

STANISŁAW PACIEJEWSKI

# Wpływ zmiennych warunków temperatury na rozwój i przeżywalność larw nicieni żołądkowo-jelitowych owiec

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych Instytutu Weterynarii, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

## Summary

Effect of variable temperature conditions on the development and survival of gastro-intestinal roundworms in sheep

The development of the larvae of roundworms in the gastrointestinal tract of sheep under the condition of significant temperature fluctuation within a day and night was studied. Moreover, the survival rate of the *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta* and *Trichostrongylus sp.* and *Chabertia ovina* larvae stored in the samples of faeces at 17–24°C, 4°C and -10°C was examined. It was found that the first larvae of *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta* occurred at 4–26°C after 33 days. The highest number of the larvae appeared at days 42 and 45 since the culture commencement. In relation to control samples, the number of developed larvae was 19 per cent. In the samples stored alternately at 24°C and -10°C the first larvae of *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta* were found at day 42. Compared with control samples they constituted only 3 per cent of the larvae. Invasive larvae stored in faeces at 17–24°C or at 4°C survived 35 days and 85 days respectively, while stored at -10°C they survived 180 days; they were classified as *Ostertagia circumcincta*.

Biologia larw nicieni żołądkowo-jelitowych owiec jest o wiele mniej poznana niż pasożytów dojrzałych. Wynika to stąd, że larwy nie prowadzą pasożytniczego trybu życia. Rozwój ich odbywa się w środowisku zewnętrznym, którym z reguły jest pastwisko lub wybieg. Proces rozwoju larw uzależniony jest głównie od temperatury, wilgotności podłoża i dostępu tlenu.

W badaniach laboratoryjnych, gdzie starano się stworzyć najbardziej optymalne warunki dla rozwoju larw (temperatura termostatu 22–24°C, wilgotność 90–100%, dostęp tlenu – wentraczenie termostatu przez 1 godz.) proces wykształcania się larw do form inwazyjnych przebiega dość szybko. Larwy I stadium rozwoju wylęgają się z jaj po kilku godzinach, a po kilkunastu wykształcają się już larwy II stadium. Larwy inwazyjne (L<sub>3</sub>), w zależności od gatunku nicienia, wykształcają się po 5–8 dniach. Wyjątek stanowią nicienie należące do rodzaju *Nematodirus*. Larwy tych pasożytów nie opuszczają skorupki jajowej, tylko wewnątrz niej odbywają dwie linki. W sprzyjających warunkach temperatury (20–25°C) i dużej wilgotności larwy opuszczają skorupkę jajową po 16–30 dniach. Niska temperatura, a także susza hamują wylęganie się larw z otoczek jajowych.

Larwy I i II stadium rozwoju mają prostą budowę ciała. Na końcu przednim znajduje się otwór gębowy, który prowadzi do małej, wąskiej torebki gębowej, a ta z kolei łączy się z gardzielią. Gardziel ma dwa gruszkowate wzdęcia oddzielone od siebie wąskim przewężeniem. Tylnie wzdęcie zawiera aparat zastawkowy. Jest to gardziel rabditoidalna i zajmuje 1/4 – 1/3 długości larwy. Gardziel prowadzi do jelita, które jest prostą

cewą zbudowaną z komórek ułożonych grzbietowo i brzusznie. W komórkach tych gromadzone są substancje odżywcze w postaci ciemnych ziarnistości. Jelito zakończone jest odbytem, który znajduje się po stronie brzusznej ciała, dość daleko od tylnego końca larwy. Larwy L<sub>1</sub> i L<sub>2</sub> w środowisku wilgotnym mają zdolność poruszania się w poziomie. W tym okresie odżywiają się substancjami organicznymi zawartymi w kale owiec i podłożu pastwiska.

Larwy inwazyjne (L<sub>3</sub>) różnią się znacznie pod względem anatomicznym i fizjologicznym od larw L<sub>1</sub> i L<sub>2</sub>. Larwa na całym ciele okryta jest starą wylinką, która pozostała po drugim linieniu. Naturalne otwory ciała zasklepiają się ze starą wylinką, która tworzy nieprzerwalny pancerz wokół larwy. Dzięki tej wylince larwy mogą przeżyć wpływ niekorzystnych warunków atmosferycznych bez utraty swojej zdolności do zarażenia zwierząt. Gardziel larwy inwazyjnej ma postać wydłużonej cewy, która rozszerza się ku tyłowi (gardziel filariopodobna). Komórki jelitowe są bardzo wyraźne, ułożone w dwu rzędach – grzbietowym i brzuszny. Liczba komórek jest stała u poszczególnych gatunków larw, co stanowi jedną z cech umożliwiających ich identyfikację. Komórki jelitowe zawierają nagromadzone substancje odżywcze (ciemne ziarnistości). Larwa inwazyjna nie pobiera pokarmu ze swojego otoczenia, lecz czerpie energię z nagromadzonych substancji odżywczych w komórkach jelitowych. Larwy inwazyjne mogą poruszać się w poziomie, ponadto mają zdolność wypełniania na żdźbła traw. Ruch larw uwarunkowany jest zasobem wilgotności w podłożu i temperaturą otoczenia. W cieplej porze roku larwy są bardzo aktywne, szybko się poruszają, przez co szybciej następuje wyczerpanie substancji odżywczych, w następstwie czego larwa traci zdolność poruszania się i ginie. Dlatego w okresie lata larwy żyją krótko, natomiast z nastaniem chłodów stają się nieruchliwe, przybierają postać skręconej spirali i w tej formie mogą przetrwać długi okres, a nawet zimę.

Proces rozwoju larw w warunkach, jakie występują na pastwisku, jest o wiele dłuższy. W zależności od pory roku i warunków atmosferycznych może trwać kilka do kilkunastu tygodni. Również od warunków geoklimatycznych uzależniona jest długość życia larw inwazyjnych (L<sub>3</sub>), pojawiających się na pastwisku w cieplej porze roku (4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16). Dokładna znajomość biologii i ekologii larw nicieni żołądkowo-jelitowych owiec stwarza duże możliwości wykorzystania tej wiedzy w praktyce hodowlanej. W wielu krajach, gdzie hodowla owiec jest jedną z głównych gałęzi produkcji rolnej, na szeroką skalę stosuje się zabiegi profilaktyczne (bez używania leków), których głównym założeniem jest niedopuszczenie wolnych od pasożytów zwierząt do kontaktu z formami inwazyjnymi występującymi na pastwisku. W tym celu stosuje się różne systemy wypasu zwierząt (kwaterowy, wolny, wędrujący). Ponadto w obrębie pastwiska przeprowadza się różne zabiegi rekultywacyjne, do których należą: bronowanie pastwiska po wykorzystaniu trawy przez zwierzęta, nawożenie płynnymi nawozami mineralnymi z dodat-

kiem makro- i mikroelementów, koszenie i suszenie traw po pierwotnym użytkowaniu pastwiska przez owce.

Dotychczasowa metoda zwalczania endopasożytów u owiec, polegająca na niszczeniu dojrzałych pasożytów w organizmie żywiciela przy użyciu leków, nie dała oczekiwanych wyników. Praktyka dowiodła, że tym sposobem można ograniczyć inwazję tylko do pewnego stopnia. Wynika to stąd, że nicienie żołądkowo-jelitowe występują u owiec powszechnie, a uwolnione od pasożytów zwierzęta wychodzą na zakażone pastwisko, gdzie w krótkim czasie ulegają ponownemu zarażeniu. Ponadto względy ekonomiczne (wysoka cena leków) ograniczają liczbę zabiegów do jednego lub dwóch w ciągu roku. Poszerzenie tej metody o wspomnianą wyżej profilaktykę może znacznie ograniczyć inwazję pasożytów i zwiększyć korzyści materialne uzyskiwane z hodowli owiec.

W naszym kraju badania nad morfologią larw nicieni żołądkowo-jelitowych wykonał Wertejuk (23). W latach 1954–57 zapoczątkował on badania dotyczące wpływu różnych warunków środowiskowych na rozwój i przeżywanie larw w owczarni i w glebie w okresie lata i zimy (24).

Przedstawiona praca stanowi pewien wycinek badań, których celem było określenie wpływu zmiennych warunków temperatury na rozwój i przeżywanie larw nicieni żołądkowo-jelitowych owiec.

#### Materiał i metody

Badania przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych, wykonano więc dwa różne doświadczenia.

Doświadczenie I. W tym doświadczeniu badano czas rozwoju larw nicieni żołądkowo-jelitowych w różnych temperaturach. Z kału pobranego od owiec zarażonych w warunkach naturalnych przygotowano 6 prób o masie 100 gramów każda. Kał umieszczano w krystalizatorach, mieszano z grudkami styropianu, zwilżano wodą destylowaną i nakrywano gazą. Po oznakowaniu, próbkę z numerem 1 umieszczono w termostacie

(temp. +24°C). Natomiast próbkę 1a wstawiono do lodówki, o temperaturze +4°C. Po 12 godzinach następowała zmiana: próbkę z numerem 1 przenoszono do lodówki, a próbkę 1a do termostatu. Podobnie postępowano z 2 następnymi próbkami (2 i 2a), z których jedną (2) umieszczano w termostacie, a drugą (2a) w komorze zamrażarki o temp. -10°C. Pozostałe 2 próby kału (3 i 3a) stanowiły kontrolę, która przez całą dobę (24 godz.) była przetrzymywana w termostacie. Wszystkie próby przed wstawianiem do termostatu były skrapiane wodą destylowaną i przez 30 minut wietrzono termostat. Proces rozwoju larw badano co 3 dni, aż do 54 dnia, stosując metodę Baermanna. Ponadto na bazie prób kontrolnych określano przynależność rodzajową lub gatunkową larw.

Doświadczenie II. W tym eksperymencie badano przeżywanie inwazyjnych larw nicieni w grudkach kału owczego, które przetrzymywano w różnych temperaturach. W podobny sposób w doświadczeniu I przygotowano 3 próby kału o masie 200 gramów każda. Umieszczono je w termostacie (temp. +24°C) i przez 10 dni prowadzono hodowlę larw. Po wyjęciu prób z termostatu pobrano 5-gramowe próbki kału i określono w każdej z nich liczbę i przynależność gatunkową lub rodzajową larw. Jedną z tych prób pozostawiono na oknie w temperaturze pokojowej (18–24°C). Drugą próbkę umieszczono w lodówce (temp. +4°C), trzecią wstawiono do komory zamrażalnika (temp. -10°C). W czasie przetrzymywania prób z kałem nie skrapiano ich wodą. Z każdej próby co 7 dni pobierano 5-gramowe próbki kału i badano je metodą Baermanna na obecność żywych larw. Po 42 dniach badania wykonywano co 2 tygodnie.

#### Wyniki i omówienie

Na podstawie cech morfologicznych opisanych przez Dicmansa i Wertejuka (12, 13, 24) przeprowadzono taksonomię larw. W badanym materiale stwierdzono larwy następujących nicieni: *Haemonchus contortus* 60%, *Ostertagia circumcincta* 15%, *Trichostrongylus sp.* 10%, *Chabertia ovina* 10%, *Oesophagostomum venulosum* 5%. Ponadto w pierwszych dniach badań występowały pojedyncze larwy *Strongyloides papillo-*

Tab. 1. Proces rozwoju larw w zmiennych warunkach temperatury

Czas przetrzymywania prób kału w różnych temp. (godz.)				Liczba inwazyjnych larw stwierdzona w 5 g kału po dniach:																		
Numer próby	termostat +24°C	lodówka +4°C	zamrażarka -10°C	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	33	36	39	42	45	48	55	62	
1	12	→ 12	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	26	59	68	52	32	26	15
1a	12	← 12	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	52	72	78	52	31	20	
2	12	→ -	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	12	13
2a	12	← -	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	14	10
3	24	-	-	+	52	321	436	430	352	351	263	291	247	224	196	191	180	133	111	97	95	
3a	24	-	-	+	36	301	472	428	307	291	252	292	258	235	110	110	124	128	123	107	98	

Objaśnienia: ← - kierunek przenoszenia prób, + - larwy I i II stadium rozwoju i larwy *Strongyloides papillosus*

Tab. 2. Długość życia inwazyjnych larw w zmiennych warunkach temperatury

Numer próby	Liczba larw inwazyjnych w 5 g kału po inkubacji w termostacie	Warunki przetrzymywania	Liczba larw w 5 g kału po dniach przetrzymywania																			
			7	14	21	28	35	42	55	70	85	100	115	130	135	150	165	180	195			
1	456	temp. pok +18–24°C	412	391	281	201	62	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	426	lodówka +4°C	420	393	350	192	90	56	46	36	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	410	zamrażarka -10°C	391	379	338	291	263	191	159	121	95	97	61	35	23	20	10	3	0			

sus, które po 3–4 dniach ginęły. W próbach kału przetrzymywanych naprzemiennie w termostacie i lodówce pierwsze larwy inwazyjne pojawiły się w 33. dniu od chwili rozpoczęcia hodowli i były to larwy *Hemonchus contortus* (tab. 1). Największą liczbę larw stwierdzono w 42. i 45. dniu. Przeprowadzona w tym czasie identyfikacja wykazała obecność larw: *Haemonchus contortus*, *Ostertagia circumcincta* i *Chabertia ovina*. Nie stwierdzono larw *Oesophagostomum venulosum*, a to dlatego, że przy niewielkim ich odsetku prawdopodobieństwo ich wykrycia było dużo mniejsze niż innych larw. Porównując największą średnią liczbę larw z dwu prób przetrzymywanych w termostacie i lodówce z taką samą średnią z prób kontrolnych należy stwierdzić, że w tych zmiennych warunkach temperatury rozwinęło się tylko 19% larw.

W próbach kału przetrzymywanych w termostacie i zamrażarce pierwsze larwy inwazyjne zauważono w 48 dniu. Występowały one w niewielkiej liczbie i należały do *Haemonchus contortus* i *Ostertagia circumcincta*. W porównaniu z próbami kontrolnymi stanowiły one 3% rozwiniętych larw (tab. 1).

Z badań przeprowadzonych przez innych autorów wynika, że rozwój larw zależał głównie od temperatury (19, 23). Hodowla larw prowadzona w środowisku wodnym, suchym i wilgotnym kale wykazała, że przy stałej temperaturze różnice były niewielkie. O jeden dzień wcześniej wylęgały się larwy w środowisku wodnym. Natomiast w kale suchym i wilgotnym różnicy nie odnotowano. Proces rozwoju larw ulegał całkowicie zahamowaniu, jeśli temperatura przez cały okres hodowli była poniżej 10°C. Ustalono, że optymalne warunki do rozwoju larw istnieją w zakresie temperatury 24–26°C.

Wyniki badań dotyczące przeżywania inwazyjnych larw w różnych warunkach temperatury przedstawiono w tab. 2. W kale owczym przetrzymywanym w temperaturze pokojowej (okres lata) żywe larwy stwierdzano jeszcze w 35. dniu. Były to larwy *Haemonchus contortus*, *Ostertagia circumcincta* i *Trichostrongylus sp.* W porównaniu do badań wyjściowych stanowiły one 13,5% żywych larw. Badania przeprowadzone w 42. dniu wykazały, że wszystkie larwy były już martwe. W próbie kału przetrzymywanej w lodówce niewielką ilość (4,6%) żywych larw stwierdzono w 85. dniu (*Haemonchus contortus* i *Ostertagia circumcincta*). Najdłużej przeżywały larwy przetrzymywane w zamrażarce, bo w 180. dniu stwierdzono jeszcze kilka żywych larw *Ostertagia circumcincta* (0,7%).

Podobnie przedstawiają się wyniki badań laboratoryjnych innych autorów (19, 23). W zakresie temperatury 5–10°C larwy inwazyjne utrzymywały się przy życiu 40–60 dni. Natomiast w wyższych temperaturach zamieranie larw następowało szybciej i tak w temperaturze 35°C żyły tylko 6 dni. Proces zamierania larw związany jest z wyczerpaniem się substancji odżywczych zawartych w komórkach jelitowych oraz z utratą wody z organizmu larwy. W wysokiej temperaturze i dobrze nawilżonym środowisku larwy bardzo energicznie się poruszają, stąd następuje szybkie wyczerpanie się substancji odżywczych. Ponadto wysoka temperatura sprzyja wyparowywaniu wody ze środowiska, jak i ciała larwy. Natomiast w miarę obniżania się temperatury ruch larw staje się mniej intensywny, aż w pewnym momencie całkowicie ustaje. Wówczas larwa przybiera formę skręconej spirali i popada w stan anabiozy.

Z wielu badań przeprowadzonych w środowisku naturalnym bytowania larw, tj. na pastwisku, wynika, że w tej postaci

mogą one przetrwać chłodną porę roku (nie tracąc zdolności przez wiele miesięcy do zarażenia zwierząt 4, 5, 6, 8, 9, 10, 11, 15, 16, 25).

Badania własne, pomimo że zostały wykonane w warunkach laboratoryjnych, dostarczyły wielu cennych informacji dotyczących zachowania się larw w zmiennych warunkach temperatury. Podobne wahania temperatury w ciągu doby występują w naszym klimacie w okresie wiosny i jesieni.

### Wnioski

1. Duże różnice dobowe temperatury nie hamują procesu rozwoju larw nicieni żołądkowo-jelitowych owiec, lecz ograniczają w wysokim stopniu ich liczbę.

2. Długość życia inwazyjnych larw nicieni żołądkowo-jelitowych owiec zależy od temperatury i jest odwrotnie proporcjonalna do jej wysokości.

### Piśmiennictwo

1. Andrasko H., Pacenowsky J., Krupicer J., Bircak A.: Folia vet. 22, 107, 1978.
2. Bezubik A., Stankiewicz M., Chomicz L.: Acta parasit. pol. 18, 299, 1970.
3. Bezubik B., Borowik M. M., Pucilowska A.: Acta parasit. pol. 20, 131, 1972.
4. Boag B., Thomas R. J.: Res. vet. Sci., 11, 380, 1970.
5. Boag B., Thomas R. J.: Res. vet. Sci., 12, 132, 1971.
6. Boag B., Thomas R. J.: Res. vet. Sci., 22, 62, 1977.
7. Chowaniec W., Ramisz A., Paciejewski S., Urban E.: Medycyna Wet. 39, 350, 1983.
8. Crofton H. D.: Parasitology 39, 247, 1949.
9. Crofton H. D.: Parasitology 44, 313, 1954.
10. Crofton H. D.: Parasitology 45, 99, 1955.
11. Crofton H. D.: Parasitology 48, 243, 1958.
12. Dikmans G., Andrews J. S.: Trans. Amer. Micr. Soc. 52, 1, 1933.
13. Dikmans G., Andrews J. S.: J. Parasitol. 20, 1007, 1933.
14. Dinaburg A. G.: Am. J. vet. Res. 6, 257, 1954.
15. Donald A. D., Waller P. J.: Int. J. Parasit., 3, 219, 1973.
16. Donald A., Morley F., Waller P., Axesen A., Donnelly J.: Aust. J. agric. Res., 29, 180, 1978.
17. Furmaga S., Gundlach J. L., Sazdikowski A., Paciejewski S.: Medycyna Wet. 38, 269, 1982.
18. Hulińska I.: Veterinarstvi 17, 409, 1967.
19. Narain B.: Parasitology 55, 551, 1965.
20. Paciejewski S.: Owczarstwo 11, 10, 1987.
21. Patek S.: Acta parasit. pol. 4, 107, 1956.
22. Ramisz A., Chowaniec W., Ciurus J., Drożdż A., Paciejewski S., Urban E.: Owczarstwo 4, 20, 1980.
23. Rose J. H.: Parasitology 56, 679, 1966.
24. Wertejuk M.: Acta parasitol. pol. 2, 19, 361, 1955.
25. Wertejuk M.: Acta parasit. pol. 7, 315, 1959.
26. Żarnowski E.: Fragm. Faun. Mus. Zool. Polon 6, 3, 35, 1949.

Adres autora: dr Stanisław Paciejewski, ul. Reymonta 20, 24-100 Puławy

**RACHMAN W. A.: Wpływ subklinicznych zarażeń *Eimeria sp.* u kóz w tropikach na następowe zarażenie *Haemonchus contortus* izolowanego od kóz. (Effect of subclinical *Eimeria species* infections in tropical goats subsequently challenged with caprine *Haemonchus contortus*). Vet. Rec. 134, 235-237, 1994 (10)**

Nadal nie wyjaśniono wpływu jednoczesnego zarażenia kokcydiami i nicieniami u małych przeżuwaczy. Badania przeprowadzono na 14 kózletach w wieku około 4 tyg. zarażonych na drodze naturalnej oocystami *Eimeria* w ilości 500 tys. Jedną grupę leczono amprolium (50 mg/kg dwa razy w tygodniu przez 2 tyg.). Następnie po 6 dniach wszystkie sztuki zarażono 5000 larw *Haemonchus contortus* L3 izolowanych od kóz. Larwy zakażone pasożyta podano bezpośrednio do żywca. Kózletka nadkażone *Eimeria* wydalaly z kałem większe ilości jaj *H. contortus* oraz wykazywały mniejsze przyrosty masy ciała w porównaniu do kózlet wolnych od zarażenia *Eimeria*.