

Ocena skuteczności rodentycydów

Środki odstraszające gryzonie niszczące korę drzew

Zakres

Niniejsza norma opisuje sposób prowadzenia badań nad oceną skuteczności repelentów w zwalczaniu gryzoni niszczących korę drzew.

Zatwierdzenie normy i poprawki

Po raz pierwszy zatwierdzona we wrześniu 1996.

1. Wstęp

Podgryzanie kory drzew uprawnych (drzewa owocowe, ozdobne, drzewa szczepione i siewki drzew leśnych) przez gryzonie z rodziny nornikowatych (*Microtus* spp., *Pitymys* spp.) stanowi poważny problem w wielu krajach europejskich. Potencjalnym środkiem zapobiegawczym są repelenty chemiczne. W związku z powyższym, Panel EPPO ds. Zwalczania Gryzoni opracował niniejszą normę, która równolegle z normą dla repelentów stosowanych w nasiennictwie, uzupełnia obszerny zestaw metod badawczych z dziedziny walki z gryzoniami.

Omawiana norma stanowi uzupełnienie poprzednich wydań norm dotyczących oceny skuteczności rodentycydów; Norma EPPO PP1/97 - Badania w warunkach laboratoryjnych i polowych nad oceną skuteczności rodentycydów w postaci preparatów do opylania, EPPO PP1/113 - Ocena toksyczności i dopuszczalności zastosowania rodentycydów w badaniach laboratoryjnych, PP1/114 - Badania w warunkach polowych dotyczące preparatów zwalczających gryzonie synantropijne (*Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *R. rattus*), PP 1/169 - Gryzonie polne (*Microtus*, *Arvicola*). Jednakże, punktem końcowym w ocenie repelentów nie jest śmiertelność gatunkowa szkodników, tak jak w przypadku testowania rodentycydów, lecz raczej ochrona obiektu tj. drzewa uprawnego, przed uszkodzeniem przez szkodniki. Także sposoby wykonania zabiegu są inne niż w przypadku rodentycydów. Przy ocenie repelentów pod uwagę brana jest potencjalna fitotoksyczność preparatu, która nie jest zazwyczaj rozpatrywana w badaniach rodentycydów.

Repelent nie musi być śmiertelny w stosunku do gryzoni, ale powinien wykazywać działanie odstraszające poprzez zapach lub inne bodźce.

W przeszłości nie zawsze miało miejsce wyraźne rozgraniczenie pomiędzy truciznami i repelentami, i środki silnie toksyczne (np. endryna) były stosowane jako repelenty.

Dlatego też, przed rozpoczęciem badań należy zapoznać się z dostępnymi danymi toksykologicznymi dotyczącymi środka, który ma być testowany.

2. Warunki doświadczenia

2.1 Zwierzęta badane, wybór rośliny uprawnej i jej odmiany

Gatunki gryzoni wykorzystywane do przeprowadzenia doświadczeń powinny należeć do grupy najważniejszych szkodników w danym regionie, tj. *Microtus agrestis* w Europie Północnej, *M. arvalis* lub *M. agrestis* w państwach Europy Środkowej oraz *Pitymys* na południu Europy. Wskazane jest wykorzystanie do doświadczeń osobników w wieku przedrodzicznym (nie w pełni dojrzałych), jako że naturalne populacje nornikowatych w porze zimowej składają się wyłącznie z takich osobników.

Poniżej opisana metoda, po dokonaniu drobnych modyfikacji, może być wykorzystywana również do badania rodentycydów zwalczających gryzonie z rzędu *Lagomorpha* (króliki, zające).

W badaniu repelentów może być wykorzystany dowolny gatunek drzewa uprawnego, o którym wiadomo, że jest narażone na podgryzanie kory przez szkodniki. Niemniej jednak, spośród drzew owocowych najlepiej wybrać odmiany jabłoni *Malus × domestica* (MABSD), jako że jabłonie są najbardziej narażone na atak ze strony nornikowatych. Jeśli repelent ma być testowany w warunkach uprawy leśnej, zaleca się przeprowadzenie badania z udziałem przynajmniej jednego gatunku liściastego i jednego gatunku iglastego. Drzewa biorące udział w badaniu oraz drzewa z grupy kontrolnej powinny pochodzić z tej samej odmiany celem zapewnienia porównywalności wyników. Gdy do badania wykorzystywane jest kilka odmian, drzewa należące do każdej z nich powinny stanowić kompletną serię badawczą.

Wielkość i wiek badanych drzew powinny być tak dobrane, aby rośliny były podatne na działanie ze strony gryzoni.

W badaniach można wykorzystywać zarówno drzewa doniczkowe, jak i sadzone do gruntu. Do doświadczeń pilotażowych można wykorzystać odcięte gałęzie, przy czym muszą być one świeżo ścięte i w takim samym zakresie temperatur, w jakim jest przeprowadzane doświadczenie.

Podgryzanie drzew przez szkodniki zdarza się zazwyczaj zimą, w związku z czym badanie skuteczności repelentów należy również przeprowadzić o tej porze.

2.2 Rodzaje doświadczeń

Eksperymenty klatkowe np. testy wyboru w standardowych warunkach laboratoryjnych (tak jak podaje np. Norma PP 113 EPPPO - Ocena toksyczności i dopuszczalności zastosowania rodentycydów w badaniach laboratoryjnych nie nadają się do oceny repelentów zwalczających gryzonie niszczące korę. Za powyższym przemawiają następujące argumenty: (1) wiele spośród repelentów zawiera substancje lotne, których uwalnianie zależy od temperatury otoczenia, prędkości wiatru, etc., w związku z czym wyniki badań laboratoryjnych mogą być mylące; (2) ograniczona powierzchnia w obrębie której zwierzęta mogą się poruszać sprawia, że dochodzi do zbyt częstego, w zestawieniu z warunkami naturalnymi, kontaktu gryzoni z badanym obiektem; (3) brak doświadczenia i metodyki badań klatkowych repelentów na gryzonie.

Badania przesiewowe wykonuje się w warunkach polowych z zastosowaniem specjalnych zagród, oddzielających badany obszar od reszty terenu. W praktyce okazuje się, że tym sposobem można dokładniej zmierzyć wiele spośród badanych parametrów.

Zagroda powinna wydzielać odpowiednio dużą powierzchnię, na której będzie można zasadzić wystarczającą liczbę drzew, rozmieszczonych w oddzielnych sektorach, co umożliwi powtarzalność zabiegu z udziałem repelentu. Ściany ogrodzenia mogą być wykonane z płyt metalowych lub kamiennych, wkopanych na głębokość 40 cm i ułożonych tak, aby od wewnątrz zagrody tworzyły równą powierzchnię. Zagroda powinna być odporna na działania ze strony drapieżników. Jedną z wielu zalet badań zagrodowych jest to, że mogą być przeprowadzane w dowolnym roku niezależnie od fazy fluktuacyjnej w obrębie populacji gryzoni. Stosując omawianą metodę można też mierzyć trwałość repelentu w czasie zimy, podczas gdy przy zastosowaniu eksperymentów rzadko kiedy można zmierzyć cokolwiek poza efektem końcowym w porze wiosennej.

Doświadczenia w warunkach polowych są najbardziej realistycznym typem doświadczeń dotyczących repelentów, lecz jednocześnie mają wiele wad takich, jak ta, że można je przeprowadzić tylko w okresach pojawów gryzoni (w przypadku nornikowatych raz na 2-4 lata), a znaczna liczba przeprowadzonych doświadczeń nie daje reprezentatywnych wyników. Ponadto w miesiącach zimowych w okresach regularnych opadów śniegu, nie można ocenić bezpośrednich szkód, dokonanych przez gryzonie.

3. Warunki i przebieg doświadczeń

3.1 Doświadczenia zagrodowe

Drzewa przeznaczone do badań sadi się w grupach po przynajmniej 4 sztuki w sezonie (wiosna lub jesień). Nasadzone drzewa są losowo przyporządkowane do: (1) grupy poddanej działaniu badanego środka (środków), (2) grupy kontrolnej niepoddanej działaniu żadnego preparatu, (3) grupy porównawczej (odniesienia) poddanej działaniu znanego środka (o ile taki jest dostępny). Liczba równoległych powtórzeń powinna być nie mniejsza niż 4. Minimalna wielkość zagród uzależniona jest od liczby zabiegów i drzew objętych doświadczeniem; udane doświadczenia przeprowadzano zazwyczaj w zagrodach o powierzchni od 15 do 30m².

Drzewa poddawane są zabiegom zazwyczaj przed nastaniem zimy i zgodnie z zaleceniami producenta preparatu. O ile producent preparatu nie zalecił inaczej, badane drzewa są malowane lub natryskiwane testowanym środkiem. Jednakże, w przypadku korzystania z preparatów w aerozolu, istnieje ryzyko rozpylenia środka na obiekty, które nie powinny być nim potraktowane. Dlatego też grupa docelowa na czas zabiegu powinna być oddzielona od pozostałych drzew przy pomocy przenośnej plastikowej zasłony. Kora, na którą stosowany jest repelent, powinna być sucha, zaś bezpośrednio po zabiegu zabezpieczona przed zmyciem preparatu przez deszcz lub śnieg. Jeżeli instrukcja zastosowania repelentu nie stanowi inaczej, pień drzewa powinien być pokryty preparatem do wysokości, do której mogą nastąpić uszkodzenia dokonane przez gryzonie lub do wysokości spodziewanej pokrywy śnieżnej.

Jeżeli jednym z celów doświadczenia jest ocena aspektów czasowych (trwałości) efektu odstraszenia, grupy inne niż grupa wystawiona na działanie gryzoni, po zastosowaniu preparatu należy zabezpieczyć osłonami mechanicznymi. Aby wpływ warunków pogodowych na wszystkie badane drzewa był porównywalny, należy w tym celu użyć metalowej siatki o średnicy oczek 10mm.

Przed wpuszczeniem zwierząt doświadczalnych do zagrody ustawia się budki lęgowe i wykłada pożywienie przez okres od 1 do 2 tygodni (buraki pastewne lub inne rośliny okopowe, siano etc.) Miejsca wyłożenia paszy powinny być usytuowane w takiej samej odległości od poszczególnych skupisk drzew eksperymentalnych. Powyższe działania mają pomóc w adaptacji zwierząt i zapewnić ich przeżycie w obcym otoczeniu w początkowym stadium eksperymentu. Doświadczalne zwierzęta, gdy już spożyją wyłożoną karmę, będą w dobrej kondycji, zaś w obliczu braku innego pokarmu będą atakować drzewa.

Na badany obszar wprowadza się grupę składającą się z około 10 zwierząt i obserwuje się zachowanie oraz uszkodzenia badanych drzew w regularnych odstępach czasu. Powierzchnia obgryzionej kory jest oceniana z dokładnością do 1 cm², o ile nie zostanie zasłonięta przez pokrywę śnieżną. Częste usuwanie pokrywy śnieżnej spod podstawy drzew nie jest dobrym rozwiązaniem, ponieważ może mieć to wpływ na retencję badanego preparatu i na dobór pokarmu przez

badane gryzonie. W momencie, gdy kora z większości drzew została obgryziona, badane osobniki wyłapuje się i przemieszcza poza obręb zagrody. Gdy nadchodzi termin drugiej ekspozycji tj. po upływie kilku miesięcy, do zagrody wpuszcza się nową grupę gryzoni i wystawia się na ich atak inne skupisko drzew. Do przeprowadzenia eksperymentu wystarczają zazwyczaj dwie ekspozycje na jeden sezon zimowy.

Każdorazowo po zakończeniu ekspozycji lub na wiosnę, drzewa obgryzione przez szkodniki usuwa się z badanego i obszaru, po czym dokonuje się dokładnego pomiaru uszkodzonej powierzchni. Wyniki dla drzew należących do poszczególnych powtórzeń w danym sektorze zagrody należy zsumować. Do dalszego przetwarzania danych wykorzystywane są właśnie sumy, a nie średnie z pomiarów.

3.2 Doświadczenia w warunkach polowych

Liczba i rodzaj drzew wykorzystywanych do doświadczeń polowych uzależnione są od okoliczności. Na przykład w szkółkach i plantacjach leśnych do eksperymentu można wykorzystać o wiele więcej drzew niż w badaniach zagrodowych. W badaniach polowych, aby uzyskać odpowiednią liczbę powtórzeń z uszkodzeniami kory należy przynajmniej podwoić liczbę stanowisk lub zgrupowań badanych drzew. W porównaniu z badaniami zagrodowymi nie dochodzi tutaj do uszkodzenia wszystkich części w obrębie eksponowanych stanowisk. Wskazówki dotyczące warunków i przebiegu badań polowych zamieszczono są w Normie EPPO PP 1/152 Planowanie i analiza badań oceniających skuteczność.

Zaleca się stosowanie metody bloków losowych z uwzględnieniem grup kontrolnych. Poletka kontrolne i poletka przeznaczone do stosowania różnych zabiegów powinny być rozmieszczone niezależnie od siebie tak, aby zapobiec uszkodzaniu drzew pochodzących z różnych zabiegów.

Ocena uszkodzeń kory powinna odbywać się tutaj w zasadzie tak samo jak w przypadku badań zagrodowych, lecz rzadko jest to możliwe do zrealizowania w praktyce. Jest to szczególnie trudne, gdy do eksperymentu wykorzystuje się małe siewki. Normiki tną je zwykle na małe kawałki. Przeprowadzający doświadczenia może jedynie określić liczbę uszkodzonych i nieuszkodzonych siewek. Wykonując badania polowe trudno jest również ocenić trwałość efektu odstraszania.

W eksperymentach z udziałem repelentów ważne jest odnotowywanie danych na temat pogody, takich jak temperatura, opady deszczu (zwłaszcza intensywne), grubość pokrywy śnieżnej, nasłonecznienie, etc., które mogą wpływać na działanie badanego preparatu.

Dane na temat warunków pogodowych powinny być zebrane w miejscu przeprowadzania doświadczenia, jeśli w pobliżu nie ma stacji meteorologicznej.

4. Statystyczna obróbka danych i ocena skuteczności preparatu

Pierwszym kryterium w ocenie skuteczności badanego repelentu jest potwierdzenie, że poziom uszkodzeń kory drzew z grupy kontrolnej jest odpowiednio wysoki. Zdania na temat ustalenia wielkości progowej są podzielone, ale można przyjąć, że w badaniach zagrodowych odsetek uszkodzonych drzew w grupie kontrolnej powinien odpowiadać wartości rzędu 80% i odpowiednio 50% wykazonowanych drzew w przypadku badań polowych.

Mierzalnym punktem końcowym w badaniach polowych są dane binarne dotyczące liczby uszkodzonych i nieuszkodzonych drzew. Czasami przydatnym może być wskazanie stopnia uszkodzenia. Do zbadania różnic pomiędzy poszczególnymi zabiegami można użyć standardowych testów statystycznych do analizy danych numerycznych (np. test chi²-kwadrat).

Do statystycznej analizy danych z pomiarów ilościowych, tak jak ma to miejsce w przypadku badań zagrodowych, wykorzystuje się standardowe metody parametryczne takie jak test F (analiza wariancji). Wskazówki dotyczące innych porównań poszczególnych zabiegów zamieszczono w Normie EPPO PP 1/152 Planowanie i analiza badań oceniających skuteczność.

Wszędzie tam gdzie można było dokładnie zmierzyć postęp uszkodzeń w czasie, dla różnych zabiegów, użytecznym może być obliczenie współczynników wyboru opracowanych do porównywania doboru pokarmu przez zwierzęta.; zwięzłe opracowanie na ten temat zawiera publikacja Kerbsa z 1989 roku (Podrozdział 11.4) Informacje na temat współczynnika odstraszania można znaleźć w Normie EPPO PP1/199 – Repelenty zwalczające gryzonie, stosowane do ochrony nasion. Sprawozdania z badań oprócz wyliczonych wskaźników powinny zawierać również dane robocze.

5. Współczynniki fitotoksyczności

Z dotychczasowych doświadczeń wynika, że preparaty, mające działać jako repelenty odstraszające gryzonie mogą wykazywać działanie fitotoksyczne w stosunku do drzew. Dlatego też ewentualne uszkodzenia drzew wskutek stosowania badanego preparatu powinny być odnotowywane podczas eksperymentu. Z uwagi na możliwe uboczne skutki działania testowanego preparatu, badane rośliny powinno się obserwować jeszcze po zakończeniu badań dotyczących skuteczności repelentu. Gdy badany preparat uzyskuje dobre wyniki w zakresie skuteczności, zaleca się przeprowadzenie badań fitotoksyczności w stosunku do różnych gatunków roślin z grupy docelowej.

Przy przeprowadzaniu oceny skuteczności repelentu w badaniach zagrodowych zaleca się pozostawienie drzew poddanych zabiegowi oraz grupy kontrolnej, rosnących w stanie nienaruszonym do jesieni. Można również zasadzić dodatkowe drzewa w osobnych sektorach zagrody lub na zewnątrz zagrody ("nakładające się kombinacje kontrolne") i poddać je takim samym zabiegom jak grupę drzew użytych do właściwego doświadczenia, dzięki czemu badający ma wystarczającą liczbę drzew do oceny fitotoksyczności,

nawet, gdy zwierzęta zniszczą większość spośród drzew eksperymentalnych.

Wyniki z obserwacji objawów fitotoksyczności mogą być zapisywane w postaci danych binarnych, uzyskiwanych z punktowania w odniesieniu do uprzednio zdefiniowanej skali (martwe vs. żywe) lub (rzadko) w postaci danych z pomiarów (Norma EPPO PP1/135 – Badanie fitotoksyczności).

W badaniach fitotoksyczności, w odstępach miesięcznych lub dwumiesięcznych, powinny być odnotowywane następujące objawy:

porażenie kory (złuszczenie, obłuszczenie, wysychanie etc.)

brak lub wady rozwojowe liści i kwiatów na wiosnę (jabłoń)

przedwczesna utrata liści (igieł)

opóźniony wzrost (pomiar wysokości, długości pędów lub średnicy pnia na tej samej wysokości od podłoża)

przeżywalność drzewa do końca sezonu wegetacyjnego po zabiegu lub w miarę możliwości do drugiego sezonu wegetacyjnego.

W zależności od rodzaju zebranych danych wskaźniki fitotoksyczności mogą być ilościowe lub jakościowe. Na przykład, najprostszy wskaźnik jakościowy może być wyrażony jak procentowe odchylenie dotyczące uszkodzenia u drzew poddanych zabiegowi w stosunku do drzew kontrolnych.

Bibliografia

KREBS, C.J. (1989) *Ecological Methodology*. Harper & Row, New York (US).