szkodliwych. Ukierunkowanie kontroli na obszary o zwiększonym nasileniu nieprawidłowości wymagało corocznego gromadzenia i przetwarzania wyników kontroli uzyskanych w roku poprzednim, co zostało zrealizowane w utworzonych w tym celu bazach danych.

Kontrola jakości środków ochrony roślin

Oferowane na rynku środki podzielono na charakterystyczne grupy w zależności od rodzaju zezwolenia, rodzaju środka i rodzaju formułacji. Rozdział liczby kontroli możliwych do zrealizowania w danym roku na utworzone grupy zrealizowano w oparciu o dwie podstawowe wagi: W1 - od wielkości sprzedaży środków z poszczególnych grup (waga o charakterze monitoringowym) i W2 - od względnej liczby wykrytych nieprawidłowości w stosunku do liczby kontroli (waga o charakterze prewencyjnym). W wytycznych kontroli jakości na rok 2015 uwzględniono dodatkowo wagę W3 - od liczby sprzedawanych i nowo zarejestrowanych preparatów w poszczególnych grupach, poprawiającą skuteczność kontroli zarówno w zakresie monitoringu jak i prewencji. Zastosowanym wagom przyznano jednakową siłę – po 1/3. Rozdział na województwa liczby kontroli wyznaczonej dla danej grupy dokonywany jest w oparciu o liczbę punktów sprzedaży, zużycie śor oraz sumaryczną powierzchnię uprawianą w danym województwie. Zaproponowany i sukcesywnie udoskonalany system kontroli został zastosowany przez PIORiNw latach 2012-2015.

Kontrola pozostałości środków ochrony roślin

Problemem do rozwiązania w tym obszarze kontroli było zoptymalizowanie rozdziału rocznej liczby kontroli na poszczególne uprawy. Do rozdziału zastosowano pięć wag, którym w uzgodnieniu z PIORiN przypisano różną siłę: W1 (siła 0,2) - od liczby plantacji w poszczególnych uprawach, W2 (siła 0,25) – od względnej liczby wykrytych pozostałości substancji czynnych, W3 (siła 0,3) – od względnej liczby wykrytych nieprawidłowości, W4 (siła 0,15) - od jednostkowego (na ha) zużycia śor, W5 (siła 0,1) – od wielkości eksportu poza kraje UE. Wagi W1, W4 i W5 ukierunkowują kontrolę na monitoring, a wagi W2 i W3 na prewencję. Rozdział liczby próbek wyznaczonej dla danej uprawy na poszczególne województwa został przeprowadzony proporcjonalnie do liczby plantacji tej uprawy w poszczególnych województwach. Zaproponowany system kontroli został zastosowany przez PIORiN w latach 2013-2015.

Kontrola stosowania środków ochrony roślin

Zgodnie z wymogami PIORiN zastosowano rozdział planowanej rocznej liczby kontroli na grupy uprawowe (orne, warzywnicze i sadownicze), przy czym zaproponowano podział każdej z grup na trzy przedziały obszarowe tworząc tym samym dziewięć obszarów kontroli. Zaplanowano rozdział liczby kontroli na poszczególne obszary w oparciu o cztery wagi: W1 – od liczby gospodarstw w poszczególnych grupach uprawowych i przedziałach obszarowych, W2 – od jednostkowego zużycia śor w poszczególnych grupach uprawowych, W3 – od średniej wielkości upraw w poszczególnych grupach uprawowych i przedziałach obszarowych oraz W4 – od względnej liczby wykrytych nieprawidłowości. Rozdział liczby kontroli na województwa został przeprowadzony proporcjonalnie do liczby gospodarstw z danej grupy uprawowej i przedziału obszarowego w poszczególnych województwach. Rok 2014 był pierwszym rokiem funkcjonowania systemu, w którym ze względu na brak danych dokonano rozdziału liczby kontroli jedynie w oparciu o wagi W1 ÷ W3 oraz zebrano dane o względnej liczbie nieprawidłowości w poszczególnych grupach uprawowych i przedziałach obszarowych. W 2015 r. uwzględniono po raz pierwszy wagę W4, ukierunkowując kontrolę na obszary zagrożone. Ostatecznie w uzgodnieniu z PIORiN wagom przypisano następującą siłę: W1 – 0,25, W2 – 0,25, W3 – 0,3, W4 - 0,2.

Program do oceny i planowania kontroli fitosanitarnej

Opracowany program pozwala na statystyczną ocenę rezultatów przeprowadzonej kontroli fitosanitarnej oraz na planowanie liczby kontroli pod kątem wymaganej statystycznej

wiarygodności i dokładności wyników. W obu tych obszarach program pozwala na przyjęcie dowolnego poziomu ufności wyników (zazwyczaj jest to 95% lub 99%) oraz na wyznaczenie poziomu występowania organizmu szkodliwego w populacji wraz z określeniem dokładności wyniku. Program pozwala również na zaplanowanie liczby kontroli w przypadku konieczności wykazania braku zagrożenia danym organizmem szkodliwym na określonym terenie. Wykorzystuje się tu elementy rachunku prawdopodobieństwa w oparciu o rozkład Poissona lub rozkład hipergeometryczny

Zadanie 1.8. „Badania pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych” (kierownik: prof. dr hab. Bogusław Gnusowski)

Celem zadania było sprawdzenie poziomu pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych. Zadanie jest wykonywane na potrzeby urzędowych kontroli przestrzegania obowiązujących przepisów prawnych w zakresie stosowania środków ochrony roślin prowadzonych przez PIORiN.

Z odpowiednich wojewódzkich inspektoratów ochrony roślin i nasiennictwa otrzymano 5613 próbek do badań pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych pochodzących z produkcji pierwotnej oraz 24 próbki wód powierzchniowych, na podstawie których:

- 1) oceniano przestrzeganie przez producentów płodów rolnych postanowień art. 55 rozporządzenia nr 1107/2009 oraz rozporządzenia nr 396/2005. Mają one być podstawą stosowania sankcji wobec naruszających te przepisy. W 1414 próbkach (25,2%) spośród 5613 badanych próbek wykryto pozostałości środków ochrony roślin. Wykryto 88 spośród 363 oznaczanych związków (48 fungicydów, 32 insektycydy i 8 herbicydów). Pozostałości wykrywano w próbkach przypraw (85,7%), owoców (44,1%), nasion i owoców oleistych (21,9%) oraz roślinach paszowych (20,0%). Pozostałości środków ochrony roślin najczęściej wykrywano w: nasionach kminku (85,7%); owocach agrestu (78,9%), porzeczek (53,8%), jabłek (52,7%), borówki (50,0%) i gruszek (48,4%). Najczęściej wykrywano difenokonazol w agrestie (36,8%), ditiokarbaminiany w porzeczkach (32,2%), pirymetanol w malinie (31,9%), chloropiryfos w marchwii (31,5%), boskalid w malinie (29,8%), linuron w selerze (23,8%), ditiokarbaminiany w agrestie (23,7%) oraz boskalid w truskawce (20,9%). Przekroczenia najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości stwierdzono w 62 próbkach (1,1%), a stosowanie związków niedopuszczonych do stosowania stwierdzono w 304 próbkach (5,4%). W 38 próbkach (0,7%) stwierdzono zarówno przekroczenia najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości środków ochrony roślin, jak i znaleziono pozostałości środków ochrony roślin niedopuszczonych do ochrony uprawy. Spośród próbek wody oznaczono pozostałości 249 związków - 110 insektycydów, 83 fungicydów i 56 herbicydów i regulatorów wzrostu; ogółem wykryto 22 spośród 249 badanych związków, w tym 16 herbicydów, 3 fungicydy i 3 insektycydy. W żadnej próbce nie stwierdzono przekroczeń maksymalnych dopuszczalnych stężeń;
- 2) uzyskano informacje o wykryciu przekroczeń najwyższych dopuszczalnych poziomów pozostałości lub wykryciu substancji aktywnych niedopuszczonych do ochrony uprawy; informacje o wykryciu przekroczeń były wysyłane do odpowiednich wojewódzkich inspektoratów ochrony roślin i nasiennictwa; były to powiadomienia w ramach systemu wczesnego ostrzegania o niebezpiecznej żywności (RASFF), zgodnie z wymaganiami unijnymi - rozporządzeniem nr 178/2002 oraz rozporządzeniem Komisji (UE) nr 16/2011 z dnia 10 stycznia 2011 r. ustanawiającym środki wykonawcze dla systemu wczesnego ostrzegania o niebezpiecznych produktach żywnościowych i środkach żywienia zwierząt (Dz. Urz. UE L 6 z 11.01.2011, str. 7), a w Polsce – z ustawą z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia; łącznie przekazano 323 powiadomienia. Raporty z prowadzonych krajowych badań pozostałości środków ochrony roślin w ilości 5613 przekazano do Wojewódzkich Inspektoratów Ochrony Roślin i Nasiennictwa. Dane zawarte

w raportach zostały wykorzystane do oceny jakości polskich produktów rolnych, przez co stanowiły wsparcie polskiego eksportu do państw członkowskich Unii Europejskiej i innych państw. Raporty, oprócz informacji o występujących skażeniach, zawierają również oceny prawidłowości stosowania środków ochrony roślin w badanych uprawach. W incydentalnych przypadkach raporty stanowiły podstawę do egzekwowania przepisów od producentów przez wojewódzkie inspektoraty ochrony roślin i nasiennictwa oraz uruchamiania procedury powiadamiania zgodnie z systemem wczesnego ostrzegania o niebezpiecznych produktach żywnościowych i środkach żywienia zwierząt (RASFF). Łącznie przekazano 323 powiadomienia informacyjne. Uzyskane rezultaty pozwalają w porę identyfikować pojawiające się problemy i usprawnić nadzór nad prawidłowym stosowaniem pestycydów w ochronie roślin.

Zadanie 1.9. „Wykonywanie analiz jakości substancji aktywnych i środków ochrony roślin” (kierownik: dr Marek Miszczyk)

Podsumowanie realizacji w roku 2015

Przedmiotem badań są środki ochrony roślin pobierane przez inspektorów PIORiN na terenie całego kraju zgodnie ze specjalnym programem. Program ten powstał na skutek opracowania w ramach PW 1.7. systemu poboru próbek, opartego na analizie statystycznej dotychczas uzyskanych rezultatów i ukierunkowanego na wykrywanie nieprawidłowości. Program poboru próbek na rok 2015 został przedstawiony i przedyskutowany z GIORiN oraz zatwierdzony przez Głównego Inspektora PIORiN do realizacji. Założono, że pobrane zostanie 260 próbek w ramach kontroli podstawowej w rozbiciu na 14 grup, oraz 40–50 próbek w ramach kontroli interwencyjnej.

Stan poboru próbek na dzień 10.11.2015 przedstawia się następująco:

- Kontrola podstawowa – pobrano 255 próbek,
- Kontrola interwencyjna – pobrano 41 próbek,
- Razem pobrano: 296 próbek.

Do dnia 10.11.2015 wykonano:

- Kontrola podstawowa: 222 próbki,
- Kontrola interwencyjna: 36 próbek,
- Razem: 258 próbek z zakończonymi wynikami badań (co stanowi 87,2%).

Wiele analiz jest na ukończeniu lub w stopniu dużego zaawansowania.

Rodzaj kontroli	Liczba próbek pobrana przez WIORiN	Liczba próbek w trakcie analiz	Liczba próbek z wystawionymi atestami	Liczba atestów negatywnych
Podstawowa	255	33	222	11
Interwencyjna	41	5	36	28

Ilość negatywnych atestów wydanych do 10.11.2015 (39) jest porównywalna w stosunku do ilości (38) z roku 2014.

Trwają prace nad modernizacją informatycznego systemu zarządzania realizacją zadania. Funkcjonuje wdrożona w 2014 roku nowa forma atestu analitycznego składającego się z dwóch części – pierwszej z wynikami i zastosowanymi metodami i drugiej z komentarzem dotyczącym orzeczenia umożliwiającym podjęcie przez inspektorów dalszych działań odnośnie partii towaru reprezentowanego przez analizowane próbki.

Punkt 4 tegorocznego planu przedmiotowego zadania dotyczy wykonania „pogłębionej” analizy ś.o.r. dla trzech wybranych przypadków. Są to:

Golden Clopyralid 300 SL nr sprawy 171/2015/K/1

Środek ochrony roślin został wytypowany do szczegółowego badania z uwagi na rodzaj pozwolenia na dopuszczenie do obrotu na terenie RP (Handel równoległy) i związaną tym dużą liczbą nieprawidłowości odnotowywaną w tym obszarze. Zakres badań dla pobranej w bieżącym roku próbki środka Golden Clopyralid 300 SL obejmuje wykonanie następujących oznaczeń:

1. Oznaczenie zawartości substancji czynnej – chlopyralidu.
2. Oznaczenie gęstości.
3. Oznaczenie zawartości trzech zanieczyszczeń substancji czynnej.
4. Oznaczenie zawartości dwóch koformulantów.
5. Przeprowadzenie organoleptycznej oceny próbki.
6. Analiza porównawcza przeprowadzona przy pomocy techniki: HPLC UV DAD.

Wszystkie badania zostały już zakończone, a ich wyniki w odniesieniu do zawartości zanieczyszczeń substancji czynnej, zawartości koformulantów, oceny organoleptycznej oraz analizy porównawczej wykazują brak zgodności z danymi ustalonymi w procesie rejestracji środka referencyjnego (Lontrel 300 SL) oraz brak identyczności w stosunku do środka referencyjnego. Identyczność ze środkiem referencyjnym jest obligatoryjna dla ś.o.r. objętych handlem równoległym.

Decis Mega 50 EW nr sprawy 170/2015/K/5

Środek ochrony roślin pobrany został w ramach kontroli podstawowej i wytypowany do pogłębionego badania celem kontroli zawartości wybranych koformulantów. Zakres badań obejmuje wykonanie następujących oznaczeń:

1. Oznaczanie zawartości substancji czynnej – deltametryny.
2. Oznaczanie zawartości wybranych trzech koformulantów.
3. Oznaczenie pH.
4. Oznaczenie gęstości.
5. Oznaczenie stabilności zawiesiny wodnej.
6. Analiza porównawcza przeprowadzona techniką GC/MS.
7. Oznaczenie trwałości piany.

Część laboratoryjna badań została zakończona.

Chlorop-Pro 480 EC nr sprawy 210/2015/K/1

Środek ochrony roślin został wytypowany do szczegółowego badania z uwagi na rodzaj pozwolenia na dopuszczenie do obrotu na terenie RP (Handel równoległy) i związaną z tym dużą liczbą nieprawidłowości odnotowywaną w tym obszarze. Zakres badań dla pobranej w bieżącym roku próbki środka Chlorop-Pro 480 EC obejmuje wykonanie następujących oznaczeń:

1. Oznaczenie zawartości substancji czynnej – chloropiryfosu
2. Oznaczenie zawartości zanieczyszczenia substancji czynnej – sulfotepu
3. Oznaczenie pH
4. Oznaczenie gęstości
5. Oznaczenie stabilności emulsji wodnej
6. Oznaczenie trwałości piany
7. Analiza porównawcza przeprowadzona technikami GC/MS i HS-GC/MS

Część laboratoryjna badania została zakończona.

Realizacja całego zadania przebiega planowo i zostanie ono zrealizowane w 100% do dnia 31.12.2015.

Podsumowanie realizacji w latach 2011-2014

Zadanie ma na celu sprawdzenie, czy środki ochrony roślin znajdujące się w obrocie handlowym w Polsce są dobrej jakości i czy spełniają wymagania określone w procesie ich rejestracji. Badania wykonuje się na potrzeby urzędowych kontroli jakości środków prowadzonych przez PIORiN.

Ogółem w latach 2011-2014 przeanalizowano 1283 próbki środków ochrony roślin pobranych przez Wojewódzkie Inspektoraty PIORiN, kończąc badania sporządzeniem atestów analitycznych, które stanowią podstawę podjęcia decyzji administracyjnej odnośnie towaru reprezentowanego przez analizowane próbki. W liczbie 1283 analizowano 212 próbek pobranych w ramach kontroli interwencyjnej. Poważne nieprawidłowości stwierdzono w 149 próbkach co stanowi 11,6% ogółu analizowanych próbek. Największy odsetek nieprawidłowości notuje się w grupie analiz interwencyjnych. Główne nieprawidłowości to niespełnianie wymagań jakościowych oraz fałszerstwa i inne przypadki nielegalnego towaru. Specjalną kontrolą objęto środki pochodzące z handlu równoległego. W latach 2011-2014 ogółem przebadano 272 próbek środków ochrony roślin z handlu równoległego. Próbki pochodziły z kontroli podstawowej oraz interwencyjnej. Nieprawidłowości wykazano w 62 przypadkach, co stanowi 22,8% ogółu. Wydana ilość negatywnych atestów analitycznych wskazuje, że w tej grupie środków występuje szczególnie duży odsetek nieprawidłowości. Od 2013 roku w ramach kontroli podstawowej realizowana jest kontrola ś.o.r. z opakowań powyżej 5l/kg. Próbki tych środków pobierane są przez inspektorów PIORiN przy udziale pracowników IOR-PIB Oddział Sośnicowice. W latach 2013 – 2014 przebadano 45 próbek środków z opakowań powyżej 5l/kg. Nie stwierdzono poważnych nieprawidłowości w tym obszarze.

Ważnym elementem zadania jest opracowywanie i doskonalenie metod analitycznych. Ze względu na stosunkowo dużą skalę zjawiska występowania na rynku sfalszowanych środków ochrony roślin pojawiła się konieczność opracowania szybkiej i taniej metody weryfikacji pochodzenia próbek środków ochrony roślin. W Laboratorium Badania Jakości Środków Ochrony Roślin (LBJŚOR) zaczęto stosować w tym celu metody porównawcze. Metody te wykorzystują wyniki analiz tzw. preparatów referencyjnych (dostarczonych za pośrednictwem GIORiN od producenta oryginalnych środków, wraz z certyfikatami potwierdzającymi ich pochodzenie i jakość). W LBJŚOR opracowano kryterium pozwalające na porównywanie obrazów chromatograficznych preparatu oryginalnego i badanej próby środka ochrony roślin. Uzyskane wyniki badań świadczą, że opracowane w LBJŚOR metody porównawcze są skutecznym narzędziem do weryfikacji oryginalnego pochodzenia badanych prób środków. W latach 2011-2014 w badaniach jakości środków ochrony roślin zaczęto stosować technikę chromatografii gazowej ze spektrometrią mas sprzężoną z techniką analizy fazy nadpowierzchniowej (headspace). Technika ta umożliwia analizę lekkich frakcji formulacji i jest stosowana zarówno w badaniach porównawczych jak i badaniach mających na celu identyfikację składników form użytkowych środków ochrony roślin.

Rezultaty i zagadnienia związane z realizacją zadania 1.9 za lata 2011-2014 były prezentowane w ramach:

- 4. międzynarodowych spotkań ekspertów z Europy Centralnej i Wschodniej związanych ze środkami ochrony roślin (XV, XVI, XVII Ceureg Forum),
- 6. szkoleń dla pracowników PIORiN, ODR, Izb Celnych, Policji, indywidualnych producentów rolnych, Polskiego Towarzystwa Toksykologicznego, firmy Dupont,
- 1. seminarium zorganizowanym przez IOR-PIB Poznań,
- 1. wykładu dla studentów Studiów Podyplomowych Instytutu Ochrony Roślin – PIB w Zakresie Integrowanej Ochrony Roślin w Integrowanej i Ekologicznej Produkcji Roślin,
- 1. wykładu dla studentów i pracowników naukowych Uniwersytetu Yerevan, Armenia,
- 1. komunikatu posterowego prezentowanego na 57 Zjeździe Naukowym Polskiego Towarzystwa Chemicznego i Stowarzyszenia Inżynierów i Techników Przemysłu Chemicznego,
- 2. komunikatów posterowych prezentowanych na 54 Sesji Naukowej IOR-PIB,
- 1. artykułu popularnonaukowego, opublikowanego w czasopiśmie „Przedsiębiorca Rolny”.

Badania jakościowe środków ochrony roślin w ramach urzędowej kontroli mają charakter niezależnych ekspertyz niezbędnych dla prawidłowej realizacji kontroli przez PIORiN. Atesty

analityczne przekazywane do inspekcji są ekspertyzami i stanowią wdrożenie i upowszechnianie wyników realizacji zadania.

**Zadanie 1.10. „Analiza danych uzyskanych podczas monitorowania sprzedaży i zużycia środków ochrony roślin oraz opracowanie wskaźników ryzyka związanego ze stosowaniem tych środków”
(kierownik: mgr Wojciech Śliwiński)**

Prowadzenie monitoringu sprzedaży i zużycia środków ochrony roślin jest istotnym elementem analizy ryzyka związanego ze stosowaniem środków ochrony roślin i ich wpływem na środowisko naturalne. Celem zadania była coroczna agregacja i analiza statystyczna uzyskiwanych danych, która jest niezbędna w procesie dalszego wykorzystywania zbieranych danych. W ramach prowadzonych w temacie 1.10 prac, co roku wykonywano agregację danych dotyczących sprzedaży środków ochrony roślin wraz z opracowaniem 8 tabel wynikowych publikowanych na stronach MRiRW. Wyniki przekazywano również w formie raportu pt. „Badanie sprzedaży środków ochrony roślin”.

W monitoringu zużycia środków ochrony roślin utrzymywano internetowy system wprowadzania ankiet przez inspektorów PIORiN do centralnej bazy danych znajdującej się w IOR-PIB O/Sośnicowice. Obliczano zużycie środków ochrony roślin wraz z przygotowaniem sprawozdania RRW-1 dla GUS. Opis wykonywanych prac wraz z analizą wyników umieszczano w „Raporcie z badania zużycia środków ochrony roślin”.

W latach 2012-2015 wykonano oprogramowanie do automatyzacji obliczeń dotyczących sprzedaży środków ochrony roślin oraz program do automatyzacji obliczeń dotyczących zużycia środków ochrony. Oprogramowanie to umożliwia import niezbędnych danych z Rejestru środków ochrony roślin, automatyzuje skomplikowany proces obliczeń oraz generuje niezbędne tablice wynikowe.

Dane dotyczące sprzedaży (lata 2010-2014) i zużycia środków ochrony roślin (monitoring 25 upraw w pięcioletnim cyklu) zostały zgromadzone w bazach danych. Stworzono również bazę danych dla potrzeb raportowania do Eurostat wyników badania zużycia środków ochrony roślin (lata 2010-2014).

Drugim celem zadania 1.10 było przedstawienie propozycji wskaźników ryzyka związanych ze stosowaniem środków ochrony roślin.

Przeprowadzono analizę możliwości wykorzystania wskaźników opartych na modelach matematycznych zawartych w nowej wersji projektu Harmonised Environmental Indicators for Pesticide Risk (HAIR). Przedstawiono postaci wskaźników i sposoby ich wyznaczania dla ryzyka dla środowiska wodnego (wody gruntowe i wody powierzchniowe) i ryzyka zawodowego (operatorzy). Wykonano adaptację i opracowanie testowych niezbędnych narzędzi informatycznych oraz dokonano przykładowych obliczeń wybranych wskaźników z systemu HAIR. W roku 2014 dodatkowo zaprezentowano obliczenia wskaźnika narażenia operatorów oparte na modelu AOEM. Nawiązano również współpracę międzynarodową w dziedzinie wskaźników ryzyka pestycydowego ze specjalistami z Alterra – Holandia, Julius Kühn-Institut – Niemcy oraz członkami grupy roboczej OECD EGPRI.

Równolegle prowadzono pracę związane z analizowaniem krajowych danych związanych ze stosowaniem środków ochrony roślin. Ich celem było zaproponowanie własnych wskaźników ryzyka pestycydowego opartych na istniejących monitoringach prowadzonych przez MRiRW.

Wykonano analizę danych dotyczącą pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych uwzględniając wyniki badań z monitoringu według nowego systemu rozdziału próbek na uprawy i na województwa, opracowanego w marcu 2013 r. w ramach zadania 1.7 Programu Wieloletniego IOR-PIB. Na podstawie zebranych danych o zakresie i wynikach badań laboratoriów prowadzących badania pozostałości środków ochrony roślin na rzecz PIORiN oraz danych o wielkości sprzedaży środków ochrony roślin zaproponowano i obliczono wskaźnik szczegółowy ponadnormatywnych

pozostałości pestycydów w płodach rolnych. W roku 2015 zaproponowano wskaźnik mający obrazować narażenie pestycydowe konsumentów płodów rolnych. We wskaźniku tym uwzględnia się sumaryczną wielkość przekroczeń NDP stwierdzonych w poszczególnych uprawach oraz średnie spożycie danej uprawy w kraju w kg/osoba/dzień.

Kolejnym zaproponowanym wskaźnikiem jest wskaźnik obciążenia pestycydowego wód powierzchniowych. Wskaźnik ten jest wyliczany jako suma stężeń wszystkich substancji czynnych wykrytych podczas monitoringu wód powierzchniowych w danym roku w stosunku do liczby przebadanych próbek z uwzględnieniem jakości badań wynikającej z zakresu badanych substancji czynnych.

Ostatnia zaproponowana grupa wskaźników ma za zadanie zobrazować strukturę sprzedaży środków ochrony roślin pod względem zdefiniowanych zagrożeń dla zdrowia człowieka i środowiska naturalnego zgodnie ze zharmonizowanym systemem klasyfikacji i oznaczania chemikaliów. Określono postać wskaźników wyznaczanych w oparciu o system punktów przyznawany preparatom w zależności od potencjalnych zagrożeń (oddzielnie dla ludzi i dla środowiska naturalnego). Sumaryczna wartość punktów każdego preparatu jest odnoszony do jego udziału w całości sprzedaży. W grupie tej zaproponowano również wskaźnik wskazujący na udział sprzedaży substancji czynnych z listy priorytetowej (Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady) w stosunku do całości sprzedaży substancji czynnych.

Obszar tematyczny 2.: OCHRONA TERYTORIUM RZECZYPOSPOLITEJ POLSKIEJ PRZED PRZEDOSTAWANIEM I ROZPRZESTRZENIANIEM SIĘ ORGANIZMÓW KWARANTANNOYCH I INNYCH ORGANIZMÓW STANOWIĄCYCH SZCZEGÓLNE ZAGROŻENIA.

Zadanie 2.1. „Określenie obszarów potencjalnego występowania kwarantannowego nicienia węgorka sosnowca (*Bursaphelenchus xylophilus*) oraz opracowanie optymalnej strategii zwalczania” (kierownik: prof. dr hab. Marek Tomalak)

W ramach realizacji zadania 2.1 w latach 2011-2015:

1. potwierdzono brak obecności węgorka sosnowca (*Bursaphelenchus xylophilus*) w drzewostanach w Polsce (867 prób drewna z różnych rejonów Polski, w tym 186 zebranych w roku 2015);
2. wykryto i opisano pięć nowych dla nauki gatunków nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus*: (*B. tryphloei*, *B. masseyi*, *B. fagi*, *B. tiliae* i *B. piceae*);
3. wykryto trzy nowe dla Polski gatunki z rodzaju *Bursaphelenchus*: (*B. abietinus*, *B. eggersi* i *B. leoni*);
4. powiększono kolekcje trwałych preparatów mikroskopowych i mikrografii dokumentujących zmienność morfologiczną najważniejszych gatunków *Bursaphelenchus* występujących w drewnie;
5. opracowano i umieszczono w międzynarodowej bazie danych GeneBank sekwencje nowo wykrytych gatunków nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus*;
6. przeprowadzono aktualizację interaktywnego Klucza do oznaczania występujących w Polsce nicieni z rodzaju *Bursaphelenchus* (- dodano 6 nowych gatunków);
7. opracowano prostą metodę oceny występowania larw infekcyjnych *Bursaphelenchus mucronatus* w ciele żywych żerdzianek, bez konieczności przeprowadzania czasochłonnej dysekcji chrząszczy;
8. pozytywnie przetestowano metodę Real-Time PCR dla celów wykrywania kwarantannowego nicienia *Bursaphelenchus xylophilus* w drewnie przy różnych wielkościach dostępnych prób DNA;

9. wykazano przydatność techniki PCR - High Resolution Melting (PCR-HRM) do identyfikacji *Bursaphelenchus xylophilus* na tle innych gatunków z rodzaju *Bursaphelenchus* – opracowano nowe startery reakcji
10. potwierdzono przydatność techniki PCR - Loop Mediated Isothermal Amplification, (LAMP) do identyfikacji *Bursaphelenchus xylophilus* na tle innych gatunków z rodzaju *Bursaphelenchus*;
11. wśród najczęściej występujących w Polsce gatunków drzew iglastych, wykazano wysoką wrażliwość sosny zwyczajnej, istotnie niższą wrażliwość sosny czarnej i modrzewia oraz całkowitą odporność świerka, daglezi i jodły na infekcje *Bursaphelenchus xylophilus*;
12. wykazano istotny wpływ temperatury na śmiertelność 3-letnich siewek sosny inokulowanych różnymi izolatami *B. xylophilus*. Najwyższą patogeniczność wykazały izolaty portugalskie. W temperaturze 24 i 20°C powodowały 90-100% śmiertelności drzewek już w okresie 2-3 miesięcy. W temperaturze 16°C proces ten był wolniejszy, lecz po 6 miesiącach śmiertelność drzewek sięgała 70%, co sugeruje potencjalne zagrożenie również dla drzewostanów w naszej strefie klimatycznej;
13. eksperymentalnie wykazano istotną konkurencyjność środowiskową i reprodukcyjną niektórych, polskich izolatów niepatogenicznego gatunku *Bursaphelenchus mucronatus* w bezpośrednim kontakcie z kwarantannowym szkodnikiem *Bursaphelenchus xylophilus* w drewnie sosny;
14. na podstawie krytycznego przeglądu wyników dotychczasowych badań własnych, danych literaturowych i innych dokumentów, oraz doświadczeń zebranych w trakcie udziału w pracach Grupy Zadaniowej DG SANTE do spraw zwalczania *Bursaphelenchus xylophilus* w Europie, określono najbardziej przydatne procedury monitorowania potencjalnego pojawu oraz zwalczania i/lub ograniczania rozprzestrzeniania *B. xylophilus* w warunkach Polski. Przedstawiono najbardziej krytyczne uwarunkowania biologiczne i ekologiczne dynamiki populacji zarówno szkodliwego nicieni, jak i jego wektora, które mogą mieć znaczenie dla skutecznego przeprowadzania procedur zalecanych przez Decyzję Implementacyjną 2012/535/EU.

Zadanie 2.2. „Określenie zagrożenia występowania i opracowanie programów ograniczania zachodniej kukurydzianej stonki korzeniowej (*Diabrotica virgifera* Le Conte). (kierownik: dr hab. Paweł Bereś, prof. nadzw.)

Celem zadania realizowanego w latach 2011–2015 była aktualizacja istniejącego oraz poszerzenie o nowe zagadnienia programu ograniczania występowania i szkodliwości zachodniej kukurydzianej stonki korzeniowej (*Diabrotica virgifera* Le Conte) na kukurydzy, z wykorzystaniem metod chemicznych i niechemicznych.

Jednym z celów zadania był monitoring zmian nasilenia występowania stonki kukurydzianej na obszarze działania Instytutu. Na podstawie corocznych obserwacji pól kukurydzy w województwach podkarpackim i śląskim stwierdzono, że na przestrzeni 5 lat badań, na monitorowanych polach, prowadzonych głównie w płodozmianie, następował stopniowy wzrost liczby odławianych chrząszczy do pułapek feromonowych. Jest to niepokojące zjawisko, zwłaszcza w kontekście zniesienia procedur fitosanitarnych zwalczających obligatoryjnie szkodnika, możliwości uprawy kukurydzy w monokulturze, braku insektycydów do zwalczania larw, ograniczonymi możliwościami stosowania preparatów przeciwko chrząszczom oraz obserwowanych zmian klimatycznych.

W ramach badań monitoringowych przeprowadzono testy wybranych pułapek feromonowych dostępnych na krajowym rynku dla potrzeb wskazania tych najskuteczniejszych w odławianiu chrząszczy. Stwierdzono wysoką przydatność pułapek feromonowych typu PAL zawierających atraktant płciowy oraz niską pułapek pokarmowych typu PALs zawierających atraktant pokarmowy.

Ważnym celem badań było pełne rozpoznanie biologii szkodnika w warunkach krajowych, co stwarza podstawy do prac nad metodami ograniczania jego liczebności. Stwierdzono, że szkodnik (larwy) pojawia się na plantacjach już od połowy maja, a kończy żerowanie (chrząszcze) pod koniec października. Oznacza to, że owad towarzyszy kukurydzy uprawianej w monokulturze niemal przez cały okres jej rozwoju. Na plantacjach kukurydzy prowadzonych w płodozmianie, chrząszcze zasiedlają rośliny od pierwszej połowy lipca i żerują do końca okresu wegetacji. Na podstawie badania dynamiki wylęgu larw oraz występowania chrząszczy, poznano okresy ich licznego występowania, w tym szczyty liczebności ważne z punktu widzenia ochrony roślin. Ponadto badania laboratoryjne i polowe wykazały wysoką żywotność gatunku i jego płodność (maksymalnie samica składa do 1400 jaj).

W ramach badań nad poznaniem cyklu rozwojowego szkodnika stwierdzono ponadto, że optymalne terminy zwalczania gąsienic omacnicy prosowianki i chrząszczy stonki kukurydzianej, nie pokrywają się ze sobą, stąd też nie ma możliwości jednoczesnego zwalczania obu gatunków na takim poziomie, który zagwarantowałby wysoką śmiertelność każdego z nich. Wykazano jednak, że zabiegi przeciwko omacnicy prosowiance pośrednio ograniczają nalot pierwszych chrząszczy stonki, natomiast w niektóre lata (opóźniony nalot omacnicy) zabieg przeciwko chrząszczom pozwala częściowo ograniczyć uszkodzenia powodowane przez gąsienice.

Poznanie biologii gatunku umożliwiło ocenę różnych metod ograniczania liczebności i szkodliwości gatunku. Stwierdzono, że kilkuletnia monokultura kukurydzy niechroniona chemicznie (zwłaszcza powyżej 4 lat) istotnie zwiększa liczebność chrząszczy, w tym przyczynia się do pojawu widocznych uszkodzeń roślin powodowanych przez larwy w postaci wylegających roślin. Zastosowanie płodozmianu (z wykluczeniem soi jako rośliny następczej), pozwalało nie tylko uniknąć pojawu larw, co kilkukrotnie zmniejszało liczebność osobników dorosłych w pułapkach feromonowych. Płodozmian okazał się najskuteczniejszym sposobem zapobiegania pojawowi larw i redukował liczbę żerujących chrząszczy.

Badania nad wpływem zróżnicowanego terminu siewu na monokulturze kukurydzy (siewy od drugiej dekady kwietnia do trzeciej dekady maja) wykazały, że metoda ta nie zapobiega pojawowi larw, niemniej opóźniony siew do drugiej połowy maja wpływa na częściowe obniżenie liczebności i szkodliwości larw w porównaniu do siewów kwietniowych. Problematyczne jest jednak stosowanie opóźnionych siewów w praktyce, stąd mogą mieć zastosowanie tylko w wyjątkowych sytuacjach.

W ramach oceny metod nie chemicznych, przeprowadzono doświadczenia nad podatnością różnych odmian kukurydzy (o zróżnicowanej wczesności) na ich uszkodzenie przez larwy i zasiedlenie przez chrząszcze. Wykazano, że każda z wysianych odmian była uszkodzana przez larwy, przy czym część z nich była mniej licznie opanowywana i uszkodzana przez szkodnika. Nie wykazano jednoznacznie, aby wczesność odmiany w szczególności wpływała na ich preferencję przez larwy. Z kolei wczesność odmian wpływała na stopień ich zasiedlenia przez chrząszcze. W pierwszej kolejności owady licznie zasiedlały odmiany wczesne, które pyliły i wyrzucały znamiona kolb, a wraz z zakwitaniem odmian późniejszych licznie na nie migrowały. Szkodnik podążał za najbardziej preferowanym pożywieniem tj. pyłkiem i świeżymi znamionami żeńskich kwiatów. Największą liczebność owadów i najdłuższy okres ich żerowania notowano na odmianach późnych, zwłaszcza z cechą „stay green”, które dostarczały owadom pokarmu niemal do końca okresu wegetacji.

Obok żerowania chrząszczy na kukurydzy wykazano, że mogą one zasiedlać również inne uprawy, zwłaszcza dostarczające im pyłku. Stwierdzono, że od połowy sierpnia, chrząszcze bardzo chętnie zasiedlały kwitnące chwasty, zwłaszcza: komosę białą, ostrożeń polny, mleczeń polny, włośnicę siną, chwastnicę jednostronną oraz szarłat szorstki. Ponadto owady stwierdzano na kwitnących roślinach uprawnych rosnących obok plantacji kukurydzy, do których należały: słonecznik zwyczajny, dynia zwyczajna, ogórek gruntowy i cukinia.

W metodzie chemicznej oceniano przydatność insektycydów zarejestrowanych przeciwko innym szkodnikom kukurydzy na larwy i chrząszcze stonki kukurydzianej. Stwierdzono, że spośród badanych substancji czynnych, najlepsze efekty zwalczania larw wykazywały zaprawy nasienne

zawierające imidachlopyrd, a które zostały od 2013 r. wycofane z użycia. Inne zaprawy nasienne (zawierające metiokarb), czy też insektycydy nalistne o systemicznym oddziaływaniu (np. tiachlorpyrd z deltametryną), nie pozwalały skutecznie zwalczać larw i zapobiegać uszkodzaniu przez nie korzeni kukurydzy. W przypadku testowanych insektycydów nalistnych z różnych grup chemicznych, w tym już zarejestrowanych do zwalczania chrząszczy (zawierających: indoksakarb oraz mieszaninę tiachlopyrdy i deltametryny) wykazano ich wysoką przydatność do zwalczania osobników dorosłych. Stwierdzono jednak, że na monokulturach kukurydzy, na których owady licznie występują jednokrotny zabieg jest zwykle niewystarczający do ich zwalczania, stąd konieczny jest drugi.

W doświadczeniach laboratoryjnych oceniano skuteczność owadobójczą w stosunku do chrząszczy wybranych grzybów entomopatogenicznych m.in.: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus*, *Lecanicillium lecanii* oraz *Isaria fumosorosea*, w różnych koncentracjach. Wykazano, że skuteczność owadobójcza badanych grzybów zależała od gatunku oraz koncentracji zarodników. Najlepsze efekty owadobójcze uzyskano stosując grzyby: *I. fumosorosea*, *B. bassiana* i *L. lecanii*.

W doświadczeniu mającym na celu określenie efektywności niszczenia jaj *D. virgifera* przez drapieżne entomofagi, wykazano przydatność gatunków: *Amblyseius andersoni*, *Hypoaspis miles* i *Orius laevigatus* do zwalczania jaj stonki kukurydzianej.

W ramach zadania przeprowadzono również badania międzylaboratoryjne dla Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa oraz Centrum Organizmów Kwarantannowych i genetycznie Zmodyfikowanych IOR–PIB, w zakresie poprawności identyfikowania gatunku *D. virgifera* metodą morfologiczno-metryczną.

Realizacja zadania pozwoliła opracować strategię integrowanej ochrony kukurydzy przed zachodnią kukurydzianą stonką korzeniową, z wykorzystaniem metod niechemicznych i chemicznych, co ma znaczenie zarówno dla producentów kukurydzy, jak i służb państwowych.

Zadanie 2.3. „Określanie zakresu zmienności morfologicznej i molekularnej nicieni-pasożytów roślin w celu identyfikacji gatunków objętych regulacjami prawnymi” (kierownik: dr Renata Dobosz)

Celem zadania było poznanie zmienności morfologicznej, morfometrycznej i molekularnej nicieni pasożytów roślin w celu identyfikacji gatunków objętych przepisami prawnymi oraz stworzenie narzędzi do identyfikacji tych gatunków na potrzeby Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa. Badania prowadzone w okresie od 2011 do 2015 roku objęły populacje gatunków reprezentujących rodzaje *Globodera* Skarbilovich, 1959; *Meloidogyne* Göldi, 1892; *Ditylenchus* Filipjev, 1936 i *Heterodera* Schmidt, 1971.

Prace nad rodzajem *Globodera* skupione były wokół *Globodera pallida* (Stone, 1973). Analiza porównawcza wyników obserwacji morfologii i morfometrii ścianek cyst oraz osobników młodocianych drugiego stadium pokazała, że zakresy zmienności cech obu stadiów rozwojowych badanych populacji nie przekraczają zakresów znanych dotąd dla tego gatunku. Badanie zmienności genetycznej fragmentów rDNA populacji *G. pallida* wykazało wysoki poziom ich podobieństwa między sobą oraz podobieństwa do analogicznych fragmentów zdeponowanych w banku genów (od 99% do 100%). Populacja *G. pallida* pochodząca z obszaru Polski oraz populacja znaleziona w transporcie ziemniaka pochodzącego z Cypru wykazały 97% podobieństwa. W ramach badań nad *Globodera* opracowano protokół diagnostyki i różnicowania *G. pallida* i *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) oraz *G. pallida* i *Globodera artemisiae* (Eroshenko et Kazachenko 1972) techniką real-time PCR. W oparciu o uzyskane rezultaty przygotowano Instrukcję do rozpoznawania gatunków z rodzaju *Globodera* zawierającą dychotomiczny klucz do rozpoznawania gatunków, ich charakterystykę morfologiczną i morfometryczną, fotografie oraz protokół

przeprowadzenia reakcji real-time PCR w celu odróżnienia *G. pallida* od *G. rostochiensis* i *G. artemisiae*.

Prace nad zmiennością populacji gatunków z rodzaju *Meloidogyne* uwzględniły: objęte przepisami kwarantannowymi *Meloidogyne chitwoodi* Golden, O'Bannon, Santos et Finley, 1980 i *Meloidogyne fallax* Karssen, 1996; pospolicie występujący gatunek *Meloidogyne hapla* Chitwood, 1949 oraz *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1989), *Meloidogyne incognita* (Kofoid et White, 1919) i *Meloidogyne javanica* (Treub, 1885) reprezentujące grupę gatunków ciepłolubnych. Dokonano także przeglądu preparatów trwałych Muzeum i Instytucie Zoologii PAN w Warszawie. Dla każdego z gatunków przygotowano charakterystykę morfologiczną i morfometryczną płytek perinealnych samic i osobników młodocianych drugiego stadium wzbogaconą materiałem ilustracyjnym w postaci fotografii. Przeprowadzono również charakterystykę porównawczą fragmentów rDNA w celu określenia różnic między badanymi gatunkami. W oparciu o wyniki porównania sekwencji stworzono podstawy do opracowania sposobu różnicowania gatunków ciepłolubnych od kwarantannowych i *M. hapla* z użyciem reakcji LAMP (Loop-mediated isothermal AMPLification). Zestawienie wyników obserwacji mikroskopowych zebranych materiałów oraz obserwacji okazów *Meloidogyne* spp. z preparatów dostępnych w MiIZ PAN pozwoliły opracować klucz do identyfikacji gatunków *Meloidogyne* występujących w glebach Polski oraz ich odróżnienia od gatunków ciepłolubnych i kwarantannowych. Materiały te, wraz z fotografiami i protokołem reakcji LAMP, zamieszczono w Instrukcji podsumowującej prace nad *Meloidogyne*.

Badanie mikroskopowe gatunków z rodzaju *Ditylenchus* przeprowadzono pod kątem identyfikacji *Ditylenchus dipsaci* (Kühn, 1857) Filipjev, 1936 i *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945 - organizmów podlegających regulacjom prawnym. Badaniem objęto materiały własne oraz preparaty z kolekcji MiIZ PAN w Warszawie, uwzględniając również gatunki nie podlegające przepisom o kwarantannie oraz nie będące szkodnikami roślin ważnych gospodarczo. W badaniu dokonano obserwacji elementów morfologii i anatomii samic i samców uznanych za cechy diagnostyczne oraz przygotowano charakterystykę morfometryczną badanych materiałów. Stwierdzono występowanie 27 gatunków. W świetle uzyskanych wyników uznano, że najważniejszymi z punktu widzenia identyfikacji gatunków kwarantannowych są te gatunki z rodzaju *Ditylenchus*, u których zakres zmienności długości sztyletu samicy obejmuje wartość 10 µm. Ich charakterystykę uzupełniono dokumentacją fotograficzną. Populacje *D. dipsaci*, *D. destructor* oraz *D. gigas* (Volvas et al., 2011) poddano badaniu metodami biologii molekularnej. Zmienność *Ditylenchus* spp. badano w obszarze 18S-ITS1-5.8S-ITS2. Analiza sekwencji *D. dipsaci*, *D. destructor* oraz *D. gigas* wykazała 99–100% podobieństwa między populacjami w obrębie gatunków. Podobieństwo między populacjami *D. dipsaci* i *D. gigas* sięgnęło 96%, między populacjami *D. dipsaci* i *D. destructor* 61%, natomiast podobieństwo populacji *D. destructor* i *D. gigas* 60%. Opracowano metodę identyfikacji i rozróżniania *D. destructor*, *D. dipsaci* i *D. gigas* stosując reakcję PCR oraz real-time PCR. Podsumowaniem badań nad rodzajem *Ditylenchus* jest Instrukcja do rozpoznawania gatunków z tego rodzaju, w której zamieszczono klucz dychotomiczny do rozpoznawania gatunków, ich charakterystykę i materiał zdjęciowy, oraz szczegółowy protokół do różnicowania *D. dipsaci*, *D. destructor* i *D. gigas* w reakcji PCR i real-time PCR.

Prace nad gatunkami z rodzaju *Heterodera* podjęte zostały w celu odróżnienia *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952 od gatunków z rodzaju *Heterodera* znajdujących w glebach Polski. Włączone do badań populacje *H. glycines* pochodziły z wysp Japonii. Badaniem mikroskopowym objęto ścianki cyst oraz osobniki młodociane drugiego stadium. Dla każdej z populacji wykonano również charakterystykę regionu D2-D3 obszaru 28S rybosomalnego DNA. Zebrane materiały, analiza danych z literatury i preparatów zdeponowanych w kolekcji MiIZ PAN w Warszawie pozwoliła stwierdzić występowanie w Polsce następujących gatunków: *Heterodera avenae* Wollenweber, 1924; *Heterodera bifenestra* Cooper, 1955; *Heterodera carotae* Jones, 1960; *Heterodera cruciferae* Franklin, 1945; *Heterodera filipjevi* (Madzhidov, 1981); *Heterodera goettingiana* Liebscher, 1892; *Heterodera hordecalis* Andersson, 1975; *Heterodera humuli* Filipjev, 1934; *Heterodera riparia* (Kazachenko, 1993); *Heterodera schachtii* Schmidt, 1891;

Heterodera trifolii Goffart, 1932; *Heterodera ustynovi* (Mathews, 1971). W oparciu o wyniki obserwacji morfologii oraz analizy danych morfometrycznych opracowano dychotomiczny klucz do rozpoznawania gatunków. Ze względu na podobieństwo *H. glycines* do *H. schachtii* oraz mogące wystąpić trudności w ich rozróżnianiu, diagnostykę morfologiczno-metryczną uzupełniono o przygotowany protokół reakcji PCR. Klucz wraz z charakterystyką każdego z gatunków, materiał fotograficzny oraz protokół reakcji PCR stały się treścią Instrukcji do rozpoznawania *Heterodera* spp.

**Zadanie 2.4. „Określenie zakresu występowania, diagnostyka oraz zmienność populacyjna wirusów kwarantannowych lub gospodarczo ważnych oraz ocena ryzyka porażenia przez nowe wirusy”
(kierownik: prof. dr hab. Henryk Pospieszny)**

Cel zadania: identyfikacja i rozwiązywanie nowych problemów z zakresu wirusologii roślinnej, wspierających ustawową działalność służb fitosanitarnych oraz potrzeby praktyki rolniczej.

Podzadanie 2.4.1. Monitorowanie występowania wirusa mop-top ziemniaka (*Potato mop-top virus* PMTV) w Polsce.

Cel: przeprowadzenie monitoringu występowania wirusa mop-top ziemniaka w Polsce, we współpracy z Wojewódzkimi Inspektoratami Ochrony Roślin i Nasiennictwa. W 2010 r., po raz pierwszy w Polsce, stwierdzono występowanie wirusa mop top ziemniaka, groźnego patogena porażającego bulwy ziemniaka w krajach Europy Płn.

Efekt: W latach 2011-2013 przetestowano ponad 100 prób po 100 bulw każda, przesłanych przez WIORiN-y. Obecność PMTV stwierdzano po objawach, testem serologicznym DAS-ELISA oraz techniką molekularną RT-PCR. Tylko w jednej próbie bulw pochodzącej z woj. łódzkiego stwierdzono obecności wirusa, co sugeruje, że PMTV występuje w Polsce co najwyżej incydentalnie. Polski izolat występował w niskiej koncentracji i różnił się genetycznie od dotąd opisanych. Z tego powodu, w 2014 r. opracowano nowe startery i warunki w technice RT-PCR do wykrywania polskiego izolatu PMTV.

Podzadanie 2.4.2. Charakterystyka i diagnostyka izolatów czarnej pierścieniowej plamistości pomidora (*Tomato black ring virus*, TBRV).

Cel: identyfikacja nowo wykrytych izolatów TBRV oraz ich pełna charakterystyka i całej populacji izolatów tego wirusa, zebranych w Polsce zarówno z roślin uprawnych, jak i dziko rosnących, w kontekście ich diagnostyki i ograniczania występowania.

Efekt: W ciągu wielu lat w Zakładzie Wirusologii i Bakteriologii IOR-PIB w Poznaniu utworzono unikalną w skali europejskiej kolekcję izolatów wirusa czarnej pierścieniowej plamistości pomidora z różnych gatunków roślin, zarówno uprawnych, jak i dziko rosnących, która wciąż jest poszerzana. Wirus jest przenoszony przez nasiona oraz nicienie, co czyni go uciążliwym w zwalczaniu. W 2011 r. zidentyfikowano dwa nowe izolaty TBRV, z ogórka i cukinii. W 2012 r. przeprowadzono charakterystykę biologiczną 11 różnych ze względu na pochodzenie izolatów wirusa czarnej pierścieniowej plamistości pomidora na 46. gatunkach roślin, pod kątem zakresu porażanych roślin oraz objawów chorobowych. Charakterystyka ta wskazywała na duże zróżnicowanie izolatów TBRV w Polsce, co potwierdziły przeprowadzone badania genetyczne. Analiza filogenetyczna wykazała wysoki stopień zróżnicowania genetycznego pomiędzy badanymi izolatami TBRV. Podobieństwo sekwencji nukleotydów wahało się od 82,9% do 99, 7%, a sekwencji aminokwasów od 88,8% do 99, 6%. Na drzewie filogenetycznym można wyróżnić dwie główne grupy filogenetyczne I i II, przy czym w pierwszej można wyróżnić dwie podgrupy IA i IB. W 2013 r., wykazano zróżnicowanie serologiczne polskich izolatów, jednak nie rzutuje to negatywnie na ich diagnostykę i dostępnymi, komercyjnymi surowicami można wykrywać wszystkie z nich. Mając na uwadze zróżnicowanie genetyczne izolatów TBRV dokonano modyfikacji warunków zastosowania RT-PCR dla wiarygodnego ich wykrywania, przez zastąpienie dotąd stosowanych starterów amplifikujących długi fragment 1200pz na nowe, zaprojektowane przez nas TBRVrealR

5'CAGCACTACCTTCCTCCAGAC3'i TBRVrealF5'ATGGGTGGATGAGGAGGTGAT3', dający produkt o wielkości 277 pz. Nowy starter jest mniej specyficzny dla gatunku, przez co bardziej wiarygodnie wykrywa wszystkie dotąd dostępne izolaty TBRV oraz skraca czas wykonywania testowania. **W 2015 r.** zidentyfikowano kolejne 2 izolaty TBRV, w sposób naturalny porażające sałatę i aksamitkę. Aby przy tak zróżnicowanej genetycznie populacji izolatów uniknąć błędów w ich diagnostyce, opracowano nową technikę RT-LAMP, wykrywającą wszystkie izolaty TBRV.

Podzadanie 2.4.3: Monitoring występowania wirusów na cukinii.

Cel: identyfikacja wirusów występujących cukinii w uprawie polowej.

Efekt: Zmienił się status cukinii, z rośliny uprawianej w ogródkach przydomowych stała się rośliną małoobszarową, uprawianą w polu, dla przemysłu przetwórczego. Konsekwencją rozszerzenia uprawy tej rośliny jest prawdopodobieństwo pojawienia się nowych chorób i patogenów w warunkach Polski, w tym wirusów. W trakcie monitoringu upraw cukinii w **latach 2011 – 2015** obserwowano pojawianie się wirusów nowych lub znanych, niekiedy w większym nasileniu. Na cukinii stwierdzono następujące wirusy: pierścieniowej plamistości papai (PRSV), żółtej moziki cukinii (ZYMV), moziki melona (WMV), czarnej pierścieniowej plamistości pomidora (TBRV) i mozaiki ogórka (CMV). PRSV, WMV i ZYMV to nowe wirusy w warunkach Polski. **Od 2014 r.** obserwuje się nasilenie występowania ZYMV i WMV. W 2014 r. opracowano techniki do masowego testowania roślin cukinii na obecność ZYMV i WMV. Izolaty ZYMV i WMV są genetycznie zróżnicowane. Lustracja przeprowadzona w **2015 r.** wykazała, że 100% plantacji było porażonych przez wirusy, które przeniesione zostały przez mszyce, masowo nalatujące i żerujące na cukiniach. Z porażonych roślin zbierano około 50-60% owoców, a reszta była odrzucana, jako nieprzydatna dla przemysłu spożywczego. Identyfikowano głównie ZYMV i WMV. Powodem jest wycofanie insektycydów dopuszczonych do stosowania na cukinii.

Podzadanie 2.4.4. Monitoring występowania wirusów na pieczarce w Polsce.

Cel: ochrona upraw pieczarek przed stratami powodowanymi przez wirusy.

Efekt: W 2010 r., w licznych próbach pieczarek i grzybni stwierdzano obecność wirusów, co stanowiło zagrożenie dla ich producentów, szczególnie w sytuacji, kiedy Polska jest jednym z wiodących krajów w produkcji i eksporcie pieczarki w Europie. W latach 2011-2012 zlustrowano 2 pieczarkarnie (Czepień i Modrze), oraz przeprowadzono monitoring występowania wirusów w pieczarkach sprzedawanych w supermarketach: Tesco, Piotr i Paweł, Biedronka, Lidl i Real. Łącznie przetestowano 65 prób pieczarek, przy zastosowaniu mikroskopii elektronowej oraz techniki RT-PCR. W żadnej nie stwierdzono obecności wirusów, co może oznaczać, że zalecane działania fitosanitarne i wymiana grzybni skutecznie wyeliminowało wirusy z polskich pieczarkarni.

Podzadanie 2.4.5. Bieżące monitorowanie nowych zagrożeń.

1. Identyfikacja i charakterystyka wirusa B chryzantemy (*Chryzantemom Virus B*).

W 2014 r. zidentyfikowano wirusa B chryzantemy B (CVB), jednego z najgroźniejszych patogenów tej rośliny, który wystąpił w dużym nasileniu.

2. Ocena stabilności genetycznej różnych izolatów wirusa mozaiki pepino (*Pepino mosaic virus, PepMV*).

W kontekście tendencji do wprowadzenia do ochrony pomidora przed wirusem mozaiki pepino (PepMV) zjawiska odporności krzyżowej (cross-protection), w latach 2013 - 2014 przeprowadzono eksperymenty z izolatami PepMV jako potencjalnymi izolatami ochronnymi („szczepionki”), pod kątem ich stabilności genetycznej. Eksperymenty wykazały szybkie tempo zmienności wirusa i powstawanie mutacji punktowych w trakcie replikacji. W przypadku izolatu PMV01 (potencjalna szczepionka z Danii), powstawanie mutacji w trakcie pasażu nie miało jednak wpływu na jego właściwości biologiczne. Wprowadzenie na rynek szczepionek opartych na ochronie krzyżowej powinno podlegać kontroli ze względu na zmienność wirusa, która może prowadzić do powstawania nowych wariantów genetycznych o odmiennych właściwościach. Pod uwagę należy również brać stosowane w danych warunkach klimatycznych odmiany pomidora oraz występujące na obszarze danego kraju szczepy i izolaty PepMV. W tej sytuacji obrót

„szczepionkami wirusowymi” do stosowania w zjawisku ochrony krzyżowej pomidora przed PepMV powinno być pod kontrolą służb fitosanitarnych państwa.

3. Przenoszenie wirusa nekrozy pomidora (*Tomato torrado virus*, ToTV) z nasionami *Physalis floridana*

W 2013 r., po raz pierwszy wykazano zdolność wirusa nekrozy pomidora (*Tomato torrado virus*, ToTV) do przenoszenia się z nasionami miechunki (*Physalis floridana*), co sugeruje, że to zjawisko może wystąpić w relacji pomidor - ToTV, i może mieć ważne znaczenie w epidemiologii wirusa, a szczególnie w wymianie nasion.

4. Przenoszeniem TBRV przez nasiona pomidora.

W latach 2013- 2015, po raz pierwszy wykazano możliwość przenoszenia się wirusa czarnej pierścieniowej plamistości pomidora (*Tomato black ring virus*, TBRV) z nasionami pomidora. Ma to duże znaczenie w ekologii wirusa (szczególnie wpływa na jego rozprzestrzenianie nawet między kontynentami) oraz dla diagnostyki wirusa w nasionach pomidora.

5. Identyfikacja i charakterystyka wirusów porażających rośliny soi w Polsce.

W związku ze wzrostem zainteresowania uprawą soi w Europie, w tym także w Polsce, w 2014 r. podjęto badania wirusologiczne nad tą rośliną. Obecnie na soi w Polsce występuje jedynie i sporadycznie wirus mozaiki soi, i nie zagraża bezpośrednio rozwijającej się w Polsce uprawie. Jednak nie można go ignorować, bo jest genetycznie zróżnicowany i stosunkowo w wysokim zakresie przenoszony przez nasiona. Stopniowo mogą więc być wprowadzane nowe warianty wirusa do puli uprawianych nasion, stąd warto monitorować jego ewentualną ekspansję, zróżnicowanie i szkodliwość. W 2015 r. zidentyfikowano nowego w Polsce wirusa *Glycine max SIRE1 virus* z soi z objawami silnego zahamowania wzrostu. Wstępne badania molekularne wskazują na możliwość występowania wirusa w różnych wariantach.

6. *Tomato yellow ring virus* (TYRV) – nowy wirus w Polsce.

W latach 2014-2015 stwierdzano masowe występowanie wirusa brązowej plamistości pomidora (*Tomato spotted wilt virus*, TSWV), przenieszonego przez wciornastki i mechanicznie. Wirus wystąpił w wielu uprawach pomidora pod osłonami i na roślinach ozdobnych, takich jak chryzantema czy gerbery. Spośród 18. roślin pomidora z objawami silnych nekroz na łodygach, brązowych plam na liściach oraz chlorotycznych i nekrotycznych pierścionków na owocach, w 10. stwierdzono obecność TSWV, a w pozostałych 8 zidentyfikowano (serologicznie i RT-PCR) nowego wirusa *Tomato yellow ring virus* (TYRV), który także jest przedstawicielem tospowirusów. Jest to pierwsze stwierdzenie TYRV w Polsce i Europie. Dotychczasowe doniesienia o TYRV wskazują na jego występowanie w uprawach pomidora w Iranie i Kenii. Wirus powoduje tam ogromne ekonomiczne straty w uprawach ziemniaka, soi i roślin ozdobnych.

7. Monitoring występowania wiroidów chmielu: *Hop stunt viroid* (HSVd) i *Citrus bark cracking viroid* (CBCVd) na chmielu w Polsce.

Na polecenie Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi, w okresie letnim 2015 roku, przeprowadzono monitoring występowania wiroidów na chmielu, głównie HSVd i CBCVd. Problem został wywołany pojawieniem się na chmielu nowego, bardzo agresywnego wiroida CBCVd, który jest znany od 1988 r. i dotąd występował jedynie na cytrusach. Od 2007 r. (Słowenia), nowym, bardzo podatnym gospodarzem wiroida jest chmiel. Ze względu na dużą szkodliwość wiroida EPPO rozważa możliwość wpisania patogena na listę alertową. Monitoring występowania HSVd i CBCVd na plantacjach chmielu przeprowadzono wokół Lublina i Poznania (Nowy Tomyśl), w oparciu o (1) wywiad z plantatorami, (2) osobistą lustrację plantacji celem pozyskania materiału do badań, (3) testowanie techniką RT-PCR oraz reinokulację na rośliny testowe. Do identyfikacji zastosowano specyficzne startery dla poszczególnych wiroidów. W żadnej z 70 prób roślin z widocznym ograniczeniem wzrostu nie stwierdzono obecności wiroidów.

8. Badania nad porażeniem pszenżyta kompleksem wirusa smugowatej mozaiki pszenicy i wirusa mozaiki stokłosa w warunkach naturalnych.

Opisanie występowania wirusów smugowatej mozaiki pszenicy (WSMV) i mozaiki stokłosa (BMV) w kompleksie, w naturalnej infekcji pszenżyta, jest pierwszym doniesieniem i tylko pozornie jest mało istotne. Zjawisko to ma nie tylko wartość poznawczą, ale może mieć duże

znaczenie praktyczne. Wstępne obserwacje wskazują na to, że BMV w kompleksie z WSMV może być przenoszony przez szpeciele, co jest niemożliwe dla homogenicznego wirusa, a z kolei WSMV łatwiej zakaża rośliny i rozprzestrzenia się. Może to mieć duże znaczenie w ekologii obu wirusów.

**Zadanie 2.5. „Nowe metody utylizacji bulw ziemniaka porażonych przez bakterię *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*”
(kierownik: dr Anna Maćkowiak- Sochacka)**

Celem badań było określenie nowych zasad bezpiecznej utylizacji ziemniaków porażonych przez bakterię *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* (Cms). Aby efekt badań można było przełożyć na praktykę, należało sięgnąć po łatwo dostępne metody, których wdrożenie nie wiąże się z wysokimi kosztami utylizacji, które towarzyszą takim metodom, jak spalanie czy składowanie na wysypisku odpadów. Najczęściej stosowane konwencjonalne metody biologicznego unieszkodliwiania odpadów polegają na poddaniu ich procesom przekształceń biologicznych, fizycznych lub chemicznych, w celu doprowadzenia ich do stanu, który nie stwarza zagrożenia dla życia, zdrowia ludzi lub dla środowiska. Unieszkodliwianie odbywa się w warunkach tlenowych, (kompostowanie) lub beztlenowych (fermentacja). W badaniach podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, czy kompostowanie lub fermentacja z wykorzystaniem porażonych Cms bulw ziemniaków lub odpadów poprodukcyjnych nie stwarza zagrożenia fitosanitarnego.

Punktem wyjścia do badań było opracowanie metod wykrywania bakterii *C. michiganensis* ssp. *sepedonicus* w utylizowanym materiale roślinnym na potrzeby dalszych doświadczeń. Na podstawie analizy zgromadzonej literatury oraz dotychczasowych doświadczeń w wykrywaniu bakterii Cms w odpadach poutylizacyjnych ziemniaka (wycierka), dokonano wyboru metod, które będą wykorzystane w dalszych doświadczeniach nad nowymi metodami utylizacji ziemniaka porażonego Cms. W doborze metod detekcji głównym kryterium badań jest ich czułość i specyficzność. W związku z tym, do doświadczeń wytypowano metody molekularne: PCR i Real Time PCR, a także FISH (Fluorescent In Situ Hybridization). Bardzo ważnym aspektem badań była możliwość wykrywania żywych bakterii, ponieważ tylko żywe organizmy pozostałe w produktach końcowych procesów utylizacyjnych (np. kompostowania lub produkcji biogazu) stanowią zagrożenie fitosanitarne. Stwierdzono, że FISH jest wystarczająco czułą i specyficzną metodą, aby opierać się na niej w dalszych badaniach nad przeżywalnością bakterii Cms w odpadach pozostałych z utylizacji bulw ziemniaka porażonych bakteriozą pierścieniową. Do doświadczeń stosowano także test patogeniczności na oberżynie, który pozwala na selektywne namnażanie komórek bakteryjnych w roślinie żywicielskiej.

Dane literaturowe dotyczące przeżywalności bakterii Cms w utylizowanych odpadach roślinnych były do tej pory skąpe i niejednoznaczne. W doświadczeniach należało stwierdzić, jaki wpływ mają warunki otoczenia panujące w trakcie procesu utylizacji na czas przeżycia bakterii *C. michiganensis* ssp. *sepedonicus*.

Wnioski z badań nad przeżywalnością bakterii *C. michiganensis* ssp. *sepedonicus* są takie, że największe znaczenie dla przeżycia Cms ma temperatura otoczenia - im wyższa, tym żyją krócej. Wzrost wilgotności podłoża jest czynnikiem skracającym przeżywalność bakterii w odniesieniu do bakterii hodowanych w tej samej temperaturze, natomiast pH otoczenia jest czynnikiem drugorzędym dla przeżywalności bakterii Cms.

Analiza warunków panujących teoretycznie w trakcie kompostowania i fermentacji sugerowała, że w świetle dotychczasowych badań nad przeżywalnością bakterii Cms w różnych warunkach otoczenia, bardziej przydatną metodą utylizacji bulw porażonych przez Cms wydaje się być kompostowanie. Po odtworzeniu warunków temperaturowych panujących w przyrodzie przetrzucanej okazało się, że bakterie Cms w nich nie przeżywają, jednak ostatnie wyniki podobnych badań prowadzonych w innych ośrodkach wskazują na to, że warunki panujące w przyrodzie (w których nie następuje intensywne napowietrzanie i wymieszanie masy kompostowej) nie gwarantują skutecznej utylizacji. Bezpieczne kompostowanie bulw porażonych

Cms jest możliwe pod warunkiem, że jest prowadzone w ściśle kontrolowanym otoczeniu, przy jednorodnej temperaturze w całej masie kompostowej, gdy wstępna, intensywna faza kompostowania jest prowadzona w komorach, w których istnieją warunki do zapewnienia optymalnych parametrów (hermetyzacja, komora zamknięta, biofiltr, obieg zamknięty odcieków). Podobnie przyzmy przerzucane dają możliwość sterowania procesem technologicznym poprzez intensywne napowietrzanie i ciągle przemieszczanie masy kompostowej. Zachowane są wówczas reżimy temperaturowe procesu, przy temperaturze powyżej 70°C wynoszącej 5 dni.

Szczególnie dużo uwagi poświęcono badaniom dotyczącym możliwości wykorzystania procesów fermentacji towarzyszących produkcji biogazu do utylizacji bulw ziemniaków porażonych Cms, ponieważ metoda ta jest coraz bardziej dostępna i może zostać także wykorzystana do utylizacji odpadów pozostałych z przemysłowego przetworzenia ziemniaków. Badania IOR-PIB wskazują, że przeżywalność bakterii Cms w przedziale temperatur 30-40°C wynosi od 40 do 70 dni, w zależności od wilgotności otoczenia, przy czym czas fermentacji wsadu w komorze biogazowni zazwyczaj jest krótszy. Z kolei w temperaturze 50°C przeżywalność w podłożu suchym (15%) wynosi 28 dni. Zwiększenie wilgotności do ok. 99% powoduje, że inkubacja w temp. 50°C daje efekt bakteriobójczy już po 48 godzinach.

Stwierdzono, że fermentacja z wykorzystaniem warunków termofilowych obejmujących zakres temperatur od 40 do 55°C jest bezpiecznym sposobem utylizacji bulw ziemniaków porażonych Cms, pod warunkiem odpowiedniego zagospodarowania odpadów pofermentacyjnych (zwłaszcza odcieków). Wykorzystanie fermentacji mezofilowej prowadzonej w temperaturze 35-40°C do utylizacji ziemniaków i odpadów porażonych Cms jest także możliwe, gdy fermentat podlega procesowi higienizacji w czasie wstępnej obróbki wsadu w temperaturze 80°C w czasie 120 minut lub 99°C (w okresie nie krótszym niż 1 godzina). W praktyce najczęściej wykorzystywana przy przetwarzaniu konwencjonalnych odpadów jest fermentacja przebiegająca w 35-40°C (zakres mezofilowy) natomiast fermentacja termofilna wymaga doprowadzenia energii z zewnątrz do temperatury 50-55°C, więc nie zawsze jej wykorzystanie jest opłacalne.

W ramach tematu, w porozumieniu z PIORIN, opracowano ocenę zakładów przemysłowych służącą podjęciu decyzji o możliwości przerobu porażonych bulw ziemniaków. Ocena dotyczyła 22 przedsiębiorstw zajmujących się przetwórstwem ziemniaka, zlokalizowanych w różnych miejscach Polski. Wykonano ją na podstawie raportów sporządzonych w wyniku kontroli w w/w zakładach, przeprowadzonych przez pracowników oddziałów WIORiN. Każdy zakład oceniano indywidualnie. Analizie poddawano przede wszystkim warunki, w których się przechowuje i przetwarza ziemniaki: transport, rozładunek i przechowywanie bulw, kolejność czynności przeprowadzonych w trakcie przetwarzania, temperaturę procesów technologicznych, sposób przeprowadzania dezynfekcji na terenie Zakładów czy wreszcie sposób utylizacji odpadów stałych i ciekłych pozostałych z przerobu. Na podstawie analizy w/w czynników próbowano określić, na poszczególnych etapach produkcji, czy materiał jest porażony, czy wolny od bakterii *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus* i *Ralstonia solanacearum*. Wiedza ta ma szczególne znaczenie w kontekście utylizacji odpadów.

Zadanie 2.6. „Prowadzenie kolekcji mikroorganizmów patogenicznych dla roślin” (kierownik: prof. dr hab. Maria Rataj-Guranowska)

Rozszerzanie kolekcji, przechowywanie kultur, ich konserwacja oraz udostępnianie przebiegało przez lata 2011-2015 zgodnie z harmonogramem.

W celu wzbogacenia kolekcji Banku Patogenów Roślin i Badania ich Bioróżnorodności (BPRiBiB) o nowe izolaty gromadzono próby roślin z objawami porażenia, ze szczególnym uwzględnieniem roślin-gospodarzy, z których patogeny są nielicznie reprezentowane w kolekcji. Ponieważ niemożliwe jest zaplanowanie chorób, które wystąpią w danym roku na przewidywanej grupie roślin, w każdym roku zwracano uwagę i zbierano także porażone rośliny uprawne zaplanowane na wszystkie lata badań Programu Wieloletniego. Izolacje wykonano m.in. z wielu

gatunków roślin zielnych (np. bazylii, kminku), roślin z upraw małoobszarowych (np. lnu, cebuli) i roślin energetycznych. Porażone rośliny zbierano głównie z terenu województwa: wielkopolskiego, kujawsko-pomorskiego, łódzkiego i mazowieckiego. Pozyskane patogeny identyfikowano, wykonano opis morfologiczny i fotografie (część za pomocą mikroskopu elektronowego). Kolekcję rozszerza się wyłącznie o patogeny, które są nowością w stosunku do stanu zawartości kolekcji lub też istnieje potrzeba wprowadzenia świeższych izolatów niż obecnie posiadane.

Od 2011 r. do tej pory kolekcję rozszerzono o prawie 400 nowych izolatów przez zbiór patogenów z porażonych roślin oraz o izolaty otrzymane ze współpracujących jednostek naukowych, także z zagranicy (ponad 80).

W zależności od gatunku izolaty zostały zabezpieczone pod olejem mineralnym w temperaturze 17°C, zamrożone w 10% roztworze glicerolu lub w ciekłym azocie w -196°C (różna liczba, zależnie od metody: od 40 do 200 izolatów rocznie). Bakterie zakonserwowano systemem Bacto Protect, a część także w ciekłym azocie. Każdy patogen został zabezpieczony minimum dwoma metodami, dopasowanymi ściśle do gatunku.

W opracowaniu pozostaje nadal około 200 kultur grzybów i do końca roku planuje się wprowadzenie przynajmniej 20 izolatów (dla tylu izolatów przygotowywane są obecnie karty akcesu). Wprowadzane patogeny zostają na bieżąco włączane do bazy komputerowej BPRiBiB, dostępnej na stronie: <http://bankpat.expertus.com.pl/search/>

Przechowywane w kolekcji patogeny poddawane są systematycznie renowacji (ożywienie, zreidentyfikowanie, ponowne zakonserwowanie), zgodnie z zapotrzebowaniem.

Przygotowano i udostępniono patogeniczne kultury grzybów i bakterii dla potrzeb instytucji naukowych i hodowców (od 30 do 50 izolatów rocznie). Około 10 izolatów rocznie jest przekazywanych bezpłatnie dla potrzeb Państwowej Inspekcji Ochrony Roślin i Nasiennictwa. Są to patogeny wyznaczone przez inspekcję do celów szkoleniowych. Z usług banku korzysta coraz więcej jednostek i w 2015 r. pierwszy raz liczba zamówionych patogenów przekroczyła 50.

Wydano kolejne Zeszyty kompendium „Symptomy chorób roślin i morfologia ich sprawców” (2011 – zeszyt 9, 2013 – zeszyt 10, 2014 - I tom zeszytu 11 oraz w 2015 II tom zeszytu 11). Na podstawie wydanych w latach 2001-2011 Zeszytów kompendium przygotowano w 2012 r. monografię z opisem 38 gatunków najpopularniejszych w Polsce grzybów: Rataj-Guranowska M., Pukacka A. (red.) 2012. „Symptomy chorób roślin i morfologia ich sprawców”. Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań, ss. 178. W 2015 r. wydano monografię w j. angielskim: Rataj-Guranowska M. (ed.) 2015. Compendium of Plant Diseases Symptoms and Morphology of Disease Agents, Bogucki Wydawnictwo Naukowe, Poznań. W 2014 r. wydano ulotkę informacyjną „Bank Patogenów Roślin i Badania ich Bioróżnorodności” (w j. polskim i j. angielskim). Wydano także 3 publikacje, wyniki prezentowano na konferencjach i szkoleniach w postaci referatów i posterów.

**Zadanie 2.7. „Charakterystyka genetyczna oraz identyfikacja wciornastków *Thrips palmi* Karny i *Frankliniella occidentalis* Pergande przy wykorzystaniu technik biologii molekularnej”
(kierownik: dr hab. Aleksandra Obrępańska-Stęplowska, prof. nadzw.)**

Celem zadania było opracowanie procedur identyfikacji genetycznej dwóch gatunków wciornastków: *Frankliniella occidentalis* i *Thrips palmi* przy wykorzystaniu technik biologii molekularnej oraz identyfikacji na podstawie cech morfologicznych. W ramach realizacji projektu opisano cechy morfologiczne ważnych gospodarczo gatunków wciornastków przy wykorzystaniu również zdjęć z mikroskopu skaningowego, do opracowania klucza do oznaczania poszczególnych gatunków (zebrano kilkadziesiąt populacji gatunków wciornastków głównie z rodzaju *Thrips* oraz *Frankliniella* z różnych rejonów w Polsce oraz sprowadzono z zagranicy dwie populacje niewystępującego w Polsce kwarantannowego gatunku *Thrips palmi* (populacje z Japonii, Tajwanu, Tajlandii i Wietnamu). Przeprowadzono bioinformatyczne analizy baz danych dotyczących dostępnych sekwencji zdeponowanych w Banku Genów, w celu charakterystyki sekwencyjnej

badanych gatunków wciornastków oraz zaprojektowania szeregu starterów. Startery te wykorzystywane są do charakterystyki polskich populacji badanych gatunków wciornastków oraz sprowadzonych z zagranicy populacji *Thrips palmi*. Następnie przeprowadzono analizy porównawcze z uzyskanego materiału biologicznego izolowano DNA w oparciu o sekwencje zawarte w Banku Genów. Na tej podstawie określono zróżnicowanie międzygatunkowe i międzypopulacyjne badanych wciornastków i wykazano między, innymi, że homologia analizowanych sekwencji rDNA dla badanych populacji polskich i z innych krajów kształtuje się na poziomie 97,4-99,9% a największe zróżnicowanie występuje w regionie ITS1 rDNA, stąd ten region wydaje się jednym z najbardziej użytecznych do celów diagnostycznych. W trakcie badań po raz pierwszy scharakteryzowano sekwencje rDNA dla *Thrips major* i *Thrips fuscipennis* (brak dotychczas danych w Banku Genów NCBI). Ponadto scharakteryzowano sekwencje typu SCAR (sequence-characterized amplified region) w oparciu o przeprowadzone profilowanie populacji tych gatunków metodą RAPD (oraz AFLP). Zsekwencjonowane sekwencje SCAR są zarówno dla *Thrips palmi*, jak i dla *Frankliniella occidentalis* mogą zostać wykorzystane do opracowania protokołów diagnostycznych dla różnicowania tych gatunków.

W ostatniej fazie projektu opracowano protokół diagnostyczny do wykrywania *Thrips palmi* metodą LAMP (loop-mediated isothermal amplification) oraz protokół oparty na amplifikacji standardową metodą PCR sekwencji rDNA do wykrywania *Frankliniella occidentalis*. Dodatkowo, opracowano również protokół do różnicowania czterech gatunków rodzaju *Frankliniella*: *F. occidentalis*, *F. pallida*, *F. tenuicornis*, *F. intonsa* metodą PCR-RFLP. Na podstawie uzyskanych wyników opracowano klucz do diagnostyki molekularnej i morfologicznej gatunków *Frankliniella occidentalis* i *Thrips palmi* oraz przeszkolono pracowników PIORIN.

Znaczenie dla praktyki rolniczej i służb państwowych

Wyniki zadania są przekazywane PIORiN do wykorzystania w pracy nad identyfikacją wciornastków *Frankliniella occidentalis* Pergande oraz gatunku kwarantannowego *Thrips palmi* Karny.