

Ocena skuteczności rodentocydów

Gryzonie polne (*Microtus*, *Arvicola*)

Zakres

Niniejsza norma opisuje sposób prowadzenia badań nad oceną skuteczności rodentocydów w zwalczaniu gryzoni polnych (*Microtus*, *Arvicola*).

Zatwierdzenie normy i poprawki

Po raz pierwszy zatwierdzona we wrześniu 1991r.
Zgodnie z poprawkami wniesionymi do tekstu normy w 1998 r.

Wstęp

Niniejsze normy 'drugiej generacji' zastępują sekcje IV i V wcześniejszych wytycznych EPPO, dotyczących opracowania i biologicznej oceny rodentocydów (OEPP/EPPO, 1975). Normy te stanowią uzupełnienie pozostałych, opublikowanych już norm EPPO, tzn. normy PP 1/113 Przeprowadzanie badań laboratoryjnych dla oceny toksyczności i akceptacji rodentocydów i preparatów gryzoniobójczych oraz normy PP 1/114 Badania polowe preparatów przeciwko gryzoniom synantropijnym (*Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *R. rattus*). Wspólnie, normy te zawierają metody uwzględniane przez EPPO odnośnie przeprowadzania badań wydajności rodentocydu w warunkach polowych, natomiast badania laboratoryjne zawarto w normie PP 1/113 EPPO.

Metody badań zostały określone w sposób pozwalający osobom je przeprowadzającym na łatwy wybór badań najbardziej odpowiadających ich potrzebom. Dla ułatwienia, w Załączniku I zamieszczono przykłady danych doświadczalnych wraz z metodą obliczania procentowej wartości wskaźników śmiertelności. W celu uzyskania dalszych informacji, prosimy zapoznać się z treścią Załącznika II do normy PP 1/114 EPPO.

1. Rodzaje doświadczeń

Doświadczenia przeprowadzane w warunkach polowych powinny określać procentową wartość śmiertelności w następstwie zastosowania danego rodentocydu. Sposób badania powinien dostarczać bezpośrednio porównywalne wskaźniki liczbowe lub aktywności zwierząt, przed i po jego zastosowaniu, jak również pozwalać na równoległe porównywanie poletek doświadczalnych poddanych zabiegowi i poletek kontrolnych. Ponadto, spis liczebności dokonany przed zabiegiem nie powinien być zanadto sprzeczny z liczbami lub strukturą badanej populacji. W ramach tak ogólnego zakresu, osoba przeprowadzająca doświadczenie może modyfikować sugerowane metody lub używać sprawdzonych już metod spisu liczebności w przypadku, gdy jest to niezbędne do spełnienia określonych warunków lokalnych.

Pomimo istnienia widocznych różnic w upodobaniach środowiskowych oraz w innych wzorcach zachowania pomiędzy danymi gatunkami, istnieje możliwość użycia podobnych eksperymentalnych schematów w przypadku większości ważnych gatunków szkodników. Procedury przedstawione poniżej zostały ocenione pod względem typu i poziomu dokładności przewidywanych danych, jak również pod względem ilości i jakości włożonej pracy. Pomimo braku jakiegokolwiek opisu na ten temat w niniejszym opracowaniu, radiotelemetria może okazać się przydatna w dostarczeniu istotnych informacji odnośnie przemieszczania się zwierząt podczas okresu próbnego, aczkolwiek metoda ta może okazać się kosztowna i pracochłonna.

2. Warunki badania

Minimalna ilość poletek wykorzystanych do jednego doświadczenia wynosi dwa: jedno do zabiegu z użyciem badanego preparatu i drugie jako poletko kontrolne niepoddane zabiegowi. Zalecane jest również trzecie poletko poddane zabiegowi z zastosowaniem znanego standardowego rodentocydu. Zawsze wskazane jest powtarzanie. Wstępna ocena odpowiedności rozprzestrzeniania się gryzoni na potrzeby doświadczenia dokonywana jest poprzez 'odczytywanie znaków' (zniszczenie roślinności, ścieżki, kopce, otwory, itd.). Przynajmniej połowa losowo badanych punktów powinna być pozytywna. Wstępny spis liczebności metodą odłowu z użyciem pułapek żywołownych (metoda CMR, czyli odłowienie-oznaczenie-ponowne odłowienie) jest dopuszczalny jako rozwiązanie alternatywne.

Teren należy podzielić na poletka podobne pod względem rodzaju roślinności, warunków mikroklimatycznych oraz otaczającego środowiska. Minimalny rozmiar poletka powinien wynosić 2 ha, gdy spis liczebności wykonywany jest metodą odłowu z użyciem pułapek żywołownych. W przypadku, gdy na potrzeby spisów liczebności wykonywanych przed i po zabiegu stosuje się procedury usuwania, wówczas rozmiar poletka doświadczalnego powinien przekraczać 4 ha (nie powinno ono być mniejsze niż 4

ha). W każdym przypadku, spis liczebności populacji powinien koncentrować się na środkowej części poletka pozostawiając, jeśli jest to możliwe, 50-metrową strefę buforową poddawaną zabiegowi.

Zabieg należy rozpocząć w ciągu 3 dni od ostatniego dnia spisu liczebności wykonanego przed zabiegiem. Sposób zastosowania trucizny uzależniony jest od jej rodzaju oraz instrukcji w oparciu o poprzednie badania. Należy zapisywać warunki pogodowe (temperaturę, opady deszczu, wiatr, itd.) występujące podczas spisu liczebności.

Czas trwania spisu liczebności wykonywanego przed zabiegiem zależał będzie od działania trucizny. Okres pomiędzy zakończeniem stosowania trucizny i rozpoczęciem powtórnego odłowu, nawet w przypadku trucizny o szybkim działaniu, powinien wynosić 3 dni. W przypadku trucizny o powolnym działaniu, konieczne może okazać się oczekiwanie przez okres przynajmniej 21 dni. W przypadku badania długoterminowego wpływu zabiegu z użyciem rodentocydów (np. w przypadku ciągłego podkładania trującej przynęty) konieczne będzie powtarzanie spisu liczebności.

3. Sposób spisywania liczebności

3.1 Spisywanie liczebności gatunku *Microtus spp* oraz innych gryzoni niezaliczanych do nornikowatych

3.1.1 Podwójna metoda CMR

Spisy liczebności wykonywane przed i po zabiegu są oparte na metodzie odławiania na żywo (CMR). W celu zminimalizowania 'efektu skrajnego', odławianie związane ze spisem powinno odbywać się wyłącznie w środkowej strefie poletka doświadczalnego o powierzchni 0,5 ha (Rys. 1¹).

W przypadku gatunku *Microtus agrestis*, pułapki umieszcza się na kratce 7 × 7 rzędów o rozmiarze 10 × 10 m pomiędzy punktami odławiania (punktami przecięcia linii kratki). Zalecane jest stosowanie pułapek do chwytania wielu osobników na raz (np. szwedzką pułapkę 'Ugglan') w każdym punkcie, bądź trzy pułapki do chwytania pojedynczego (Longworth, Sherman, itd.) (Rys. 1). W pułapkach powinien znajdować się pokarm (np. owies lub - w przypadku temperatur powyżej zera – pokarm soczysty), a w zależności od rodzaju pułapki i pogody – materiał do budowy gniazda.

W przypadku gatunku *Microtus arvalis*, najbardziej odpowiednie może okazać się umieszczenie tej samej ilości pułapek na ścieżkach norników zamiast przyczepiania ich do sztywnego systemu kratki. Pułapki na powierzchni przekraczającej 0,5 ha powinny być rozstawione jak najrówniej.

Odławianie należy wykonywać przynajmniej na 3 dni przed i po zabiegu. W zależności od rodzaju pułapki i pogody, pułapki należy kontrolować, a schwytane osobniki wypuszczać najlepiej dwa razy dziennie w celu ograniczenia umieralności zwierząt spowodowanej

przebywaniem w pułapkach w ekstremalnych temperaturach lub bez pokarmu. Odłowów przeprowadzanych nocą można zaniechać, gdy są one przyczyną śmiertelności w pułapkach.

Każde zwierzę schwytane na różnych poletkach i o różnych porach zostaje oznaczone, przez co staje się identyfikowalne, po czym zostaje wypuszczone. W zależności od umiejętności pracowników, zaleca się dokładne ewidencjonowanie (obejmujące osobne oznaczenie i lokalizację, płeć, wagę, warunki rozmnażania, itd.) ze względu na dane, jakich tego rodzaju ewidencja może dostarczyć odnośnie struktury i stabilności populacji docelowej.

W przypadku, gdy liczba osobników danego gatunku odłowionych w trakcie spisu liczebności, wykonywanym przed zabiegiem, jest zbyt mała (mniej niż 30 na poletko doświadczalne w trakcie 3-dniowego odłowu) wówczas doświadczenie należy przerwać.

3.1.2 Podwójne wypuszczanie

Opisana powyżej podstawowa metodologia jest krytykowana głównie z powodu nakładu pracy i wymaganego poziomu umiejętności. Dlatego też, w zamian, proponuje się sposoby alternatywne polegające na wypuszczaniu schwytanych osobników przed i po zabiegu, pomimo, że bez wątplenia są to sposoby gorsze. Ich główną wadą jest to, że mogą one w pewnym stopniu zakłócać ilość i strukturę populacji przed zabiegiem. A zatem, stosowanie owych sposobów powinno być ograniczone do poletek doświadczalnych o dużych rozmiarach (o powierzchni nie mniejszej niż 4 ha) i o wysokim zagęszczeniu populacji. Bardzo ważne są tutaj poletka kontrolne niepoddane zabiegowi. Jeśli odnotowany zostanie ponad 30-procentowy spadek w liczbie osobników odłowionych na poletku kontrolnym niepoddanym zabiegowi, doświadczenie należy najprawdopodobniej uznać za nieważne.

Metoda linii równoległych. W procedurze tej, zmodyfikowanej na podstawie procedury Spitzza (1965), w celu dokonania oceny poziomu wydajności trucizn przeciw *M. arvalis* (Rys. 2a), pułapki umieszczane są w równoległych liniach (jeśli to możliwe, na odcinku 100 m) w poprzek poletka doświadczalnego, w ilości dwóch pułapek, co dwa metry. Odległość pomiędzy liniami powinna wynosić 20 m poza okresem rozrodczym i 30 m w okresie rozrodczym. Połowa linii (na przykład, 3 linie o ogólnej liczbie 120 punktów i 240 pułapek na jedno poletko doświadczalne) jest obsługiwana przez 2 dni przed zastosowaniem trucizny, natomiast druga połowa – po zabiegu.

Nie zaleca się bezpośredniego obliczania procentowej śmiertelności wyłącznie na podstawie zmian w liczbie osobników odłowionych na danym poletku doświadczalnym (Spitz, 1965 r). Zamiast tego, zaleca się stosowanie poletek kontrolnych niepoddanych zabiegowi i równania zawartego w punkcie 4 (Henderson i Tilton, 1955 r).

Chwytanie strefowe. Zamiast równoległych linii można stosować odpowiednią liczbę kwadratów o rozmiarze 20 x 20 m z 25 pułapkami w każdym z nich,

¹ Wartości zostały pogrupowane na końcu normy, po odnośnikach.

umieszczonymi na ścieżkach norników (patrz poniżej). Pułapki należy kontrolować raz dziennie przez dwa kolejne dni.

Metoda małych kwadratów. Próbkę do usuwania mogą opierać się na chwytaniu w małych kwadratach o rozmiarze 15 x 15 m, w których każdy punkt zawiera od 3 do 5 pułapek (Myllymäki *et al.*, 1971) (Rys. 2b). Kwadraty są rozmieszczane losowo (lub układane warstwowo) na powierzchni poletka doświadczalnego, a pułapki obsługiwane przynajmniej 3 dni przed i po zabiegu. Poziom wydajności badanej trucizny oblicza się zgodnie z równaniem przedstawionym w punkcie 4. Użyteczność metody małych kwadratów została przetestowana w doświadczeniach kontrolnych przeciw gatunkom *M. agrestis*, *M. arvalis* i gryzoniowi spoza gatunku nornikowatych - *Arvicola terrestris* - aczkolwiek metoda ta może być również wykorzystywana w badaniach przeciw gatunkowi *Clethrionomys*. Metoda ta jest również bardzo przydatna w ocenianiu skutków praktycznego stosowania rodentocydów na szeroką skalę.

3.1.3 Metody uproszczone polegające na odczytywaniu znaków

Obydwie opisane poniżej procedury są procedurami bardziej subiektywnymi i, co za tym idzie, mniej odpowiednimi do dokonywania oceny poziomu wydajności danego rodentocydu, niż spisy liczebności polegające na odławianiu. Dla doświadczonego pracownika, metody te mogą stanowić użyteczne narzędzie do zastosowania w trudnych warunkach oraz, na przykład, do oceny wyników praktycznych kampanii kontrolnych prowadzonych na dużą skalę.

*Liczenie otworów odkopanych ponownie przez gatunek *Microtus arvalis*.* Na poletku o minimalnej powierzchni 2 ha, kontrolowane są cztery dowolne kwadraty o rozmiarze 15 x 15 m każdy, w celu stwierdzenia obecności otwartych korytarzy. W przypadku stwierdzenia znacznej ich liczby, wszystkie otwory są zamykane, a poletko zostaje ponownie skontrolowane po upływie tygodnia. Odkopane na nowo otwory są liczone, zasypywane i liczone ponownie następnego dnia. Ta sama procedura powtarzana jest w odpowiednim czasie po zabiegu. Metodę tę można, z pewnymi zastrzeżeniami, stosować również w przypadku innych gatunków, np. *Arvicola*, występujących w północnej części Europy oraz europejskich chomików, które pozostawiają po sobie dobrze widoczne otwory w swoich norach. Oprócz tego, metodę liczenia 'aktywnych' kolonii można również stosować w przypadku gatunków kolonialnych.

*Liczenie otworów oddechowych pozostawionych w śniegu przez gatunek *Microtus agrestis*.* Zima to pora roku, podczas której największe zniszczenia dokonywane są pod pokrywą śnieżną, np. na drzewach, zwłaszcza w północnych szerokościach geograficznych. Konieczne staje się wówczas przeprowadzanie doświadczeń lub kontrolowanie długoterminowych skutków zabiegów wykonanych w czasie poprzedniej jesieni. W takim przypadku, metoda uproszczona opiera się na nawyku tworzenia otworów oddechowych w śniegu, charakterystycznych dla pewnych gatunków norników występujących na północy, a w szczególności gatunku *M. agrestis*, (Myllymäki, 1970).

Ogólny plan doświadczenia może opierać się na projekcie zawartym w punkcie 2. Zalecane jest jednak poletko o większej powierzchni. Zamiast odławiania, liczone są otwory oddechowe na danym poletku wzdłuż równoległych linii przecinających jego powierzchnię. Generalnie, 10-metrowa odległość pomiędzy liniami kontrolnymi jest dostateczna do uzyskania wystarczająco dokładnych szacunków. Wszystkie obliczenia podczas tego samego doświadczenia należy wykonywać w niezmiennych warunkach meteorologicznych, najlepiej w tym samym dniu. Najlepsze warunki występują zazwyczaj 2 dni od ostatniego opadu śniegu.

3.2 Spisywanie liczebności gatunków nornikowatych

Opisane poniżej metody zostały opracowane dla nornikowatego gatunku *A. terrestris* (Pascal, 1988). Uwzględniając cykliczną naturę rozprzestrzeniania się tego gatunku, doświadczenia z rodentocydami do jego

zwalczania można zaplanować na dwóch poziomach: (1) na początku pojawów, gdy strefy zawierające wzniesienia (sieć kanałów lub nor) związane z osobnymi skupiskami zostają odizolowane i wyodrębnione; (2) w czasie pojawów, gdy rozprzestrzenianie się jest ciągle i przy dużej ilości wzniesień z otworami znajdującymi się na dużej powierzchni.

3.2.1 Doświadczenia przeprowadzane na osobnych skupiskach

Do zabiegu należy wybrać przynajmniej sześć skupisk oraz sześć skupisk kontrolnych odosobnionego rodzaju. Ilość gatunku *A. terrestris* szacuje się za pomocą metody CMR przez 2-4 dni, stosując od 3-5 pułapek żywołownych (np. pułapek Shermana), próbując schwytać wszystkie zwierzęta w każdej z sieci kanałów (Rys. 3). Schwyte zwierzęta oznaczane są osobno. Pomimo faktu, iż ilość norników na jedno skupisko nie musi być identyczna, nie powinna mieć miejsca zbyt duża rozbieżność liczbowa lub strukturalna (wiek, płeć, aktywność seksualna), a skupisko należy przypisać, na tej podstawie, grupom kontrolnym bądź grupom poddanym zabiegowi.

Przynętę należy umieścić w korytarzu znajdującym się najbliżej pułapki, w której schwytano największą liczbę osobników, podczas spisu liczebności przeprowadzanego przed zabiegiem. Ziemię znajdującą się nad korytarzem należy usunąć i ułożyć ponownie w tym samym miejscu po umieszczeniu przynęty, równomiernie po obydwu stronach otworu (Rys. 4A-D). Możliwe jest również stosowanie przynęty w korytarzu, którą należy umieścić w tym samym miejscu, w którym wcześniej znajdowała się pułapka.

Po upływie przynajmniej 24 godzin, można dokonać kontroli usuniętej przynęty. Należy w tym celu delikatnie unieść ziemię i sprawdzić dwa odcinki korytarza w poszukiwaniu pozostałej przynęty po obydwu stronach. Znalezioną przynętę należy wymienić i przykryć ponownie ziemią.

Po upływie odpowiedniego okresu czasu (zgodnie z badanym rodentocydem; 21 dni w przypadku antykoagulantu) wszystkie zwierzęta należy odłowić, najlepiej za pomocą potrzasków. Liczba pułapek powinna przekraczać przynajmniej dwukrotnie liczbę pułapek żywołownych w okresie spisu liczebności przeprowadzanego przed zabiegiem. Obecność zwierząt nieoznaczonych świadczy o napływie zwierząt młodych, imigracji lub pojawieniu się osobników nieodłowionych podczas spisu przeprowadzanego przed zabiegiem; zwierzęta te należy pominąć podczas ustalania skuteczności działania danego środka.

3.2.2 Badanie stałego rozprzestrzeniania się

Poletka kontrolne i poletka poddane zabiegowi o minimalnej powierzchni 2 ha powinny znajdować się na obszarze trawiastym o stałym rozprzestrzenianiu się gryzoni. Poletka te powinny być oddzielone od pozostałych środowisk.

Spis liczebności populacji gryzoni przeprowadza się poprzez próbkowanie liniowe oraz poprzez całkowite odłowienie w pasie 100 x 5 m. Każdy pas

przeznaczony do próbkowania składa się z szeregu 20 małych poletek o rozmiarze 5 x 5 m, z dwoma punktami odłowu, w obrębie korytarzy zlokalizowanych na podstawie próbkowania każdego poletka (Pascal & Meylan, 1986; Pascal *et al.*, 1988). W przypadku stosowania pułapek żywołownych, w każdym punkcie powinna znajdować się jedna pułapka. Odławianie tego rodzaju stosuje się przez nie krócej niż 2 dni, a pułapki należy kontrolować 8 razy dziennie w interwałach czasowych nie krótszych niż dwie godziny. Zalecane jest stosowanie dwóch pasów do próbkowania, rozmieszczonych przynajmniej 30 m od siebie, w celu uzyskania lepszych wartości szacunkowych, co do zagęszczenia populacji.

W przypadku, gdy niemożliwe jest znalezienie dwóch punktów do odławiania w 10 z 20 kwadratowych poletek w każdym pasie, zagęszczenie norników jest niewystarczające dla tego rodzaju badania; ponieważ nory są od siebie oddzielone, zaleca się stosowanie metody opisanej w punkcie 3.2.1.

Przynęty można umieszczać mechanicznie wzdłuż linii równoległych, w odległości 4-6 m, a także wzdłuż linii otaczających całe poletko, najlepiej za pomocą urządzenia do kopania nor (Rys. 5). Przynętę można również umieszczać w korytarzach zlokalizowanych na podstawie próbkowania. W celu umieszczenia przynęty, należy wykopać otwór poprzez wprowadzenie próby (Fig. 4 E-H); wykopany otwór należy bezzwłocznie wypełnić ziemią. Jest to uproszczona wersja metody opisanej w punkcie 3.2.1.

Po upływie czasu określonego na podstawie właściwości substancji aktywnej, próbkowanie zostanie przeprowadzone w dwóch nowych pasach, oddalonych o 30 m od siebie oraz od pasów próbkowania wykonywanego przed zabiegiem (Rys. 5). Metoda ta jest taka sama, jak metoda opisana powyżej. Na każdym poletku należy rozstawić przynajmniej 4 potrzaski. Dodatkowe pułapki należy umieścić wzdłuż granic pasów do próbkowania tak, aby zapewnić schwytanie wszystkich pozostałych zwierząt.

W przypadku braku poletek o wystarczających rozmiarach, pozwalających na posiadanie 4 pasów do próbkowania, koniecznych do pełnego odłowienia, ocenę zagęszczenia populacji przed zabiegiem można przeprowadzić za pomocą próbkowania metodą CMR: przy użyciu tej samej struktury i takiej samej ilości punktów odłowu w każdym poletku o rozmiarze 5 x 5 m, gryzonie odławiane są na żywo (np. za pomocą pułapek Shermanna), oznaczane i wypuszczane. Po zabiegu, ten sam pas zostanie wykorzystany do pełnego odłowu. W celu odzyskania wszystkich oznaczonych zwierząt, ilość punktów odłowu na jednym poletku można zwiększyć.

3.2.3 Metody uproszczone polegające na odczytywaniu znaków

Liczenie zamieszkałych korytarzy. W rejonach o szczególnym, sezonowym wzroście ilości nor kopanych przez gatunek *A. terrestris*, możliwe jest stosowanie następującej metody. Korytarze podziemne lokalizuje się poprzez próbkowanie. Następnie, pewną liczbę korytarzy odkrywa się, oczyszcza z ziemi w obydwu kierunkach i pozostawia na noc. Uszczelnione otwory zlicza się następnego dnia i uznaje za zamieszkałe. Odległości pomiędzy otworami nie powinny być mniejsze niż 10 m. Po podłożeniu trucizny należy stosować nowe punkty kontrolne.

Liczenie ponownie odkopanych otworów. W rejonach, w których *A. terrestris* jest w sezonie aktywny na powierzchni oraz tam, gdzie znajduje się duża ilość otworów, mogą obowiązywać inne procedury. Otwory są blokowane, a liczba otworów ponownie otworzonych na drugi dzień jest używana do pomiaru aktywności. Procedurę tę realizuje się przed i po zabiegu.

3.3 Badania wodnej odmiany karczownika *Arvicola terrestris*

Na terenach podmokłych, takich jak bagna, gdzie karczownik *Arvicola* żyje głównie w wodzie, zastosowana może być inna metoda. Należy wybrać trzy 100-metrowe oddzielone od siebie odcinki rowów. Dwa z nich przeznaczone do zabiegu i jeden do kontroli.

Ilość karczowników w każdym odcinku szacuje się przed i po zabiegu na podstawie liczby osobników odłowionych w ciągu 10 dni z użyciem 20 pułapek w jednym odcinku. Dla uniknięcia odłowienia bądź otrucia zwierząt niepoddawanych zabiegowi, pułapki lub przynęty umieszcza się w pływających pojemnikach (Gemmeke & Pelz, 1987). Pojemniki umieszcza się w pobliżu obydwu brzegów, co 10 m, tzn. na każdym odcinku znajduje się 20 pojemników. W fazie przedzabiegowej stosuje się pułapki żywołowne w celu zastosowania metody CMR, w której odłowione karczowniki są oznaczane i wypuszczane. Czas trwania zabiegu uzależniony jest od badanego rodentocydu. Podczas zabiegu, pojemniki znajdujące się w rowie kontrolnym należy uzupełniać przynętą nieskażoną tak, aby karczowniki przyzwyczyły się do pojemników. Oceny ilości karczowników po zabiegu należy dokonać przy pomocy tych samych pułapek, które stosowano podczas spisu liczebności przed zabiegiem. Poziom aktywności karczowników w wodzie ulega zmniejszeniu w niskich temperaturach, dlatego też, badań nie należy przeprowadzać, gdy spodziewany jest spadek temperatury wody poniżej 9°C.

4. Ocena poletka kontrolnego

Poziom wydajności badanego preparatu można ocenić za pomocą procentowej umieralności, zgodnie z następującym równaniem (Henderson i Tilton, 1955), które uwzględnia wszelkie zmiany w ilości schwytanych osobników na poletku niepoddanym zabiegowi:

$$100 \times \left(1 - \frac{t2 \times u1}{t1 \times u2} \right)$$

gdzie t = poddane zabiegowi; u = nie poddane zabiegowi; t1, u1 = ilość osobników schwytanych przed zabiegiem; t2, u2 = ilość osobników schwytanych po zabiegu.

Podczas spisywania liczebności z zastosowaniem metody CMR, należy odnotowywać rozkład częstotliwości nowych oraz schwytanych ponownie zwierząt w celu wyjaśnienia możliwych skutków imigracji i innych przemieszczeń.

W trakcie oceny ilości znaków, należy pamiętać o tym, aby porównywać liczby otrzymane w tym samym czasie, na różnych poletkach. Równanie Hendersona i Tiltona (1955) należy stosować ostrożnie w przypadku dużych rozbieżności w ilościach uzyskanych na poletkach kontrolnych. Przykłady stosowania tego równania podano w Załączniku 1.

ZAŁĄCZNIK I

*Przykłady badań przeprowadzanych w warunkach polowych nad gryzoniami spokrewnionymi z nornikami: badanie poziomu wydajności przynęty granulowanej na gatunku *Microtus agrestis**

Poniższe przykłady zaczerpnięto z badań wykonywanych w warunkach polowych nad gatunkiem *M. agrestis*, których celem było zbadanie skuteczności antykoagulantu (Klerat) w postaci granulowanej, w różnych warunkach środowiskowych (wykorzystano dane z Myllymäki, 1984 oraz dane niepublikowane). Doświadczalny schemat obejmował w sposób regularny poletko nie poddawane zabiegowi oraz zabieg z zastosowaniem znanej przynęty zawierającej krymidynę (Kastrix).

W badaniach wykorzystano wszystkie metody spisu liczebności, opisane w rozdziale 3 niniejszej instrukcji: metodę CMR (przykład 1), metodę podwójnego wypuszczania/małych kwadratów (przykład 2) oraz metodę odczytywania znaków, tj. zniszczenie pod pokrywą śnieżną, otwory (przykład 3). Procent skuteczności obliczono zgodnie z równaniem Hendersona i Tiltona (1955), a różnice statystyczne badanych populacji docelowych za pomocą testu parzystego chi-kwadratu.

Dodano kilka uwag dla wyszczególnienia przyczyn wyboru danej metody lub problemów w interpretacji wyników. Na końcu zamieszczono podsumowanie zawierające zalety i wady zastosowanych metod (Tabela 4) oraz podjęto próbę przedstawienia ograniczeń w wysnuwaniu wniosków na temat poziomu wydajności przynęty doświadczalnej.

Przykład 1. Badanie przeprowadzone w warunkach polowych w Vahtermäki, Vihti (Finlandia) na jesieni 1982r

Poletka doświadczalne, każde o powierzchni 1,5 ha, znajdowały się na zalesionym starym polu. Spisy liczebności przed i po zabiegu oparto na odłowieniu pułapki żywotowne wykorzystując pułapki Longworth w środkowym kwadracie każdego poletka. (63 pułapki na kwadrat, 4 kontrole na jeden spis). Przynętę podano ręcznie w ilości około 10 kg ha⁻¹ każdego rodzaju. Spis liczebności przeprowadzono około 3 tygodnie po zabiegu, a wyniki podano w Tabeli 1.

Metoda CMR została wybrana jako metoda spisu ze względu na fakt, że badanie wstępne wykazało jedynie skromne zagęszczenie populacji, a dostępna przestrzeń nie pozwoliła na stworzenie poletek o wystarczająco dużych rozmiarach do zastosowania innych metod.

Zaobserwowano znaczny wzrost liczby osobników odłowionych na obszarze poletka niepoddanego zabiegowi, pomiędzy spisami wykonanymi przed i po zabiegu. Ponieważ jednak nie odnotowano żadnego przemieszczenia się oznaczonych osobników z jednego poletka na drugie, wzrost ten był prawdopodobnie wynikiem udoskonalonego odławiania (wiednięcia naturalnego pokarmu). Ponieważ liczby uzyskane w wyniku spisu wykonanego przed zabiegiem były zbyt małe do przeprowadzenia jakichkolwiek zabiegów, doświadczenie nie zostało przyjęte w przypadku zaobserwowania tendencji zniżkowej na poletku kontrolnym.

Należy również zauważyć, że oznaczony wzrost ilości osobników odłowionych na poletku kontrolnym przyczynił się do wzrostu wskaźnika skuteczności w porównaniu z bezpośrednim obliczeniem procentowej śmiertelności osobno dla każdego zabiegu.

W przeciwieństwie do różnicy pomiędzy obydwojoma zabiegami, różnice pomiędzy zabiegami i poletkiem kontrolnym niepoddanym zabiegowi były statystycznie znaczące na poziomie $P < 0.005$.

Tabela 1

Zabieg	Ilość odłowionych osobników		% śmiertelności
	spis przed zabiegiem	spis po zabiegu	
Klerat (antykoagulant 0.001%)	19	4	85.2
Kastrix (krymidyna 0.5%)	28	3	92.5
Poletko kontrolne niepoddane zabiegowi	26	37	-

Przykład 2. Badanie przeprowadzone w warunkach polowych w Huhtasaari, Lohja (Finlandia) na jesieni 1982r

Poletka doświadczalne, każde o powierzchni 2.0 ha, znajdowały się na starym polu. Spisy liczebności wykonane przed i po zabiegu oparto na wypuszczaniu z pułapek znajdujących się w małych kwadratach (15×15 m, 12 pułapek/kwadrat, 4 kwadraty/zabieg, oraz 2 kontrole/spis liczebności). Przynętę zastosowano poprzez umieszczenie małych porcji (ok. 1 g) na ziemi, w odległościach 2 x 2 m, tj. ok. 2.5 kg 2.5 kg ha⁻¹. Spis

liczebności rozpoczęto 2 tygodnie po zabiegu i podano wyniki.

Ponieważ badanie wstępne wykazało stosunkowo duże zagęszczenie populacji, przyjęto metodę szybszego spisu liczebności niż w przypadku przykładu 1.

Również tutaj, ilości osobników schwytanych na poletku niepoddanym zabiegowi wzrosły pomiędzy spisem przed i po zabiegu. Jednak w miarę usuwania z populacji osobników próbkowanych podczas spisu przed zabiegiem, nie było możliwości przedstawienia, czy wzrost ten był, czy też nie był, wyłącznie wynikiem udoskonalonego odławiania.

Porównanie ilości osobników odłowionych na poletkach poddanych i niepoddanych zabiegowi

wyказаł statystycznie znaczące poziomy skuteczności ($P < 0.05$ dla Kleratu, $P < 0.005$ dla Kastrixu), natomiast różnica pomiędzy obydwoma truciznami nie była znacząca. Wskaźniki skuteczności okazały się znacznie niższe od wskaźników w przykładzie 1 – co niewątpliwie jest wynikiem mniejszej gęstości przynęty. Jednakże, z powodu zastosowania różnych technik spisywania liczebności, bezpośrednie porównanie obydwu doświadczeń jest nieuzasadnione.

Tabela 2 Zabieg	Ilość odłowionych osobników		%
	spis przed zabiegiem	spis po zabiegu	
Klerat (antykoagulant 0.001%)	56	38	51.5
Kastrix (krymidyna 0.5%)	59	32	61.3
Poletko kontrolne nie poddane zabiegowi	35	49	-

Przykład 3. Badanie przeprowadzone w zimie, tj. zabiegi z wykorzystaniem otworów oddechowych w śniegu w Kiipu, Jokioinen (Finlandia) 1986-02/03

Poletka doświadczalne, każde o powierzchni 2.5-3.0 ha (tylko Kastrix) zostały utworzone na obszarach ponownie zalesionych sadzonkami sosny. Zastosowano następującą metodę spisu liczebności oraz zabieg: poletko przebyto na nartach wzdłuż równoległych linii oddalonych od siebie o 10 m; policzono otwory w śniegu, znajdujące się w 2-metrowym pasie po obydwu stronach, przy każdym otworze umieszczono 5 g przynęty. Spis liczebności przeprowadzono 2 tygodnie po zabiegu, a wyniki podano w Tabeli 3.

Wybrana metoda spisu była jedyną praktyczną metodą w istniejących warunkach. Ponadto, niniejszy przykład przedstawia również główne ograniczenie tejże metody: porównywalne są ilości uzyskane w przeciągu jednego dnia w zmiennych warunkach pogodowych. Poletko nie poddane zabiegowi zostało zatem policzone dwukrotnie, a uzyskane jednocześnie

wartości użyte do obliczenia wskaźników poziomu skuteczności dla różnych zabiegów. Spowodowało to z kolei problem polegający na tym, że zabiegi z wykorzystaniem krymidyny i antykoagulantu nie były porównywalne w bezpośredni sposób.

Zmiany zaobserwowane we wskaźnikach populacji (na podstawie ilości otworów w śniegu) zostały porównane w przeciwnym kierunku ze zmianami z poprzednich przykładów; w wyniku tego, obliczone wskaźniki skuteczności są nieco niższe, w relatywnych kategoriach, od wskaźników z poprzednich przypadków. Nie powinno to jednak być interpretowane jako wskaźnik, że niniejsze badanie było bardziej rygorystyczne niż pozostałe badania.

Statystycznie rzecz biorąc, obydwie zabiegi różniły się znacząco od poletek niepoddanych zabiegowi ($P < 0.001$), natomiast badania statystyczne nie dotyczyły porównywania obydwu zabiegów.

Zabieg	Ilość aktywnych otworów			% śmiertelności
	spis przed zabiegiem	spis po zabiegu		
		I	II	
Klerat (antykoagulant 0.001%)	531	-	64	83.9
Kastrix (krymidyna 0.5%)	397	21	-	89.3
Poletko kontrolne niepoddane zabiegowi	653	324	488	-

Podsumowanie i wnioski

Zalety i wady metod przedstawionych w powyższych przykładach zostały podsumowane w Tabeli 4. Zazwyczaj, głównym celem badania skuteczności jest ocena poziomu wydajności danego związku lub preparatu na potrzeby rejestracji. W przypadku preparatów opisanych powyżej, uzasadnione mogą być następujące wstępne wnioski:

- (1) W porównaniu z poletkami kontrolnymi niepoddanymi zabiegowi, wszystkie zabiegi w wyraźny sposób wpłynęły na populację docelowej gatunku *M. agrestis*. W przypadku, gdzie poziom wydajności przynęty doświadczalnej (Klerat) był niewystarczający (przykład 2), to samo dało się zauważyć w przypadku znanej przynęty kontrolnej,

przy czym obydwie przypadki dają się wytłumaczyć mniejszą gęstością przynęty;

- (2) Pomimo, iż wskaźnik wydajności przynęty zawierającej antykoagulant (Klerat) był przez cały czas nieco niższy w porównaniu ze wskaźnikiem przynęty kontrolnej (Kastrix), różnica ta nigdy nie była znacząca w przypadkach, w których prawdopodobne było porównanie statystyczne. W konsekwencji, jeżeli konieczne jest dokonanie wyboru pomiędzy owymi podobnymi do siebie przynętami, decyzję należy oprzeć przede wszystkim na aspektach innych niż poziom skuteczności (np. trybie postępowania, toksyczności, zagrożeniach wobec zwierząt niebędących przedmiotem zwalczania, itd.).

Tabela 4. Wady i zalety metod CMR, podwójnego wypuszczania oraz odczytywania znaków dla monitorowania powodzenia próby kontrolnej.

Metoda	Zalety	Wady
--------	--------	------

CMR	Próbkowane zwierzęta pozostają w populacji; minimalne wzajemne oddziaływanie. Wykrywalne przemieszczanie się pomiędzy poletkami. Pozwala na użycie poletka o minimalnym rozmiarze.	Wymaga doświadczonego personelu do obchodzenia się z żywymi zwierzętami. Pochłania dużo czasu i pracy. Śmiertelność w pułapkach i niedostateczne funkcjonowanie pułapek w niskich temperaturach.
Podwójne usuwanie	Wymagane minimalne umiejętności od asystentów terenowych. Pochłania mniejszą ilość czasu i pracy niż metoda CMR. Nadaje się do doświadczeń na dużą skalę.	Próbkowane zwierzęta są usuwane z populacji; nieuniknione pewne wzajemne oddziaływanie. Niewykrywalne przemieszczanie się pomiędzy poletkami.
Liczenie znaków	Szybkie do przeprowadzenia, lecz najczęściej wymaga doświadczenia. Nadaje się do monitorowania zabiegów na dużą skalę. Najczęściej stosowane w warunkach niepozwalających na odławianie.	Metoda nieco subiektywna i tworząca wskaźniki wyłącznie relatywne. Może prowadzić do trudności w interpretowaniu wyników. Trudności w odróżnianiu starych i świeżych 'znaków' (nie zawsze) Niekiedy uzależniona od warunków pogodowych (np. liczenie otworów w śniegu).

Odnosiniki

GEMMEKE, H. & PELZ H. J. (1987) Wyniki projektu badawczego dotyczącego 'kontrolowania karczowników w sadach'. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* **39**, 65-70.

HENDERSON, C.F. & TILTON, E.W. (1955) Badania z użyciem akarycydów do zwalczania rubinowca owocowca. *Journal of Economic Entomology (Dziennik entomologii ekonomicznej)* **48**, 157-161.

MYLLYMÄKI, A. (1970) Ekologia populacji i jej zastosowanie w kontrolowaniu nornika burego, *Microtus agrestis*. *OEPP/EPPO Publikacje serii A, Nr 58*, 27-48.

MYLLYMÄKI, A. (1984) Skuteczność przynęt przeciw nornikom z gatunku *Microtus agrestis* i *Arvicola terrestris*. Zawarto w dokumencie z przebiegu jedenastej konferencji nt. szkodników z rodziny kręgowców. Sacramento (US).

MYLLYMÄKI, A., PAASIKALLIO, A., PANKAKOSKI, A. & KANERVO, E. (1971) Doświadczenie z wypuszczaniem, przeprowadzone na małych kwadratach, jako środek szybkiej oceny

liczebności małych ssaków. *Annales Zoologici Fennici* **8**, 177-185.

OEPP/EPPO (1975) Wytyczne dotyczące opracowania biologicznej oceny rodentocydów. *Biuletyn OEPP/EPPO Biuletyn* **5**, 1-49.

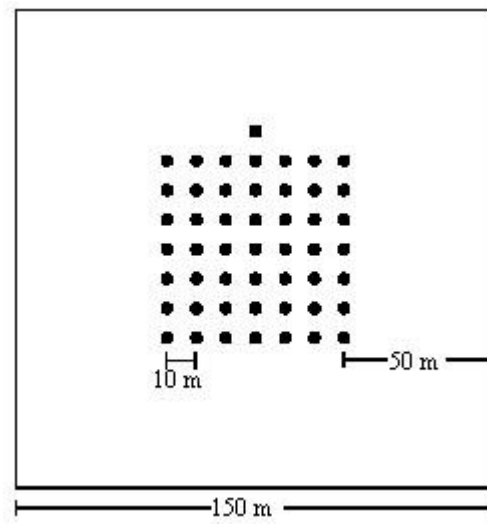
PASCAL, M. (1988) Tests d'efficacité en nature de produits rodenticides à l'encontre d'*Arvicola terrestris*. Doit-on s'orienter vers des tests de stratégies de lutte ? *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* **18**, 249-256.

PASCAL, M. & MEYLAN, A. (1986) L'échantillonnage linéaire de la forme fouisseuse du campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*). Description des techniques. *Défense des Végétaux* no. **237**, 3-12.

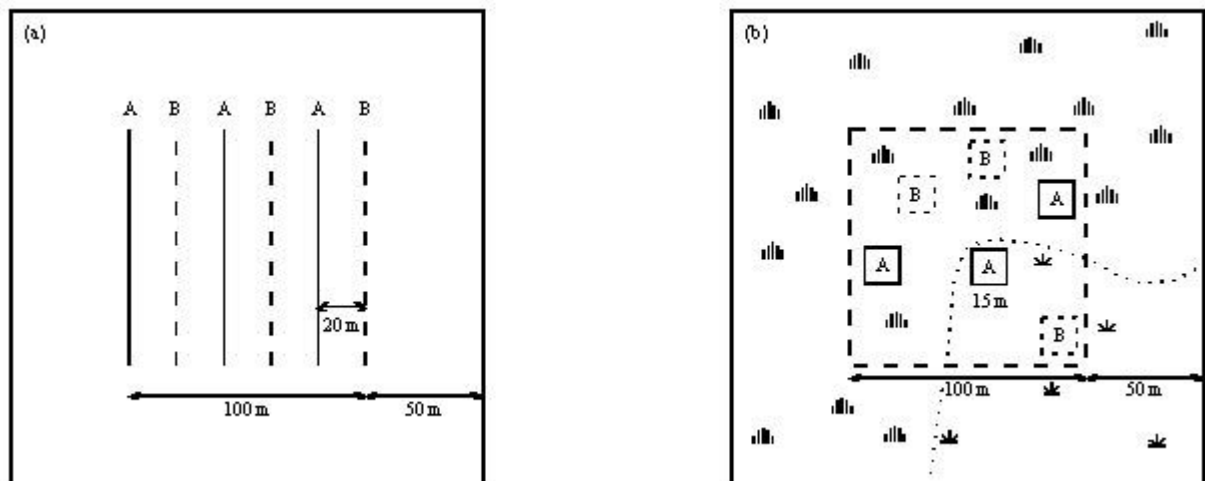
PASCAL, M., PRADIER, B. & HABERT, M. (1988) Méthodologie appliquée à l'évaluation en nature de l'efficacité de rodenticides à effet différé. Application de cette méthodologie à l'évaluation de l'efficacité de deux molécules rodenticides, bromadiolone et diféthialone sur la forme fouisseuse du campagnol terrestre (*Arvicola terrestris*). *Acta Oecologica, Oecologia Applicata* **9**, 371-384.

SPITZ, F. (1965) Contrôle par piégeage des essais de destruction de campagnols en plein champ. *Phytiatrie-Phytopharmacie* **14**, 3-8.

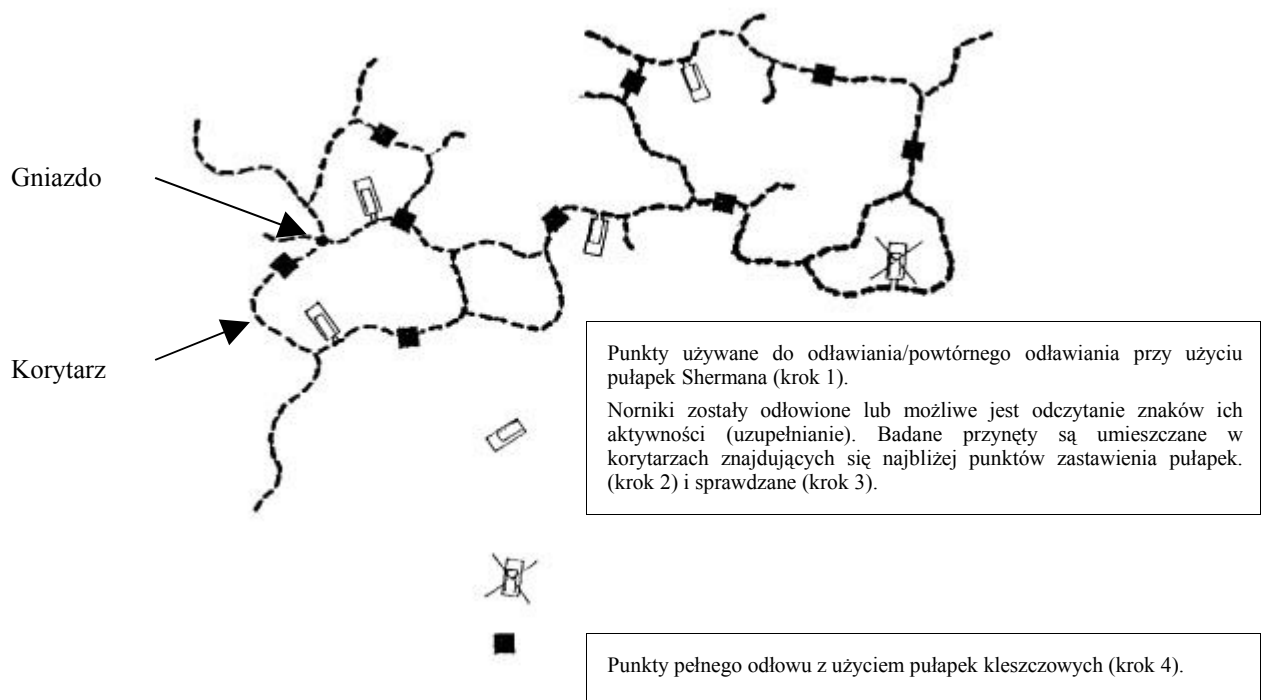
Rys. 1. Ogólny schemat odławiania dla celów spisu liczebności podwójną metodą CMR. Każdy punkt oznacza miejsce, w którym znajdują się dwie pułapki do odłowu wielokrotnego lub trzy pułapki do odłowu pojedynczego z zastosowaniem pułapek żywolownych. Rozmiary samego poletka i stref buforowych pomiędzy polem środkowym, gdzie dokonywany jest spis liczebności i skrajami całego poletka poddawanego zabiegowi przedstawiono zgodnie z warunkiem minimalnym, tj. głównie dla gatunku *Microtus agrestis* w czasie okresów, w których zwierzęta się nie rozmnażają.



Rys. 2. Ogólny schemat dwóch alternatywnych metod spisu liczebności z zastosowaniem podwójnego wypuszczania: (a) metoda równoległych linii; (b) metoda małych kwadratów. Linie i kwadraty oznaczone literą *A* są przemierzane przed zabiegiem, natomiast linie oznaczone literą *B* – po zabiegu. Systematyczne próbkowanie za pomocą linii równoległych jest najodpowiedniejsze w środowiskach jednakowych (generalnie podczas badań nad gatunkiem *Microtus arvalis*), podczas, gdy w środowisku zróżnicowanym (typowym dla gatunku *M. agrestis*) małe kwadraty dają się rozmieszczać bardziej proporcjonalnie w stosunku do obszarów o zróżnicowanych pod-środowiskach, zgodnie z dowolnym schematem warstwowym (dwa rodzaje środowiska przedstawiono na rysunku). Tak, jak na Rys. 1, przedstawiono tu poletko o minimalnym, akceptowalnym rozmiarze i szerokości strefy buforowej.



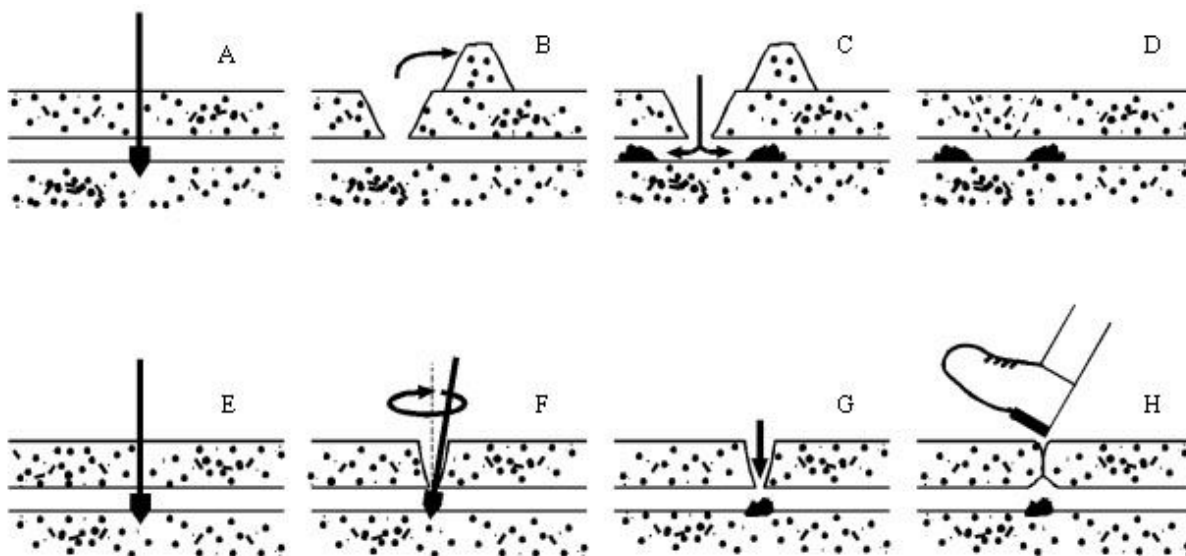
Rys. 3. Schemat badania oddzielnych skupisk.



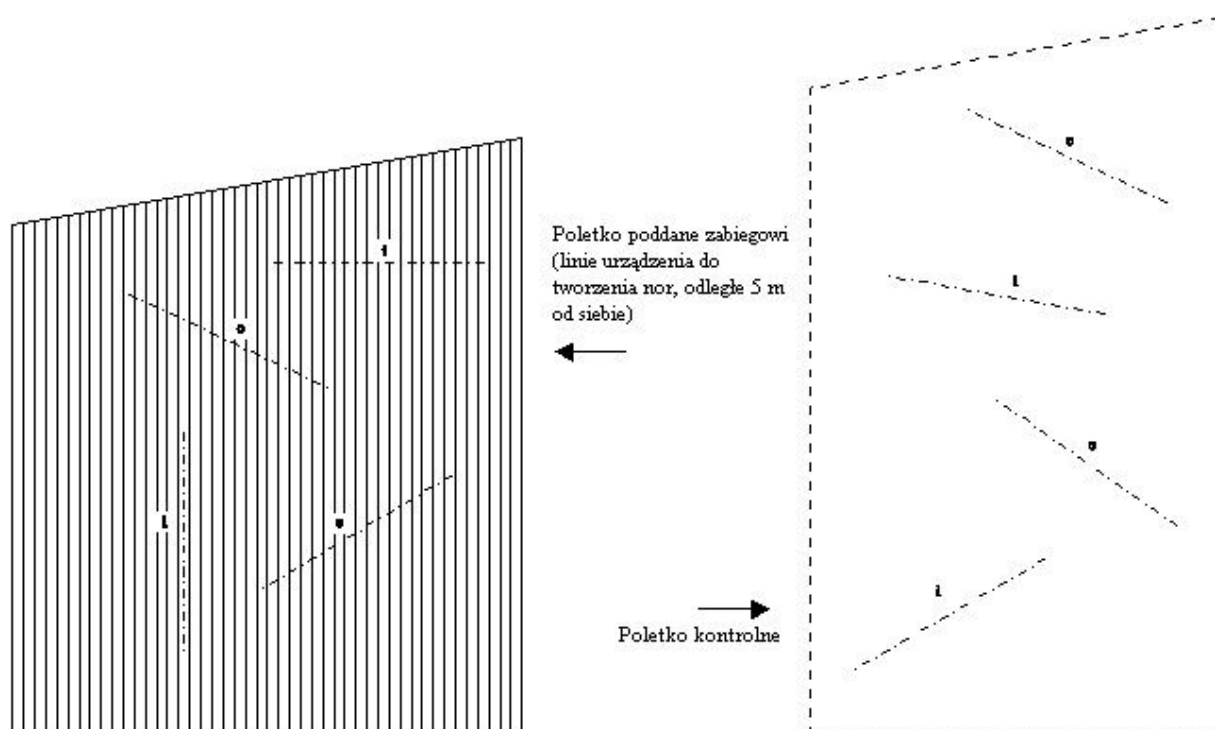
Rys. 4.

A-D. Zastosowanie przynęt z trucizną przeciw gryzoniom w trakcie badań nad oddzielnymi skupiskami, pozwalające na potwierdzenie pobrania przynęty przez gryzone: A – korytarz zlokalizowany na podstawie próbkowania, B – usunięta ziemia, C – przynęta umieszczona po obydwu stronach korytarza, D – ponownie zasypany otwór.

E-H. Zastosowanie przynęt z trucizną przeciw gryzoniom w trakcie badań nad sąsiednimi populacjami, niepozwalające na potwierdzenie pobrania przynęty przez gryzone: E – korytarz zlokalizowany na podstawie próbkowania, F – otwór utworzony poprzez obracanie próby, G – przynęta umieszczona bezpośrednio w korytarzu, H – otwór zostaje ostrożnie zasypany bez uszkodzenia korytarza.



Rys. 5. Schemat badania sąsiednich populacji.



- o próbkowanie wzdłuż linii o długości 100 m lub pasów o rozmiarze 100×5 m przed zabiegiem
- i próbkowanie wzdłuż linii o długości 100 m lub pasów o rozmiarze 100×5 m po zabiegu

