

Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes
Europejska i Śródziemnomorska Organizacja Ochrony Roślin

Normes OEPP **Standardy EPPO**

Protokoły diagnostyczne
dla agrofagów podlegających przepisom
Protocoles de diagnostic pour les organismes réglementés

PM 7/36



Zatwierdzanie

Standardy EPPO są zatwierdzane przez Radę EPPO. Na każdym ze standardów umieszczona jest data zatwierdzenia. W rozumieniu Artykułu II Międzynarodowej Konwencji Ochrony Roślin (IPPC), Standardy EPPO stanowią Regionalne Standardy dla członków EPPO.

Przegląd

Standardy EPPO podlegają okresowemu przeglądowi i nowelizacji. Data kolejnego przeglądu niniejszego Standardu jest ustalana przez Grupę Roboczą EPPO ds. Przepisów Fitosanitarnych.

Nowelizacja

Jeśli zaistnieje taka konieczność zostaną wydane, opatrzone kolejnym numerem i datowane, nowelizacje standardu. Na każdym ze standardów, o ile ma to zastosowanie, umieszczone są daty nowelizacji.

Dystrybucja

Standardy EPPO są dystrybuowane przez Sekretariat EPPO do władz wszystkich państw członkowskich EPPO. Egzemplarze standardów dostępne są dla wszystkich zainteresowanych wg szczegółowych zasad na indywidualną prośbę skierowaną do Sekretariatu EPPO.

Zakres

Protokoły diagnostyczne EPPO dotyczące agrofagów podlegających przepisom są przeznaczone do stosowania przez Krajowe Organizacje Ochrony Roślin (NPPO), jako ciała odpowiedzialne za stosowanie środków fitosanitarnych, w celu wykrycia i identyfikacji agrofagów podlegających przepisom w EPPO i/lub Unii Europejskiej.

W roku 1998 EPPO rozpoczęła nowy program przygotowywania protokołów diagnostycznych dla agrofagów podlegających przepisom w regionie EPPO (włączając Unię Europejską). Prace są prowadzone przez Panel Diagnostyczny EPPO oraz inne panele specjalistyczne. Celem programu jest utworzenie dla każdego agrofaga podlegającego przepisom zatwierdzonego międzynarodowego protokołu diagnostycznego. Protokoły bazują na wieloletnich doświadczeniach ekspertów EPPO. Pierwsze projekty są przygotowywane przez wyznaczonego eksperta – autora(ów). Są one pisane zgodnie z „ogólnym formatem i zawartością protokołu diagnostycznego”, przyjętymi przez Panel Diagnostyczny i dostosowanymi, o ile to konieczne, do poszczególnych agrofagów. Z reguły, protokół zaleca szczegółowy sposób wykrywania lub identyfikacji, który został uznany za lepszy (niezawodność, łatwość w użyciu itd.) od innych metod. Inne metody mogą być również wymienione ze wskazaniem ich wad i zalet. Jeśli jest stosowana metoda niewymieniona w protokole, należy to uzasadnić.

Do wszystkich Standardów EPPO dotyczących diagnostyki mają zastosowanie następujące ogólne warunki:

- Badania laboratoryjne mogą wymagać użycia odczynników lub urządzeń, które stanowią określone zagrożenie. We wszystkich przypadkach należy ściśle stosować lokalne procedury dotyczące bezpieczeństwa.
- Użycie w Standardach EPPO nazw odczynników lub wyposażenia nie oznaczają wykluczenia innych odczynników czy wyposażenia, które również mogą być przydatne.

- Procedury laboratoryjne przedstawione w protokołach mogą być dostosowane do standardów poszczególnych laboratoriów, pod warunkiem, że są one odpowiednio zwalidowane lub, że zostały włączone stosowne kontrole pozytywne i negatywne.

Materiały źródłowe¹

- EPPO/CABI (1996) Agrofagi kwarantannowe Europy, Wydanie II. CAB International, Wallingford (Wielka Brytania). [EPPO/CABI (1996) Quarantine Pests for Europe, 2nd end. CAB International, Wallingford (GB).]
- EU (2000) Dyrektywa Rady 2000/29/EC z 8 Maja 2000 r. dotycząca środków zapobiegających wprowadzeniu na teren Wspólnoty organizmów szkodliwych dla roślin lub produktów roślinnych i ich rozprzestrzenieniu w obrębie Wspólnoty, Official Journal of the European Communities L169, 1 –112. [EU (2000) Council Directive 2000/29/EC of 8 May 2000 on protective measures against the introduction into the Community of organisms harmful to plants or plant products and against their spread within the Community. Official Journal of the European Communities L169, 1–112.]
- FAO (1997) Międzynarodowa Konwencja Ochrony Roślin (tekst nowy, poprawiony). FAO, Rzym (Włochy). FAO (1997) [International Plant Protection Convention (new revised text). FAO, Rome (IT).]
- IPPC (1993) Zasady kwarantanny roślin w odniesieniu do handlu międzynarodowego ISPM nr 1. Sekretariat IPPC, FAO, Rzym (Włochy). [IPPC (1993) Principles of plant quarantine as related to international trade ISPM no. 1. IPPC Secretariat, FAO, Rome (IT).]
- IPPC (2002) Słownik terminów fitosanitarnych ISPM nr 5. Sekretariat IPPC, FAO, Rzym (Włochy). [IPPC (2002) Glossary of phytosanitary terms . ISPM no. 5. IPPC Secretariat, FAO, Rome (IT).]
- OEPP/ EPPO (2003) Standardy EPPO PM 1/2(12): EPPO Lista A1 i A2 agrofagów podlegających obowiązkowi zwalczania. Standardy EPPO PM1 Ogólne środki fitosanitarne, 5 –17. OEPP/ EPPO, Paryż. [OEPP/EPPO (2003) EPPO Standards PM 1/2 (12): EPPO A1 and A2 lists of quarantine pests. EPPO Standards PM1 General phytosanitary measures, 5–17. OEPP/EPPO, Paris.]

Definicje

Agrofag podlegający przepisom: agrofag kwarantannowy lub agrofag niekwarantannowy podlegający przepisom.

Agrofag kwarantannowy: agrofag o potencjalnym znaczeniu ekonomicznym dla zagrożonego obszaru, ale jeszcze nie występujący na tym obszarze lub obecny, ale nie rozprzestrzeniony szeroko i podlegający urzędowemu zwalczaniu.

Zarys wymagań

Protokoły diagnostyczne EPPO dotyczące agrofagów podlegających przepisom dostarczają wszystkich niezbędnych informacji dotyczących określonego agrofaga w celu jego wykrycia i prawidłowej identyfikacji dokonanej przez eksperta (np. specjalisty w dziedzinie entomologii, mikologii, wirusologii, bakteriologii itp.). Każdy protokół rozpoczyna się krótką ogólną informacją dotyczącą agrofaga (jego występowania, stosunku do innych organizmów, zakresu żywicieli, uszkodzeń powodowanych na żywicielach, rozmieszczenia geograficznego oraz jego tożsamości), a

¹ W nawiasach kwadratowych podana oryginalna pisownia. (przyp. tłum.)

następnie opisuje szczegóły dotyczące wykrywania, identyfikacji, porównania z podobnymi gatunkami, wymagane w celu przeprowadzenia prawidłowej diagnozy, zawiera wykaz instytucji lub osób gdzie można uzyskać więcej informacji i opinii na temat określonego organizmu (na temat diagnozy, metody wykrywania lub ekstrakcji, metod badawczych).

Standardy EPPO z tej serii

Do tej pory zostało zatwierdzonych i opublikowanych dziewiętnaście standardów i protokołów diagnostycznych EPPO. Każdy ze standardów jest ponumerowany w sposób PM 7 / 4 (1), co oznacza, że jest to standard EPPO dotyczący środków fitosanitarnych (PM), numer serii 7 (Protokoły Diagnostyczne), w tym przypadku – standard numer 4, wersja pierwsza. Istnieją następujące standardy:

- PM 7/1(1) *Ceratocystis fagacearum*. *Biuletyn OEPP/ EPPO Biuletyn* **31**, 41–44
- PM 7/2(1) *Tobacco ringspot nepovirus*. *Biuletyn OEPP/ EPPO Biuletyn* **31**, 45–51
- PM 7/3(1) *Thrips palmi*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **31**, 53–60
- PM 7/4(1) *Bursaphelenchus xylophilus*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **31**, 61–69
- PM 7/5(1) *Nacobbus aberrans*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **31**, 71–77
- PM 7/6(1) *Chrysanthemum stunt pospiviroid*. *Biuletyn OEPP/ EPPO Biuletyn* **32**, 245–253
- PM 7/7(1) *Aleurocanthus spiniferus*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **32**, 255–259
- PM 7/8(1) *Aleurocanthus woglumi*. *Biuletyn OEPP/ EPPO Biuletyn* **32**, 261–265
- PM 7/9(1) *Cacoecimorpha pronubana*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **32**, 267–275
- PM 7/10(1) *Cacyreus marshalli*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **32**, 277–279
- PM 7/11(1) *Frankliniella occidentalis*. *Biuletyn OEPP/ EPPO Biuletyn* **32**, 281–292
- PM 7/12(1) *Parasaissetia nigra*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **32**, 293–298
- PM 7/13(1) *Trogoderma granarium*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **32**, 299–310
- PM 7/14(1) *Ceratocystis fimbriata* f. sp. *platani*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **33**, 249–256
- PM 7/15(1) *Ciborinia camelliae*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **33**, 257–264
- PM 7/16(1) *Fusarium oxysporum* f. sp. *albedinis*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **33**, 265–270
- PM 7/17(1) *Guignardia citricarpa*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **33**, 271–280
- PM 7/18(1) *Monilinia fructicola*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **33**, 281–288
- PM 7/19(1) *Helicoverpa armigera*. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **33**, 289–296

Niektóre ze standardów w niniejszej serii są wynikiem różnych projektów i konsultacji dotyczących procedur. Są one wynikiem projektu Komisji Unii Europejskiej DIAGPRO (nr SMT 4-CT 98-2252). Projekt ten obejmował cztery wyznaczone laboratoria (w Anglii, Holandii, Szkocji, Hiszpanii) i 50 laboratoriów porównawczych z wielu krajów europejskich (w obrębie i spoza Unii Europejskiej), które były zaangażowane w badania porównawcze projektu protokołów. Projekt DIAGPRO został utworzony z uwzględnieniem pełnej znajomości równoległych działań Grupy Roboczej EPPO ds. Przepisów Fitosanitarnych w zakresie tworzenia projektów protokołów diagnostycznych i obejmował agrofagi podlegające przepisom, które z tego powodu nie zostały włączone do programu EPPO. Protokoły DIAGPRO zostały zatwierdzone przez Radę EPPO jako Standardy EPPO z serii PM 7. W przyszłości będą one przedmiotem przeglądu zgodnie z procedurami EPPO na tych samych warunkach jak inne standardy z tej serii.

Protokoły diagnostyczne dotyczące agrofagów podlegających przepisom² Protocoles de diagnostic pour les organismes réglementés

Diabrotica virgifera

Zakres

Niniejszy standard opisuje protokół diagnostyczny dotyczący *Diabrotica virgifera*.

Zatwierdzenie i nowelizacja

Zatwierdzony we wrześniu 2003 r.

Wprowadzenie

Rodzaj *Diabrotica* obejmuje około 338 gatunków na świecie (Wilcox, 1972), z których 10 gatunków lub podgatunków jest uznawanych za szkodniki (Krysan i Miller, 1986). *Diabrotica virgifera* razem z *D. barberi* oraz *D. undecimpunctata howardii* jest groźnym szkodnikiem kukurydzy w Ameryce Północnej. Oszacowano, że w Stanach Zjednoczonych Ameryki Płn. (USA) straty finansowe związane z ich obecnością, które uwzględniają koszty zabiegów chemicznych oraz straty w plonach, sięgają rocznie 1 biliona dolarów (Krysan & Miller, 1986). Porażenie roślin przez wyżej wymienione stonki skutkuje spadkiem plonów kukurydzy o 10–13% (Apple i in., 1977; Petty i in., 1968). Dorosłe chrząszcze są znane z przelotów z pól z dojrzałą kukurydzą na inne kwitnące rośliny uprawne. Szczególnie atrakcyjne dla stonki są rośliny z rodziny dyniowatych (*Cucurbitaceae*) (ryc. 7 (Web Fig.)), ale szkodniki te były także znajdowane na lucernie, koniczynie, rzepaku, soi i słoneczniku. W Europie (EPPO/CABI, 1997) *D. virgifera* została zaobserwowana po raz pierwszy w 1992 r. niedaleko Belgradu (Jugosławia) (Baca i in., 1995). Początkowo rozprzestrzenianie się szkodnika przebiegało w kierunkach: zachodnim, północno-zachodnim, północno-wschodnim oraz wschodnim. Obecnie jest wykazany z Austrii, Bośni i Hercegowiny, Bułgarii, Chorwacji, Republiki Czeskiej, Węgier, Rumunii, Słowacji i Ukrainy. Od 1998 r. znane są trzy ogniska w pobliżu lotnisk: w Wenecji (1998) i w Mediolanie (2000) (Włochy) oraz w sąsiedztwie lotniska Lugano-Agno (2000) (Szwajcaria) i we Francji (2002). Populacje te są obecnie poddane wyniszczeniu. Istnieją dwa podgatunki *D. virgifera*: *virgifera* (western corn rootworm) i *zea* Krysan & Smith (Mexican corn rootworm) (Krysan i in., 1980). Zasięg występowania *D. v. virgifera* obejmuje obszar: od środkowo-wschodnich do wschodnich oraz południowo-wschodnich stanów USA oraz w kierunku północnym po Ontario (Kanada). Podgatunek przystosował się do warunków klimatu umiarkowanego (diapauza). *D. v. zea* występuje głównie na obszarze: od Teksasu i Oklahomy (USA) do Panamy. Przystosował się do warunków klimatu ciepłego (bez diapauzy). W rejonie EPPO występuje tylko podgatunek *virgifera*. Drogami przenikania związanymi z wprowadzeniem lub rozprzestrzenieniem się

² Ryciny w niniejszym standardzie oznaczone „Web Fig.” zostały opublikowane na stronie internetowej EPPO www.eppo.org.

D. virgifera są: gleba zawierająca jaja, larwy, poczwarki, lub nadziemne części roślin kukurydzy (np. przeznaczone na paszę lub do nawożenia, kolby) zawierające postaci dorosłe. Jednakże w tym drugim przypadku prawdopodobieństwo rozprzestrzenienia się szkodnika z roślinami kukurydzy jest niskie, ponieważ postaci dorosłe przed zbiorem kukurydzy przemieszczają się na bardziej atrakcyjne dla nich rośliny na innych polach lub szybko giną. Odkąd zawleczenie *D. virgifera* drogą lotniczą jest uwiarygodnione, co potwierdził fakt, że pierwsze miejsce wykrycia w Europie znajdowało się w bezpośredniej bliskości lotniska w Belgradzie w Jugosławii (w obecnej Serbii, przyp. tłum.) (Edwards i in., 1999), przyjęte jest, że postaci dorosłe mogą prawdopodobnie być także przenoszone jako czynnik zanieczyszczający na innych środkach transportu (np. statki, pociągi, samochody ciężarowe i osobowe). Postaci dorosłe mogą także przelatywać na odległość do 100 km od porażonych obszarów.

Tożsamość

Nazwa: *Diabrotica virgifera* Le Conte

Stanowisko taksonomiczne: *Insecta: Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae: Luperini: Diabroticina*

Komputerowy kod Bayera: DIABVI

Kategoria fitosanitarna: lista A2 EPP0: nr 199, załączniki do Dyrektywy Rady 2000/29/WE z dnia 8 maja 2000 r. w sprawie środków ochronnych przed wprowadzaniem do Wspólnoty organizmów szkodliwych dla roślin lub produktów roślinnych i przed ich rozprzestrzenieniem się we Wspólnocie: I/A1

Wykrywanie

Jaja *D. virgifera* występują w glebie na głębokości do 35 cm, większość w warstwie 15 cm od powierzchni gruntu (Baca i in., 1995), w okresie rozpoczynającym się późnym latem (sierpień/wrzesień) i trwającym zimą, kiedy jaja przechodzą diapauzę. Występują w glebie na polach kukurydzy oraz, w mniejszej skali, także w innych uprawach na sąsiednich polach, takich jak: soja i zboża (Kiss i in., 2001).

Generalnie, larwy występują w okresie: od maja do początku sierpnia, ze szczytem występowania w okresie: od maja do czerwca (Baca i in., 1995). Występują trzy stadia larwalne, które żyją w glebie w pobliżu korzeni kukurydzy (ryc. 1 (Web Fig.)). Największa liczba larw jest znajdująca na głębokości do 15 cm od powierzchni gruntu (Baca i in., 1995). Larwy głównie uszkadzają system korzeniowy kukurydzy, w szczególności w trzecim stadium larwalnym. Uszkodzenia te są powszechnie określane jako „obcinanie korzeni” (ryc. 2 (Web Fig.)). Stadium poczwarkowe jest krótkotrwałe.

Postaci dorosłe (ryc. 3 (Web Fig.)) są znajdujące w okresie: od końca czerwca do połowy października, ze szczytem występowania w drugiej połowie lipca i w sierpniu. Postaci dorosłe najczęściej są spotykane na liściach oraz kwiatostanach kukurydzy (np. w pochwach liściowych, na wiechach), odpowiednio: przed i po kwitnieniu oraz w jego trakcie (Baca i in., 1995).

Do odłowu postaci dorosłych wykorzystywane są pułapki feromonowe lub oparte na MCA (p-methoxy-cinnamaldehyde). Powinny być wystawiane w czerwcu, w uprawach kukurydzy lub w ich pobliżu. Sprawdzanie pułapek powinno być powtarzane co najmniej co dwa tygodnie, ale preferowana jest kontrola w każdym tygodniu, aż do połowy września. Odległość między pułapkami nie powinna być mniejsza niż 20 m z uwagi na możliwość dezorientacji samców. Pułapki powinny być także ustawiane na: przejściach granicznych, lotniskach, portach oraz miejscach dyslokacji transportowanego materiału (włączając koszary wojskowe, jeśli istnieje zagrożenie przemieszczania wyposażenia wojskowego z porażonych obszarów) w celu monitorowania introdukcji.

Identyfikacja

Opis rodzaju *Diabrotica*

Głowa na obszarze do tylnych krawędzi oczu nie wciągnięta pod przedplecze, czoło z delikatną podłużną bruzdką (jej długość i głębokość zróżnicowane w zależności od gatunku), ciemię z jamkami, podłużne żeberko pomiędzy czułkami. Oczy szeroko owalne, całe. Warga górna ścięta lub słabo obrzeżona. Czułki 11-członowe, cienkie, perełkowate, co najmniej tak długie jak połowa długości ciała, czasami dłuższe od ciała. Drugi i trzeci człon czułka często bardzo małe. Głazczki wargowe 3-członowe, ostatni człon stożkowaty, krótszy i węższy od poprzedniego. Tułów nieco szerszy niż długi, czasami prawie kwadratowy w zarysie, szeroko zaokrąglony w tylnej części, boki prawie równoległe, czasami wygięte, tarczka generalnie z dwoma jamkowatymi wgłębieniami. Pokrywy z zaznaczonymi krawędziami bocznymi, czasami wygiętymi, epipleury wyraźnie odróżniające się aż do wierzchołka. Przednie biodra stykają się ze sobą. Przedpiersie z pojedynczym podłużnym wyrostkiem, jamy otwarte ku tyłowi. Metepisternum długie, zwężające się ku tyłowi. Odnóża umiarkowanie długie i cienkie. Golenie cienkie, środkowe i tylne z ostrogą na końcu, zewnętrzne krawędzie z żeberkiem biegnącym od kolana do końca (z wyjątkiem niektórych gatunków). Pierwszy człon stopy co najmniej taki długi, jak następne dwa, czasami jak następne trzy, pazurki dwudzielne. Jamy przednich bioder otwarte. Golenie słabo rowkowane bądź gładkie. Pazurki czasami proste (*Monoxia*) (Christiansen, 1943).

Opis gatunku *Diabrotica virgifera*

Jaja

Białe do żółtawych, do 0,5 mm długości. Identyfikacja gatunku jaj jest trudna bez pomocy skaningowego mikroskopu elektronowego (powiększenie 1200×). Jaja są odróżniane na podstawie zewnętrznej rzeźby choriona. Więcej szczegółów przedstawia Krysan & Miller (1986).

Larwy

Larwy mogą być zidentyfikowane z całkowitą pewnością wyłącznie do poziomu podrodziny, w oparciu o cechy morfologiczne i w odniesieniu do roślin(y) żywicielskich(ej) (Lawrence, 1991). Obserwacji, używając mikroskopu stereoskopowego o minimalnym powiększeniu 40×, powinno poddać się trzecie stadium larwalne. Do obserwacji należy wykorzystać kilkanaście osobników, zwracając uwagę na występujący polimorfizm. Niezbędne jest wypreparowanie puszek głowowej.

Larwy chrząszczy z rodziny stonkowatych (*Chrysomelidae*) można odróżnić po następujących cechach morfologicznych:

- żuwaczki ząbkowane, trzonowy brzeg żuwaczki płaski (ryc. 8 (Web Fig.)),
- odnóża generalnie dobrze rozwinięte, zwykle 5-członowe, włączając stopę i przedstopie połączone w formie tarsungulusa (ryc. 9 (Web Fig.)).

Larwy chrząszczy z podrodziny *Galerucinae* można odróżnić po następujących cechach morfologicznych:

- czułki 2-członowe (ryc. 10 (Web Fig.)),
- 1. para oczek bocznych lub ich brak (u *D. virgifera* oczka boczne nieobecne) (ryc. 11 (Web Fig.)),
- żuwaczki z 4–5 zębami (u *D. virgifera* 5 zębów) (ryc. 8 (Web Fig.)).

Do odróżnienia wszystkich stadiów larwalnych *D. virgifera* i *D. barberi* mogą być wykorzystane metody biochemiczne (elektroforeza izozymów oraz histochemia) (Krysan & Miller, 1986). Jednakże użycie tych metod nie jest praktyczne przy dużej skali badań. W Europie, *D. virgifera* jest tylko jednym gatunkiem z tego rodzaju do identyfikacji, zatem nie istnieje konieczność odróżnienia innych gatunków.

Postaci dorosłe

Postaci dorosłe powinny być poddane obserwacji używając mikroskopu stereoskopowego o minimalnym powiększeniu 40×. Do obserwacji należy wykorzystać kilkanaście osobników, zwracając uwagę na występujący polimorfizm. Samice osiągają długość 4,2–6,8 mm, samce 4,4–6,6 mm. Ciało (pokrywy i przedplecze) jest jasnożółte. Uda czarne lub jasno zabarwione z ciemną zewnętrzną krawędzią, stopy czarne. Pokrywy podłużnie żeberkowane, z czarnymi pręgami przebiegającymi wzdłuż: od kątów skrzydeł i wzdłuż szwu, często pokrywającymi większą część pokryw. Samice są generalnie ciemniej zabarwione niż samce. Przy odróżnianiu płci najbardziej niezawodne jest porównanie wierzchołka odwłoka. Samce posiadają na wierzchołku dodatkowy skleryt oraz raczej tępy wierzchołek, podczas gdy samice mają wierzchołek ostro zakończony. Ponadto, czułki samców są dłuższe niż czułki samic.

Postaci dorosłe chrząszczy (*Coleoptera*) posiadają następujące cechy morfologiczne:

- przednia para skrzydeł stwardniała, przekształcona w pokrywy, ciało zazwyczaj silnie zesklerotyzowane (ryc. 12 (Web Fig.)),
- czułki zwykle złożone z 11 członów (ryc. 12 (Web Fig.)).

Postaci dorosłe chrząszczy z rodziny stonkowatych (*Chrysomelidae*) posiadają następujące cechy morfologiczne (Delvare, Aberlenc, 1989):

- stopy 5-członowe, 4. człon niewielki, ukryty pomiędzy rozdwojonym zakończeniem członu 3., tak że stopa wydaje się 4-członowa (ryc. 13 (Web Fig.)),
- czułki długości ciała lub nieco dłuższe (u *D. virgifera* tylko u samców),
- nasada czułka nie jest otoczona przez oko i nie jest umieszczona na wypukłości głowy.

Postaci dorosłe chrząszczy z podrodziny *Galerucinae* posiadają następujące cechy morfologiczne:

- czułki osadzone bardzo blisko siebie w środkowej części twarzy (ryc. 14 (Web Fig.)),
- ciało spłaszczone,
- głowa skierowana do przodu (ryc. 14 (Web Fig.)).

Postaci dorosłe chrząszczy z rodzaju *Diabrotica* posiadają następujące cechy morfologiczne:

- pokrywy z podłużnym żeberkiem wzdłuż brzegu zewnętrznego (ryc. 15 (Web Fig.)),
- czułki perełkowate (o członach zwężających się u nasady) nieco dłuższe niż ciało (u samców),
- uda żółte z czarną przednią krawędzią (ryc. 16 (Web Fig.)),
- głowa czarna,
- przedplecze jasnożółte, czasami z pomarańczowymi znakami,
- długość ciała: 4,2–6,8 mm.

Taksonomia w obrębie tego dużego rodzaju nie jest jasna ze względu na trudności w odróżnieniu poszczególnych taksonów na podstawie cech budowy zewnętrznej oraz w związku z dostępnością jedynie opisów pochodzących z XIX w. i dotyczących ograniczonych obszarów geograficznych.

Określenie grupy *D. virgifera* zostało oparte o nie wzbudzające wątpliwości cechy morfologiczne (Seeno & Wilcox, 1982):

- owady małe lub średniej wielkości,
- ciało bardziej spłaszczone i wydłużone niż wypukłe;
- przedplecze prawie kwadratowe z dwoma wgłębieniami; błyszczące; bardzo słabo i skąpo punktowane; gładkie z wyjątkiem długich szczecin w przednich i tylnych kątach; na krawędziach bocznych 1 lub 2 krótkie szczeciny sąsiadujące z długimi szczecinami w kątach, na tylnej krawędzi kilkanaście szczecin; szczeciny w kątach są niezwykle łamliwe i w związku z tym najczęściej ich nie ma, krawędź boczna wyraźnie wgłębiona;
- pokrywy z wyróżnionym fałdem barkowym o brzegach równoległych lub prawie równoległych, przedłużonym do co najmniej 2/3 pokryw; zwykle 2 lub więcej faliste bruzdy w okolicy barkowej zatarte u niektórych osobników; szczecinki na pokrywach krótkie i proste lub prawie proste, na krawędzi wierzchołkowej w niewielkiej ilości, w okolicy barkowej szczególnie skąpe;
- głowa lśniąca, szerokość powierzchni policzka mniej niż 1/4 maksymalnej średnicy oka;
- czułki z nielicznymi, umiarkowanie długimi, prawie prostymi szczecinami, pokryte opuszeniem z lekko zakrzywionych włosków, skąpym lub nieobecnym na 1. członie, skąpym na 2. i 3., gęstym na 4–11.; człony 1–3. gładkie, błyszczące, pozostałe chropowate; u samców człony 2. i 3. tej samej długości, u samic człon 3. dłuższy od 2. (do 2×); człony 2. i 3. razem wzięte są o prawie połowę krótsze niż człon 4.;
- aparat kopulacyjny samca ilustruje ryc. 17 (Web Fig.);
- worek wewnętrzny penisa zaopatrzony w 4 skleryty (ryc. 18 (Web Fig.)); skleryt 1. stanowi zaokrągloną płytkę wierzchołkową często ząbkowaną na wierzchołku i bocznych krawędziach, zawsze z bocznym ramieniem lub płatem skierowanym ku podstawie; skleryt 2. jest wydłużony, płaski, ząbkowany z boków (przypomina piłę), położony przyśrodkowo, u podstawy sklerytu 1.; skleryt 3. jest mały, wachlarzowaty, często ząbkowany, położony u podstawy worka wewnętrznego, tuż u podstawy sklerytu 2.; skleryt 4 jest wydłużony, delikatnie łukowaty, wyciągnięty wierzchołkowo w kolec pochodzący z przypominającej klatkę struktury u podstawy, kończący się w pobliżu ramienia bocznego sklerytu 1. oraz przystający do sklerytu 2.; w ogólnej budowie prącia, skleryt 2. i 3. położone są po tej samej stronie, co skleryt 4., umieszczone na tej stronie sklerytu 1., z którego wybiega ramię boczne skierowane ku podstawie.

Możliwość pomyłki z gatunkami podobnymi

Larwy mogą zostać pomyłone z innymi europejskimi gatunkami owadów żyjących w glebie (np. drutowce), które mogą zostać znalezione w tym samym czasie na korzeniach kukurydzy. Larwa *D. virgifera* jest wydłużona, osiąga 10–18 mm w trzecim stadium larwalnym (łącznie są trzy stadia larwalne). Larwa jest barwy białej do żółtawej z jasnobrązową puszką głowową i brązową płytką po grzbietowej stronie zakończenia ciała. Larwy chrząszczy z rodziny sprężykowatych z rodzaju *Agriotes* (drutowce) są dłuższe od larw *D. virgifera*, długości ciała do 20–25 mm, lśniąca, zabarwiona lśniąco żółto (*A. lineatus*), żółtobrązowo (*A. obscurus*). Puszka głowowa drutowca jest barwy ciemnobrązowej, a kutikula całego ciała jest bardziej stwardniała, niż u larw *D. virgifera*.

W przypadku postaci dorosłej istnieje raczej mała szansa pomyłki z innymi gatunkami europejskimi (Mohr, 1966). Jedynie następujące gatunki z rodziny stonkowatych wykazują

podobieństwo w kształcie, wielkości i podstawowym ubarwieniu ciała: *Acalymma vittatum* (Fabricius), *Coptocephala unifasciata* (Scopoli), *Cryptocephalus decemmaculatus* (Linnaeus), *Cryptocephalus moraei* (Linnaeus), *Cryptocephalus vittatus* Fabricius, *Phyllobrotica quadrimaculata* (Linnaeus) oraz *Pyrraltea luteola* (Muller), chociaż zabarwienie przedplecza i pokryw jest wyraźnie charakterystyczne. Poza tym te „podobne” gatunki nie są zazwyczaj obserwowane na kukurydzy, aczkolwiek mogą być stwierdzane na dziko rosnących gatunkach roślin znajdujących się w pobliżu upraw kukurydzy. *D. virgifera* może występować również na tych roślinach.

W rodzaju *Diabrotica* na terenie USA, oprócz *D. virgifera*, rozpoznawanych jest jako szkodniki dalsze 9 gatunków lub podgatunków: *D. adelpha* Harold, *D. balteata* Le Conte), *D. barberi* Smith&Lawrence, *D. speciosa speciosa* Germar, *D. speciosa vigens* Erichson, *D. undecimpunctata undecimpunctata* Mannerhaimer, *D. undecimpunctata howardi* Barber, *D. virgifera zea* Krysan&Smith, *D. viridula* (Fabricius). Do odróżnienia postaci dorosłych tych trzynastu gatunków lub podgatunków z rodzaju *Diabrotica* występujących w uprawach w USA może być wykorzystany klucz Krysan & Miller (1986). Wzięto w nim (tabela 1) również pod uwagę rozmieszczenie geograficzne tych gatunków w Ameryce Płn.

Oprócz larw *D. virgifera* na korzeniach kukurydzy mogą występować larwy *D. undecimpunctata howardi* oraz *D. longicornis*. Odróżnienie od siebie dojrzałych larw tych gatunków, żywych lub uśmierconych i zakonserwowanych w 70% etanolu, jest możliwa poprzez analizę budowy płytki analnej na dziewiątym segmencie odwłoka. Dodatkowym elementem przy odróżnianiu gatunków jest obecność ciemnych linii na puszce głowowej (Mendoza & Peters, 1964). Urogomphi (zróżnicowane wielkościami) występują u larw *D. undecimpunctata* (ryc. 20.1b (Web Fig.)), a u *D. virgifera* i *D. longicornis* jest ich brak (ryc. 20.2b, 3b (Web Fig.)). Tylno brzuszna krawędź płytki analnej u *D. undecimpunctata*, i *D. virgifera* (ryc. 20.1b, 2b (Web Fig.)) jest ciemnobrązowa, w przeciwieństwie do *D. longicornis* (ryc. 20.3b (Web Fig.)). Typową cechą charakterystyczną dla larw *D. virgifera* jest zaciemniony obszar z wycięciem na przedniej krawędzi płytki analnej (ryc. 20.2b (Web Fig.)). Poza tym, u *D. undecimpunctata*, i *D. virgifera* na obszarze poniżej kątów tylnej krawędzi płytki analnej znajduje się wąski zesklerotyzowany pasek, którego nie ma u *D. longicornis* (Mendoza & Peters, 1964).

W środkowej części puszki głowowej *D. undecimpunctata* jest obecny ciemny, rozproszony rysunek przypominający krzyż, którego ramiona boczne są przedłużone do podstawy szczecin umieszczonych po obu stronach rysunku (ryc. 20.1b (Web Fig.)), czego nie ma u *D. longicornis* i *D. virgifera*. Typową cechą charakterystyczną *D. virgifera* jest obecność ciemnego pasa biegnącego ku przodowi wzdłuż szwu epikranialnego oraz wzdłuż ok. 2/3 długości każdego szwu czołowego, tworzącego widełkowaty rysunek, bardziej rozproszony niż pasek brzegowy (ryc. 20.2a (Web Fig.)).

Do odróżnienia dojrzałych larw *D. virgifera* od larw *D. undecimpunctata howardii* oraz *D. longicornis* może być wykorzystany klucz (tabela 2) Mendoza & Peters (1964).

Tabela 1. Klucz do identyfikacji postaci dorosłych 13 gatunków i podgatunków z rodzaju *Diabrotica* występujących w uprawach w USA.

1.	Pokrywy w części jasne, żółte lub zielone.	2.
–	Pokrywy całkowicie ciemne, ciało długości 4–6 mm.	<i>D. cristata</i>
2.	Przedplecze jasne, żółte lub zielone.	3.
–	Przedplecze czarne (górskie łąki w Nowym Meksyku, zachodnim Teksasie i Arizonie).	<i>D. lemiscata</i>
3.	Tarczka z podłużnymi żeberkami.	4.
–	Tarczka bez żeberk.	8.

4.	Uda czarne lub jasne z zaczernionymi zewnętrznymi krawędziami.	5.
–	Uda zielone lub żółte, bez czarnych elementów.	6.
5.	Pokrywy z czarnymi pasami biegnącymi od kątów barkowych i szwu, często pokrywają większość pokrywy, owady zwykle zabarwione żółto-czarno.	<i>D. virgifera virgifera</i> (ryc. 18(A) (Web Fig.))
–	Pokrywy całkowicie jasne lub z wąskim, smolistym pasem biegnącym ku tyłowi od kątów barkowych, owady w większości zielone.	<i>D. virgifera zea</i> (ryc. 18(B) (Web Fig.))
6.	Czułki (z wyjątkiem członu pierwszego), nadustek, goleń i stopa ciemne, często czarne.	7.
–	Czułki, nadustek, goleń i stopa żółte lub kremowe, pasy na pokrywach jeśli są obecne to bardzo słabo wybarwione.	<i>D. barberi (częściowo)</i> (ryc. 18(C) (Web Fig.))
7.	Tarczka zwykle czarna (od Nebraski i Teksasu po Kolorado i Arizone).	<i>D. longicornis</i>
–	Tarczka żółta lub kremowa – populacje z Pensylwanii, stanów: Quebeck do Vermont i Massachusetts; czarna – stany Georgia i Południowa Karolina	<i>D. barberi (częściowo)</i>
8.	Pokrywy z czarnymi plamami.	9.
–	Pokrywy bez czarnych plam, zielone z poprzecznymi żółtymi pasami.	<i>D. balteata</i> (ryc. 18(D) (Web Fig.))
9.	Pokrywy z 11 czarnymi plamami.	10.
–	Każda pokrywa u nasady z czarnym polem otaczającym jasną plamę i łukowato przebiegającym poprzecznym czarnym pasem w części wierzchołkowej.	<i>D. tibialis</i>
10.	Odnóża i odwłok całkowicie czarne (wybrzeże Oceanu Spokojnego).	<i>D. undecimpunctata undecimpunctata</i>
–	Odwłok jasny, odnóża częściowo jasne.	11.
11.	Plamy czarne i raczej duże; ciało mocnej budowy.	<i>D. undecimpunctata howardi</i> (ryc. 18(E) (Web Fig.))
–	Plamy mniejsze, brązowawe, ciało drobniejsze.	<i>D. undecimpunctata tenella</i>

Tabela 2. Klucz do identyfikacji dojrzałych larw wybranych gatunków z rodzaju *Diabrotica*.

1.	Larwy z urogomphi, puszka głowowa z boków wyraźnie zaokrąglona, w środkowej części czoła rysunek przypominający krzyż.	<i>D. undecimpunctata</i>
–	Larwy bez urogomphi, puszka głowowa z boków prawie prosta i wydłużona, z ciemnymi liniami wzdłuż środkowej części czoła, brak rysunku przypominającego krzyż.	2.

-
2. Larwy z wyraźnym wycięciem na ciemnym obszarze przedniej krawędzi tarczki analnej oraz zesklerotyzowanym pasem poniżej kątów tylnej krawędzi płytki analnej. Ciemny pas biegnący wzdłuż szwu epikranialnego rozchodzi się na boki wzdłuż szwu czołowego, obejmując 1/3 jego długości. *D. virgifera*
- Larwy z zaokrąglonym brzegiem ciemnego obszaru przedniej krawędzi tarczki analnej, zesklerotyzowany pas poniżej kątów tylnej krawędzi płytki analnej nie występuje. Ciemny pas biegnący wzdłuż szwu epikranialnego nie przechodzi na szew czołowy. *D. longicornis*.
-

Wymagania dla pozytywnej diagnozy

Powinny zostać spełnione procedury rozpoznania i identyfikacji opisane w niniejszym protokole. W celu prawidłowej identyfikacji powinny zostać poddane analizie postaci dorosłe. Okazy powinny posiadać opisane powyżej cechy charakterystyczne dla rodziny *Chrysomelidae*, podrodziny *Galereucinae*, rodzaju *Diabrotica* i gatunku *virgifera*.

Raport z badania

Sprawozdanie dotyczące identyfikacji przeprowadzonej zgodnie z niniejszym protokołem powinno obejmować:

- informację i dokumentację dotyczącą pochodzenia porażonego materiału,
- jeśli jest to stosowne: pomiary i rysunki lub fotografie obrazujące cechy charakterystyczne budowy zewnętrznej niezbędne do poprawnej identyfikacji,
- informacje na temat stopnia porażenia (ilość znalezionych okazów, stopień uszkodzenia roślin),
- jeśli ma to zastosowanie: komentarz dotyczący pewności lub niepewności identyfikacji,
- zakonserwowane/spreparowane okazy.

Informacje dodatkowe

Dodatkowe informacje dotyczące opisanego organizmu można uzyskać: Prof. C. R. Edwards (Purdue University, Department of Entomology, 1158 Smith Hall, West Lafayette, IN 47907-1158 (USA)).

Podziękowania

Niniejszy protokół został sporządzony oryginalnie przez następujące osoby: P. Baufeld (Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Kleinmachnow (Niemcy)), P. Reynaud (UFR d'Ecologie Animale et de Zoologie Agricole, Montpellier (Francja)).

Materiały źródłowe³

Apple JW, Chiang HC, English LM, French LK, Keaster AJ, Krause GF, Mayo ZB, Munson JD, Musick GJ, Owen JC, Rasmussen EE, Sechriest RE, Tollefson JJ & Wedberg JL (1977)

³ Został zachowany oryginalny sposób zapisu tytułów. (przyp. tłum.)

- Impact of northern and western corn rootworm larvae on field corn. *North Central Region Research Publication* no. 239. Research Division: University of Wisconsin, Madison (USA).
- Baca F, Camprag D, Keresi T, Krnjajic S, Manojlovic B, Sekulic R & Sivcev I (1995) [Western corn rootworm *Diabrotica virgifera virgifera*.]. W: *Drustvo za Zastitu Bilja Srbije*. Belgrade (Jugosławia) (jęz. serbski).
- Christensen J (1943) [Studies on the genus *Diabrotica* Chev. in Argentina.]. *Revista de la Facultad de Agronomia y Veterinaria* **10**, 464–516 (jęz. hiszpański).
- Delvare G & Aberlenc HP (1989) *Les insectes d'Afrique et d'Amérique tropicale – Clés pour la reconnaissance des familles*. CIRAD/GERDAT, Montpellier (Francja).
- Edwards CR, Barcic J, Berberovic H, Berger HK, Festic H, Furlan L, Ivanova I, Kiss J, Princzinger G, Sivcev I & Vonica I (1999) An update on the spread of western corn rootworm in Europe. In: *6th International IWGO Workshop on Diabrotica virgifera*. Paris (Francja).
- EPPO/CABI (1997) *Diabrotica barberi* and *D. virgifera*. *Quarantine Pests for Europe* (2nd edn), pp. 233–237. CAB International, Wallingford (Wielka Brytania).
- Kiss J, Khosbayar B, Komaromi J, Igrc-Barcic J, Dobrincic R, Sivcev I, Edwards CR & Hatala-Zseller I (2001) Is the western corn rootworm adapting itself to the European crop rotation system? Results of a joint European trial. In: *8th International IWGO Workshop on Diabrotica virgifera*. Venezia (Włochy).
- Krysan JL & Miller TA (1986) *Methods for the Study of Pest Diabrotica*. Springer Verlag, New York (USA).
- Krysan JL, Ray FS, Branson TF & Guss PL (1980) A new subspecies of *Diabrotica virgifera*: description, distribution, and sexual compatibility. *Annals of the Entomological Society of America* **73**, 123–130.
- Lawrence JF (1991) Order Coleoptera. In: *Immature Insects* (Ed. Stehr FW), 2, pp. 144–658. Kendall/Hunt, Dubuque (USA).
- Mendoza CE & Peters DC (1964) Species differentiation among mature larvae of *Diabrotica undecimpunctata howardi*, *D. virgifera*, and *D. longicornis*. *Journal of the Kansas Entomological Society* **37**, 123–125.
- Mohr KH (1966) Chrysomelidae. In: *Die Käfer Mitteleuropas* (Ed. Freude H, Harde KW & Lohse GA), Vol. 9, pp. 95–280. Goecke & Evers, Krefeld (Niemcy).
- Petty HB, Kuhlman DE & Sechrist RE (1968) Corn yield losses correlated with rootworm larval populations. *Entomological Society of America North Central Branch Proceedings* **24**, 141–142.
- Seeno T & Wilcox JA (1982) Leaf beetle genera (Coleoptera: Chrysomelidae). *Entomography* **1**, 1–221.
- Wilcox JA (1972) *A Synopsis of the North American Galerucinae* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Bulletin New York State Museum and Science Service* no. 400. Albany (USA).



Ryc. 1. Larwy *Diabrotica virgifera*.



Ryc. 2. Uszkodzenia korzeni kukurydzy przez larwy.



Ryc. 3. Postać dorosła *Diabrotica virgifera*.



Ryc. 4. Postać dorosła żerująca na słupkowie kwiatu kukurydzy.



Ryc. 5. Słabo wypełniona ziarniakami kolba kukurydzy jako skutek redukcji słupkowie i wyjadania pyłku przez postaci dorosłe.



Ryc. 6. Uszkodzenia liści przez postaci dorosłe.



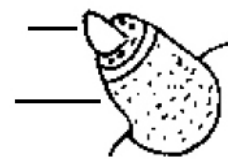
Ryc. 7. Owoc dyni zaatakowany przez postaci dorosłe.



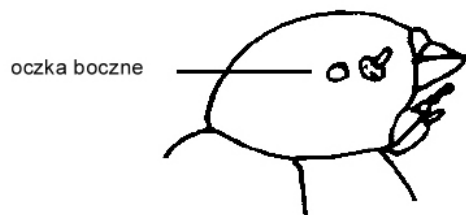
Ryc. 8. Żuwaczka larwy.



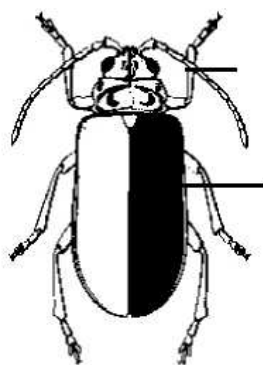
Ryc. 9. Odnóże larwy.



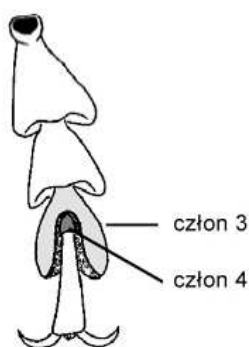
Ryc. 10. Czułek larwy.



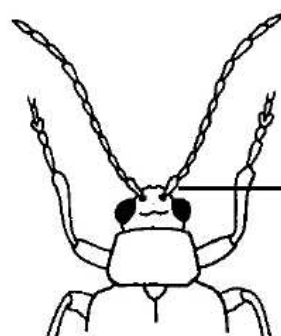
Ryc. 11. Głowa larwy.



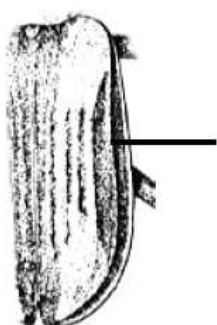
Ryc. 12. Budowa ciała chrząszczy z rodziny *Chrysomelidae*.



Ryc. 13. Budowa stopy postaci dorosłej.



Ryc. 14. Przednia część ciała.



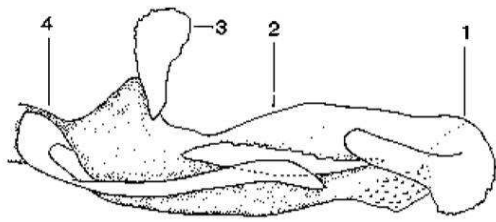
Ryc. 15. Prawa pokrywa.



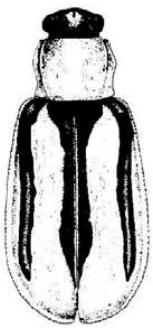
Ryc. 16. Udo.



Ryc. 17. Aparat kopulacyjny samca.



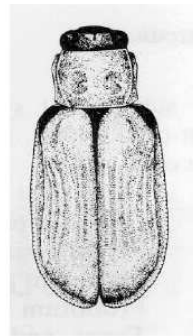
Ryc. 18. Widok od strony brzusznej worka wewnętrznego penisa chrząszcza z rodzaju *Diabrotica*.



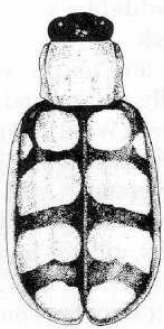
(A)



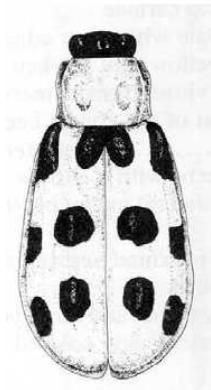
(B)



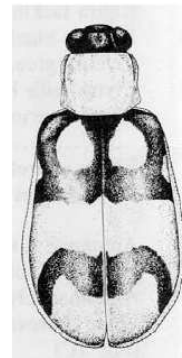
(C)



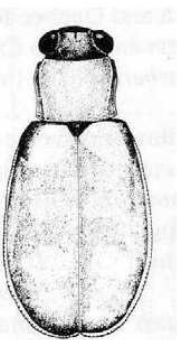
(D)



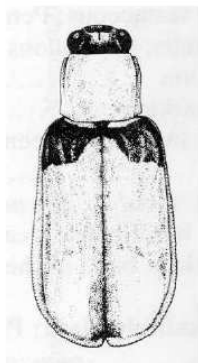
(E)



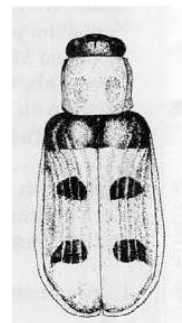
(F)



(G)

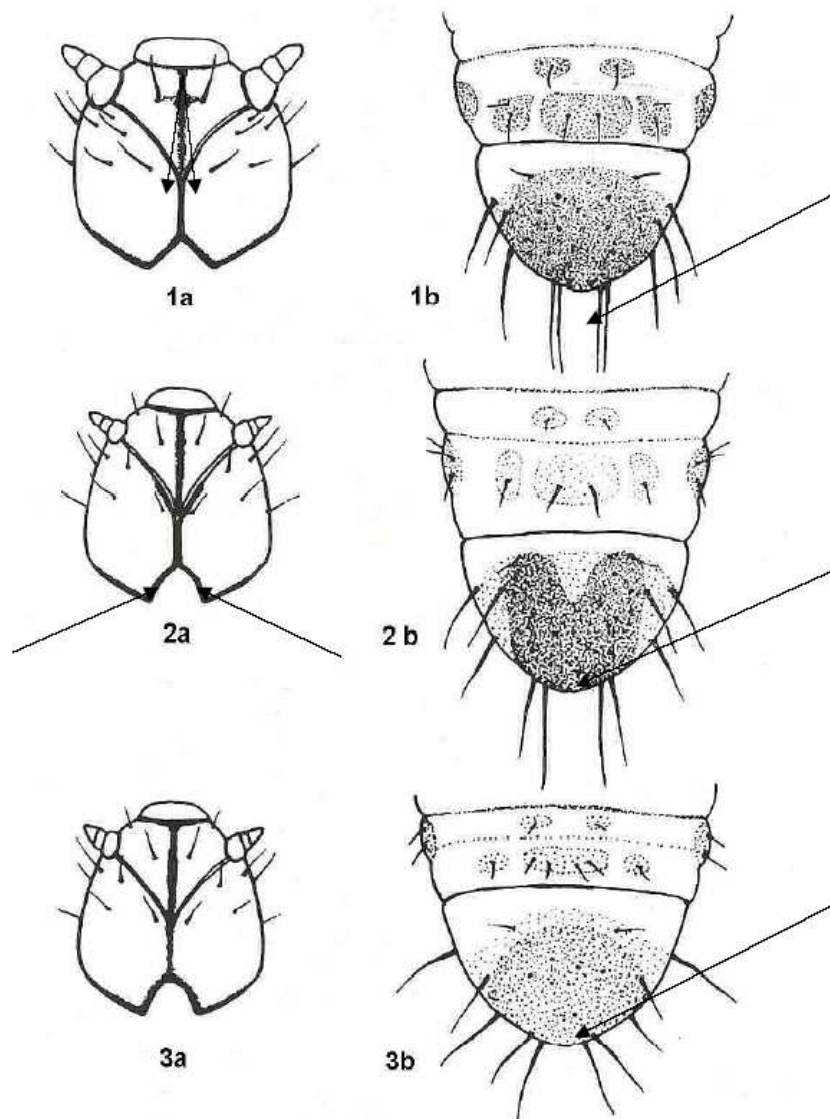


(H)



(I)

Ryc. 19. (A) *Diabrotica virgifera virgifera*, (B) *D. virgifera zeae*, (C) *D. barberi*, (D) *D. balteata*, (E) *D. undecimpunctata howardii*, (F) *D. adelpha*, (G) *D. speciosa*, (H) *D. viridula* (odmiana), (I) *D. viridula* (odmiana).



Ryc. 20. Puszka głowowa (a) i segmenty analne (b) larw: *D. undecimpunctata howardii* (1a, 1b), *D. virgifera* (2a, 2b), *D. longicornis* (3a, 3b).

Źródło ilustracji

Ryc. 1-4

Baufeld, P. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Department for National and International Plant Health, D-14532 Kleinmachnow, Stahnsdorfer Damm 81, Germany

Ryc. 5

Edwards, C. R. Purdue University, Department of Entomology, 1158 Smith Hall, West Lafayette, IN 47907-1158, USA.

Ryc. 6

Baufeld, P. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Department for National and International Plant Health, D-14532 Kleinmachnow, Stahnsdorfer Damm 81, Germany

Ryc. 7

Hummel, H. Justus-Liebig-University of Goettingen, Institute of Phytopathology and Zoology, D-35392 Giessen, Heinrich-Buff-Ring 26-32, Germany.

Ryc. 8-11

Lawrence, J.F., 1991. Order Coleoptera. pp. 144-658. In Stehr, F. W. (ed.) *Immature Insects*. Kendall/Hunt, Dubuque, Iowa. Vol. 2. xvi + 975 ss.

Ryc. 12

Lawrence, J.F., Britton, E.B., 1991. Coleoptera. pp. 543-683. In *The Insects of Australia : a Textbook for Students and Research Workers*. (CSIRO ed.) Cornell University Press, Vol. II. 1137 ss.

Ryc. 13

Delvare, G., Aberlenc, H.P., 1989. Les insectes d'Afrique et d'Amérique tropicale – Clés pour la reconnaissance des familles. *CIRAD/GERDAT*, Montpellier, 302 ss.

Ryc. 14

Mohr, K.H., 1966. Chrysomelidae. pp. 95-280 in H. Freude, K.W. Harde & G.A. Lohse (Eds.), *Die Käfer Mitteleuropas*. Gaecke & Evens, Krefeld. Vol. 9.

Ryc. 15-18

Krysan, J.L., Ray, F.S., Branson, T.F., Guss, P.L., 1980. A new Subspecies of *Diabrotica virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae): Description, Distribution, and Sexual Compatibility. *Annals of the Entomological Society of America* **73**, 123-130.

Ryc. 19

Krysan, J.L. & Miller, T.A., eds., 1986. Methods for the study of Pests *Diabrotica*. *Springer-Verlag*, New York, 260 ss.

Ryc. 20:

Mendoza CE & Peters DC (1964) Species differentiation among mature larvae of *Diabrotica undecimpunctata horwardi*, *D. virgifera*, and *D. longicornis*. *Journal of the Kansas Entomological Society* **37**, 123-125.

Tłumaczenie z jęz. angielskiego:	Sprawdził:	Zatwierdził:
Tomasz Konefał (GIORiN CL)	Witold Karnkowski (GIORiN CL)	Janina Butrymowicz (GIORiN CL)
15.10.2009	26.11.2009	30.11.2009