

ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ РОДЕНТИЦИДОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ ОТ ПОЛЕВЫХ ГРЫЗУНОВ

Н.В. Бабич, А.А. Яковлев

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

В результате многолетних лабораторных исследований усовершенствован режим содержания и тестирования полевок: обыкновенной *Microtus arvalis* Pall., восточноевропейской *M. rossiaemerdionalis* Ognev, и общественной *M. socialis* Pall.. Для серых полевок рода *Microtus* были адаптированы методы тестирования родентицидов, определения ЛД₅₀ действующих веществ и оценки устойчивости к антикоагулянтным родентицидам. Оценка родентицидных составов, на полевках лабораторного разведения, проводится в схеме группового тестирования, с элементами реконструкции таких условий полевых обработок, как пониженный температурный режим и альтернативные сочные корма. Методы тестирования с временным содержанием отловленных в природе грызунов, используются для полевок р. *Microtus*, при оценке уровня резистентности и привлекательности приманочной основы в определенных местообитаниях, а также как дополнительные при тестировании водяной полевки *Arvicola terrestris* L., для которой не применим разработанный для р. *Microtus* метод ведения лабораторных колоний. Новая схема оценки уровня резистентности в лабораторных условиях основывается на введении экспериментальным группам дискриминационных доз: 3-дневное введение 30 мг/кг этилфенацина, при оценке чувствительности к антикоагулянтам первого поколения или однократное введение 1 мг/кг бродифакума, к антикоагулянтам второго поколения.

Ключевые слова: виварий, содержание полевок р. *Microtus*, тестирование родентицидов, резистентность к антикоагулянтам.

Поступила в редакцию: 09.10.2018

Принята к печати: 20.11.2018

Родентициды применяются для защиты от грызунов в разных областях народного хозяйства, в основном против крыс и мышей. В растениеводстве препараты от грызунов необходимы как для защиты собранного урожая от крыс и мышей, так и для защиты растений на корню от другого видового состава вредителей (полевок и других обитающих в поле видов). При пополнении ассортимента средств защиты растений от полевых грызунов в лабораторных исследованиях определяется привлекательность приманочных составов и оценивается эффективность действующих веществ против наиболее массовых и вредоносных видов р. *Microtus*, имеющих другое пищевое поведение и физиологию в сравнении с крысами и мышами. На заключительном этапе проводятся полевые испытания, без которых родентициды не могут быть зарегистрированы в качестве пестицидов, разрешенных для применения на территории Российской Федерации [Яковлев, Бабич 2004].

Большой объем информации об исследованиях в области защиты растений от грызунов и применении родентицидов содержится в директивах (ОЕПП-ЕРРО) «о хорошей практике защиты растений» [Bulletin ОЕПП/ЕРРО, 1995a], о методах тестирования антикоагулянтных родентицидов и резистентности [Bulletin. ОЕПП/ЕРРО, 1995b], о методах тестирования репеллентов для обработки зерна [Bulletin ОЕПП/ ЕРРО 1996a] и коры деревьев [Bulletin ОЕПП/ ЕРРО, 1996b]. Важный этап подготовки опытов – создание условий для содержания грызунов. При этом для всех ведомств, ведущих лабораторные исследования с грызунами, актуальны положения об организации вивариев и содержании грызунов, включающие принятые в России Санитарные правила (N 1045-73) и директивы Европейского Союза. Для обеспечения комфортных условий содержания животных и безопасности труда персонала, предусматриваются параметры основных и вспомогательных помещений вивария, размеров клеток и минимальной площади помещения, приходящейся на одно животное при разных режимах содержания. Определяются оптимальная температура, влажность и уровень шума, рекомендуются

санитарно-гигиенические нормы дезинфекции клеток (горячей водой, при температуре 83 °С), и влажной уборки помещений (с использованием 1% раствора хлорамина и др.). В соответствии с этическими нормами проведения исследований, лабораторные опыты предлагается планировать в случае отсутствия альтернативных подходов для получения результата. При этом выбираются гуманные процедуры использования животных и продумывается сбалансированный дизайн эксперимента [Руководство по использованию лабораторных животных...2014]. При поиске новых родентицидов для защиты растений, учитывается гуманность действия препаратов, а при необходимости проведения лабораторных исследований, предпочтение отдается схемам опытов с использованием полевок лабораторного разведения, адаптированным к условиям существования в виварии.

Имеющиеся методические подходы ОЕПП-ЕРРО [Bulletin ОЕПП/ ЕРРО 1982, 2004] лабораторных исследований в области разработки и применения родентицидов, как и принятые в России рекомендации Роспотребнадзора [Методы лабораторных исследований...2011], включающие схемы лабораторных опытов с грызунами, базируются на работе с белыми крысами и мышами, и лишь ограниченно применимы для полевок. Насколько информативны будут результаты опытов для практики защиты растений зависит от возможности адаптации существующих лабораторных методов для исследований на выборках, отловленных в поле грызунов, и на целевых видах лабораторного разведения. Так, методика тестирования на выборках, представляющих природные популяции, представлена в исследованиях, проведенных в Сербии на обыкновенной полевке *M. arvalis* и лесной мыши *Apodemus sylvaticus* L. [Jokić et al. 2014]. Грызуны отлавливались на поле люцерны 2-го года пользования, не обработывавшейся родентицидами весь период роста посева, и содержались в индивидуальных пластиковых клетках 32x20x13.5 см при температуре 21–23 °С, световом режиме 12/12 (день/ночь) и 40–70% относительной влажности воздуха. В период

адаптации, занимавшей не менее 22 дней, а также восстановления после тестирования, основу рациона составлял коммерческий корм для мышей, воду в поилках давали постоянно, а в качестве добавок зверьки получали морковь, листья люцерны и зерно. Из опыта исключались молодые и беременные животные. Приманка, которая изготавливалась за 48 часов до подачи, содержала 90% зерновой смеси грубого помола, 5% пшеничной муки и 5% кукурузного масла. В составе зерновой смеси: 30% пшеницы, 40% ячменя и 30% кукурузы. Группы состояли из 12 особей (по 6♂♂ и 6♀♀), рандомизированных по массе тела. В вариантах с экспозицией свыше одних суток (от 2-х до 4-х) ежедневно возмещалась съеденная приманка. В опытах без выбора грызуны получали вместо корма, содержащую родентицид приманку, в опытах с выбором, в клетку помещали две кормушки (с родентицидом и без), положение кормушек в клетке каждый день меняли. Кормушки с остатками корма выдерживались в одинаковых комнатных условиях не менее 24 часов до начала измерений. Среднесуточное потребление приманки пересчитывалось на 100 г массы тела.

Кардинальное изменение жизненных условий грызунов в данном опыте, практически нивелирует те преимущества, которые дает исследование на выборках, представляющих природные популяции, и применимость результатов для практики ограничена. Используя грызунов лабораторного разведения, можно оценить привлекательность приманки и физиологический ответ на воздействие родентицидов для разных видов. Так в Великобритании, для изучения эффективности родентицидных препаратов, основателей лабораторных колоний восьми видов грызунов, получали в научных заведениях и лабораториях, либо отлавливали из природных популяций из мест, требующих защиты растений от этих видов [Gill et al., 1992]. Отловленных в поле грызунов брали в размножение после 6 месячного карантина. С возраста 21 день, молодняк рассаживали, разделяя по полу. Зверьков содержали при температуре $20 \pm 3^\circ\text{C}$ и естественном световом режиме на лабораторной диете 41В (Oxoid Ltd., London, UK), вода предлагалась в избытке. С 60-дневного возраста грызуны адаптировались к содержанию в индивидуальных проволочных клетках. Приманка состояла из 90% грубо дробленой овсянки, 5% кукурузного масла и 5% смеси препарата с мукой. При тестировании жидких концентратов антикоагулянтов на 95% дробленой овсянки, брали 5% концентрата. Проводились тесты с выбором и без выбора. Так как тестировались систематически сильно отстоящие друг от друга виды (переднеазиатский хомяк *Mesocricetus auratus* Waterhouse, малая песчанка *Meriones shawi* Duvernoy, травяная мышь *Arvicanthis niloticus* E. Geoffroy, иглистая мышь *Acomys cahirinus* Geoffroy, многососковая крыса *Mastomys natalensis* Smith, хлопковый хомяк *Sigmodon hispidus* Say & Ord, малая крыса *Rattus exulans* Peale и черная крыса *R. rattus* Berk.), условия содержания и кормления могли сказываться на устойчивости видов к препаратам.

Генетическое соответствие тестируемых выборок популяциям вредителей, обеспечивается выбором точки происхождения основателей лабораторных колоний. В многолетних исследованиях ВИЗР, проводившихся в период 1999–2018 гг., полевки р. *Microtus* (обыкновенная

M. arvalis, восточноевропейская *M. rossiaemeridionalis* и общественная *M. socialis*) отлавливались в агроценозах из очагов повышенной вредоносности грызунов, на разных фазах популяционного цикла. Отлов водяной полевки *A. terrestris* производился в лугово-болотных местообитаниях на подъеме численности вида. В зависимости от задач исследований, после периода адаптации, проводилось тестирование на выборках из поля, либо основывались лабораторные колонии, для получения и дальнейшего тестирования полученных в разведении особей. Для водяной полевки, более крупного и агрессивного вида, лабораторное разведение не использовалось и тестировались только природные выборки при индивидуальной рассадке. Изучалось влияние антикоагулянтных родентицидов на разные виды [Баранова, Бабич, Яковлев, 2002; Яковлев, Бабич, Покровская и Долженко, 2005]. Основой ведения лабораторных колоний полевок р. *Microtus*, было составление постоянных пар, отсадка самца от выводка проводилась лишь при недостатке производителей для размножения. По литературным сведениям при методе разведения обыкновенной полевки с отсадкой самца снижается смертность детенышей, но это сказывается на социальном поведении полученных потомков в дальнейшем [Громов, 2013]. Ссаживание зверьков производится на нейтральной территории, обеспечивается отсутствие запаха конкурентов (новый подстилочный и гнездовой материалы, чистый корм и др.). При составлении однополых групп, исключались наиболее агрессивные особи, также неуживчивые зверьки отсеивались при ссаживании пар для размножения. Для содержания семейных пар и групп молодняка использовались большие стеклянные террариумы, размерами $50 \times 30 \times 25 \text{ см}^3$, с сетчатыми крышками. Отсаживание молодняка с разделением по полу, проводилось с возраста 17–20 дней. Оптимальный размер однополых групп для группового содержания составляет 5–6 особей на террариум, объемом около 40 л. Полученное при лабораторном разведении поголовье хорошо адаптировалось к групповому содержанию как у восточноевропейской и общественной, так и у относительно более агрессивной к сородичам обыкновенной полевки. Проводились как тесты с индивидуальной рассадкой с использованием малых террариумов размером $32 \times 21 \times 10 \text{ см}$, так и в групповые варианты опытов, в больших террариумах.

При проведении тестирования методами на основе стандартных подходов [Методы лабораторных исследований...2011], в виварии ВИЗР проводились опыты без выбора и с выбором, с предварительным учитываемым прикормом. Выборки составлялись из особей обыкновенной полевки *Microtus arvalis* лабораторного разведения, полученные от пар основателей, вывезенных из Краснодарского края, из мест интенсивного применения антикоагулянтов. В качестве приманочной основы и альтернативного корма использовалась цельнозерновая овсянка. Стандартная диета состояла из влажного (овощи и свежая трава) и зернового (нелущеный овес) кормов. В опыт брали полевок в возрасте около 2 месяцев. В каждом варианте использовались по 10 особей, которые содержались в двух террариумах (по 5♂♂ или 5♀♀ на террариум), давалась овсянка, вода, сено как подкормка и гнездовой материал. Тестирование включало три варианта: (1) получавшие стандартный препарат, (2) получавшие тестируемый

препарат, и (3) контроль, – получавшие только чистую приманку. После трехдневного прикорма (с ежедневным измерением количества съеденного зерна), проводилась трехдневная экспозиция препарата (чистый корм в контроле). В опытах с выбором, одна кормушка содержала чистую овсянку, а другая – обработанную родентицидом. Ежедневно кормушки менялись местами, учитывалось количество съеденного и давалась свежая порция приманки. Среднесуточное потребление приманки пересчитывалось на 20 г (средняя масса полевки), что определяет поедаемость приманки в расчете на среднего зверька. По массе, потребленной приманки оценивалась примерная набранная доза препарата в мг/кг.

Виды опытов с полевыми р. Microtus и условия их проведения

Хорошие результаты ведения лабораторных колоний полевок получены на близком к естественному, трехкомпонентном рационе, содержащем зерновые, травяные и овощные корма. Рекомендуемые условия содержания грызунов при температуре от +10, до +20 °С при относительной влажности 70–80%, шире диапазона, применяемого в стандартных опытах с грызунами [Руководство по использованию лабораторных животных... 2014], но дают возможность постановки опытов при температуре +10–15 °С, воссоздавая условия при проведении осенних обработок в поле.

1. Определение ЛД₅₀

В основе определения ЛД₅₀ лежат стандартные методики [Bulletin OEPР/ EPPO 1982]. Первичная оценка проводится на небольшом количестве животных: каждая следующая особь получает возрастающую дозу препарата. Для более точной оценки каждая доза препарата дается небольшой группе особей. Для анализа в статистических программах пробит анализа, в таблицу заносятся следующие показатели: дозы изучаемого препарата в миллиграммах на 1 кг массы тела животного, число животных, на которых препарат оказал действие (гибель), количество животных в данной группе, эффективность препарата, выраженная в пробитах. Рассчитываются ЛД₁₆, ЛД₅₀, ЛД₁₀₀ и стандартное отклонение ЛД₅₀ [Беленький, 1963]. В стандартном варианте препарат вводится через рот. Для прояснения отдельных вопросов защиты растений, препарат подается в составе приманки (метод поступления препарата обязательно указывается). Введение концентратов родентицидов проводилось в исследованиях действующих веществ (д.в.): этилфенацин, изопропилфенацин, бромадиолон и бродифакум [Бабич, Яковлев и Драгомиров, 2007; Бабич и Яковлев, 2013]. При учете по массе потребленной приманки, точность определения дозы по действующему веществу (мг/кг) снижается, но поступление препарата с пищей, как это и происходит в процессе обработок, обеспечивает естественный метаболизм препарата, что повышает ценность результатов для интерпретации. Сроки наблюдений за изменением состояния полевок в режиме стандартного содержания и учета смертности, зависят от класса тестируемых веществ (для антикоагулянтных родентицидов – 14 дней).

2. Определение уровня резистентности

Была предложена новая схема определения уровня резистентности в популяциях полевок. При неэффективности обработок с.-х. культур антикоагулянтными препара-

тами, в поле убеждаются, что приманка хорошо поедается грызунами, а не остается нетронутой возле нор. Из-за запаса приманки в норах реальную поедаемость определить сложно. Тем не менее, специально проведенные в виварии ВИЗР наблюдения показали, что запаса приманки является хорошим показателем ее привлекательности и гарантирует (хотя бы и частичное) ее потребление. Следующим шагом (при возможности) в лаборатории проверяется содержание д.в. в использованном родентициде. После подтверждения поедаемости приманки, содержащей нормативную концентрацию д.в. хорошего качества, приступают к отловам в местах неэффективных обработок. Признаками доминирования серых полевок на повреждаемой культуре являются остатки частей растений на кормовых столиках, изреженность посевов, в виде выстриженных полевок “плешин”, обнаружение пучков свежих стеблей у норных входов. В зависимости от числа норных входов с признаками частого посещения зверьками (утоптанная почва, остатки растений, свежие экскременты) устанавливаются живоловушки по 2–4 штуки на колонию, (30–50 штук на поле). Отловленных полевок размещают в террариумах, снабжают их свежей травой (сеном), корнеплодами и зерновым кормом. В качестве подстилки и гнездового материала используются опилки и сено или другие материалы (солома, фильтровальная бумага, профессиональные наполнители). Вода необходима при дефиците сочных кормов или пониженной влажности воздуха. Животные адаптируются к условиям содержания в течение 20 дней, затем проводится их тестирование на чувствительность к антикоагулянтам.

А) введение концентратов антикоагулянтов per os

1. Минимальная группа для тестирования составляет 10 полевок (5 самцов, 5 самок).

2. Каждый зверек взвешивается и, в зависимости от массы тела, рассчитывается индивидуальный объем препарата для введения.

$$X(\text{мл}) = \frac{m(\text{г}) * D(\text{мг/кг})}{a(\text{г/л}) * 1000}, \text{ где}$$

$X(\text{мл})$ – объем вводимого препарата,

$m(\text{г})$ – масса полевки в г,

$D(\text{мг/кг})$ – доза по д.в., которую получит тестируемая особь,

$a(\text{г/л})$ – содержание д.в. в препарате по сумме изомеров.

3. Дискриминационная доза, вызывающая 100% гибель чувствительных особей.

3.1. при тестировании антикоагулянтов 1-го поколения, – составляет 30 мг/кг этилфенацина (по д.в.).

Введение осуществляют в течение 3-х последовательных суток по 10 мг/кг.

3.2. при тестировании антикоагулянтов 2-го поколения,

– составляет 1 мг/кг бродифакума (по д.в.) при однократном введении.

4. В течение 14 дней с первого дня введения проводится наблюдение за животными, регистрируются летальные исходы.

5. Выживание в опыте одного и более грызунов, говорит о существовании в данной популяции резистентных особей.

Б) Подача препарата с приманкой

1. Минимальная группа для тестирования составляет 10 полевок (5 самцов, 5 самок).

2. За 2 дня до тестирования зверьки рассаживаются в индивидуальные клетки.

3. В день тестирования полевки получают родентицидную приманку вместо зернового корма (альтернативный корм – овощи)

3.1. при тестировании антикоагулянтов 1-го поколения, (приманка 0.15 г/кг этилфенацина по д.в.) – 3-х дневная подача по 5 г приманки на особь в день.

3.2 при тестировании антикоагулянтов 2-го поколения, (приманка 0.05 г/кг бродифакума по д.в.) – 2-х дневная подача по 5 г приманки на особь в день.

4. В течение 14 дней после подачи приманки проводится наблюдение за животными, регистрируются летальные исходы.

5. Выживание в опыте одного и более грызунов, говорит о существовании в данной популяции резистентных особей.

3. Оценка эффективности родентицидных препаратов

Опыты «без выбора»

3.1. Для полевок р. *Microtus* мало информативны опыты с предложением только зерновых кормов, как это рекомендуется в стандартных подходах [Методы лабораторных исследований...2011]. Для исключения ухудшения состояния особей из-за нарушения рациона, в опытах «без выбора» на практике у полевок кроме воды и зерновой приманки должны быть сено или трава.

3.2. Опыты «без выбора» на влажной приманке.

В качестве пищевой основы приманки для полевок р. *Microtus* предлагаются нарезанные овощи, при этом возможно исключение всех остальных видов кормов.

Опыты без выбора зерновой приманки, с альтернативным влажным кормом

3.3. Стандартом тестирования полевок признаются опыты с частичной пищевой альтернативой в виде сочных кормов, – травы и овощей. При тестировании зерновой приманки, потребление влажных кормов и воды идет в «фоновом режиме» без измерения. Такая схема тестирования воспроизводит условия обработок в поле, где зерновая приманка предлагается на фоне питания вредителя растениями повреждаемой культуры.

Опыты «с выбором»

3.4. Опыты «с выбором» зерновых приманок.

Такие схемы, базовые при регистрации родентицидов по ведомству Роспотребнадзора [Методы лабораторных исследований...2011], на полевках рекомендуются лишь для прояснения частных вопросов, например, при выявлении уровня избегания определенных веществ или при

подборе аттрактантов. Для исключения ухудшения состояния особей из-за нарушения рациона полевок в опытах с выбором чистого и обработанного зерна (вода в избытке) предоставляется также сено или трава, как это описано ранее.

3.5. Опыты «с выбором» влажных приманок.

При использовании в качестве пищевой основы овощей, все остальные виды кормов исключаются. Полевкам предлагается выбор из обработанных и необработанных овощей в двух кормушках. Приманка и положение кормушек в клетке ежедневно меняется. Эта схема подходит для выявления уровня избегания либо аттрактивности определенного вещества. Если в дальнейшем предполагается использовать препарат и (или) на зерне, то в дальнейшем реализуют схемы опытов с зерновыми приманками.

3.6. Опыты «с выбором» зерновой приманки с альтернативным влажным кормом

При тестировании зерновой приманки потребление влажных кормов и воды идет в «фоновом режиме». Для практики более важен выбор не между зерновыми кормами, а между приманкой и растениями повреждаемой культуры, которыми полевки питаются. Дополнительная схема опытов при подборе более привлекательной приманки.

Опыты с серыми полевыми р. *Microtus* проводят, контролируя определенные параметры. По генетическому составу – используются отловленные в поле грызуны или лабораторные популяции. В зависимости от решаемых задач – проводятся опыты с индивидуальной рассадкой или при групповом содержании. По схеме тестирования – различаются опыты «без выбора» и «с выбором». При этом для полевок наиболее информативны опыты на фоне альтернативных влажных кормов. На выборках из отловленных в поле полевок в первую очередь исследуется уровень резистентности в конкретных местообитаниях. Предварительно грызуны должны проходить карантин и адаптироваться к лабораторному содержанию. Важно, что при разведении полевок основателей лабораторной колонии, первое-второе поколение дает адекватную информацию об уровне резистентности исходной популяции. Исследования кормовых предпочтений и эффективности родентицидов на полевых выборках, по сути, имеют те же ограничения в интерпретации, что и тестирование полевок, лабораторного разведения. Последнее более рационально. Место вылова грызунов основателей лабораторных колоний зависит от целей будущих исследований: как правило это районы интенсивного применения родентицидов, где будут проходить регистрационные полевые опыты. При тестировании родентицидов, актуальны общие этические требования, предъявляемые к экспериментам на животных и правила для исследователей.

Библиографический список (References)

Бабич Н.В., Яковлев А.А. Драгомиров К.А. Устойчивость обыкновенной полевки *Microtus arvalis* Pall. к антикоагулянтным родентицидам из группы 1,3-индан-дионов // В сб.: «Териофауна России и сопредельных территорий.» Материалы Международного совещания. КМК. Москва, 2007. С. 33.

Бабич Н.В., Яковлев А.А. Влияние антикоагулянтных родентицидов на лабораторную популяцию обыкновенной полевки (*Microtus arvalis* Pall.) // В сб.: Третий Всероссийский съезд по защите растений (16–20 декабря 2013 г., СПб.). Фитосанитарная оптимизация агроэкосистем. Том 3. СПб., 2013. С. 6.

Баранова И.Л., Бабич Н.В., Яковлев А.А. Токсичность родентицидных приманок с 0.5%-ным этилфенацином для обыкновенной и водяной полевок в лабораторных условиях // РЭТ ИНФО, N 10, НЧНОУ «Институт пест-менеджмента» 2002. С. 36–37.

Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: Медгиз, 1963. 146 с.

Громов В. С. Забота о потомстве и влияние присутствия самца на формирование родительского поведения у обыкновенной полевки (*Microtus arvalis*) в лабораторных условиях // Сибирский экологический журнал, 3, Новосибирск Изд-во СО РАН 2013. С. 423–430.

- Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности/ 3.5. Дезинфектология / Руководство/ Р 4.2.2643-10 Издатель Роспотребнадзор. 2011. 614 с.
- Руководство по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И.П. Павлова/ И.В. Белозерцева, О.А. Драволлина, М.А. Тур / СПб.: Издательство СПбГМУ. 2014. 80 с.
- Яковлев А.А., Бабич Н.В. Мышевидные грызуны и меры борьбы с ними на сельскохозяйственных угодьях/ В.И. Долженко (ред.) /Рекомендации. М.: ФГНУ «Росинформагротех». 2004. 52 с.
- Яковлев А.А., Бабич Н.В., Покровская С.Д., Долженко В.И. Биологическая эффективность антикоагулянтных родентицидов против обыкновенной и общественной полевки // Вестник защиты растений. 2. ВИЗР. 2005. С. 55–57.
- Gill J.E. A review of the results from laboratory tests of some rodenticides against eight rodent species. / Borecco J.E., Marsh R.E. (eds)/ In: Proceedings of the 15th Vertebrate Pest Conference. Published at University of California. Davis.1992. P. 182–191.
- Jokić G., Vukša M., Đedović S and Kljajić P. Laboratory testing of wood mouse and common vole sensitivity to bromadiolone, sodium selenite, and cellulose // Journal of Pest Science, Springer 2014 87 pp 309–314 DOI 10.1007/s10340-014-0554-x
- Bulletin OEPP/ EPPO 1982 Laboratory Tests for Evaluation of the Toxicity and Acceptability of Rodenticides and Rodenticide Preparations no 113 Guideline for the efficacy evaluation of rodenticides. P. 1–10.
- Bulletin OEPP/EPPO 1995a Guideline on good plant protection practice Rodent control for crop protection and on farms Bulletin 25, 709–736 (1995) no. 5.
- Bulletin. OEPP/EPPO, 1995b Efficacy evaluation of rodenticides: “Testing rodents for resistance to anticoagulant rodenticides”. Bulletin 25 PP 1/198(1) P. 575–593.
- Bulletin OEPP/ EPPO 1996a Rodent repellents against debarking of trees №200 Guideline for the efficacy evaluation of plant protection products Bulletin 26, P. 285–294.
- Bulletin OEPP/ EPPO 1996b Rodent seed repellents №199 Guideline for the efficacy evaluation of plant protection products Bulletin 26, P. 273–283.
- Bulletin OEPP/EPPO 2004 Laboratory tests for evaluation of the toxicity and acceptability of rodenticides and rodenticide preparations, PP 1/113 (2), Standards PP1. Efficacy evaluation of plant protection products miscellaneous, vol 5, 2nd ed. P. 23–35.

Translation of Russian References

- Babich N.V., Yakovlev A.A. The influence of anticoagulant rodenticides on laboratory colony of common vole (*Microtus arvalis* Pall.) // In: Tretij Vserossijskij sjezd po zashhite rastenij (16–20 dekabnja 2013 g., Spb.). Fitosanitarnaja optimizacija agrojekosistem. V. 3. St. Petersburg. 2013. P. 6 (In Russian).
- Babich N.V., Yakovlev A.A., Dragomirov K.A. Resistance of common vole *Microtus arvalis* Pall. to 1,3 indandione anticoagulant rodenticides // In: Teriofauna Rossii i sopredel'nykh territorij. Materialy Mezhdunarodnogo soveshchaniya. Moscow: KMK. 2007. P. 33. (In Russian).
- Baranova I.L., Babich N.V., Yakovlev A.A. Toxicity of 0.5% etilfenacin rodenticide baits against Common vole and Water vole in lab conditions // RJeT INFO, N 10. NCHNOU «Institut pest-menedzhmenta»/ 2002. P. 36–37. (In Russian).
- Belenskij M.L. Elements of quantity estimate of pharmacology effect. Leningrad: Medgiz. 1963. 146 p. (In Russian).
- Belozerceva V.I., Dravolina O.A., Tur M.A. Manual for lab animals use for scientific and educational purposes in The First Pavlov State Medical University of St. Petersburg. // St. Petersburg. 2014. 80 p. (In Russian).
- Gromov V.I. Care of the young and the effect of male presence on the parental behavior of Common Vole (*Microtus arvalis*) in captivity // Contemporary Problems of Ecology. May 2013. V. 6. Issue 3. P. 330–335. Original Russian text in Sibirskij Ekologicheskij Zhurnal 3. Novosibirsk: Izdatel'stvo SO RAN. 2013. P. 423–430. (In Russian).
- Methods of laboratory study and testing of disinfection products for evaluation of their efficacy and safety. 3.5. Dezinfektologija. Rukovodstvo. R 4.2.2643-10 // Moscow: Rospotrebnadzor. 2011. 614 p. (In Russian).
- Yakovlev A.A., Babich N.V. Small rodents and their control on agricultural grounds. In: V.I. Dolzhenko (ed.). Rekomendacii. Moscow: FGNU «Rosinformagroteh». 2004. 52 p. (In Russian).
- Yakovlev A.A., Babich N.V., Pokrovskaya S.D., Dolzhenko V.I. Biological efficiency of anticoagulant rodenticides against Common and Social voles // Vestnik zashity rastenij. N 2. VIZR. 2005. P. 55–57. (In Russian).

Plant Protection News, 2018, 4(98), p. 58–62

LABORATORY METHODS OF ESTIMATION OF BIOLOGICAL EFFICIENCY OF PLANT PROTECTION RODENTICIDES FROM VOLES OF GENUS *MICROTUS*

N.V. Babich, A.A. Yakovlev

All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

Long-term laboratory studies resulted in the improvement of the regime of keeping and testing of voles: *Microtus arvalis* Pall., *M. rossiaemeridionalis* Ognev and *M. socialis* Pall.. Methods of primary testing of new rodenticides and bait products, determination of LD₅₀ and estimation of resistance to anticoagulant rodenticides were adapted for gray voles of the genus *Microtus*. Rodenticides testing on laboratory bred individuals in group testing scheme included experimental reconstruction of field treatments conditions, such as cool temperature regime and alternative juicy feed. The test methods with temporally kept wild-caught *Microtus* voles were used in the study of level of resistance and bait preference in certain habitats, and also as an additional method for testing the water vole *Arvicola terrestris* L., for which the method of maintenance of laboratory colonies, evaluated for *Microtus* voles, were not applicable. New scheme of estimation of resistance level in lab conditions is based on discrimination doses, given to experimental samples of voles, i.e. 30 mg/kg of Etilfenacin in 3 days for anticoagulants of first generation, or single dose 1 mg/kg of Brodifacoum for second generation.

Keywords: vivarium, keeping of *Microtus* voles, rodenticide testing, anticoagulant resistance.

Received: 09.10.2018

Accepted: 20.11.2018

Сведения об авторах

Всероссийский НИИ защиты растений, шоссе Подбельского, 3, 196608 Санкт-Петербург, Пушкин, Российская Федерация
*Бабич Наталья Васильевна. Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, email: natbabich@gmail.com
Яковлев Анатолий Александрович. Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, email: rodenticides@vizr.spb.ru

Information about the authors

All-Russian Institute of Plant Protection, Podbelskogo Shosse, 3, 196608, St. Petersburg, Pushkin, Russian Federation
*Babich Nataliya Vasilievna, senior researcher, PhD in Biology email: natbabich@gmail.com
Yakovlev Anatoly Aleksandrovich, Leading Researcher, PhD in Biology, email: rodenticides@vizr.spb.ru

* Ответственный за переписку

* Corresponding author