



2004-2006 m. Bendrojo programavimo dokumento 2 prioriteto „Žmogiškųjų išteklių plėtra“ 4 priemonė „Mokymosi visą gyvenimą sąlygų plėtra“

Projekto sutarties numeris: **ESF/2004/2.4.0-K01-160/SUT-261**

Projekto pavadinimas: **Inovatyvūs mokymosi metodai ir naujausios technologijos gamtos mokslų bakalauro rengimui**

BIO 415. GYVŪNŲ EKOLOGIJA

Laboratorinis darbas

EKTOPARAZITAI IR ENDOPARAZITAI ĮVAIRIUOSE

ŠEIMININKUOSE (žuvyse, paukščiuose, žinduoliuose)

Teorinė dalis:

Parazitais vadinami visi tie organizmai, kurie gyvena kito gyvo organizmo, vadinamojo šeimininko, kūno paviršiuje ar jo viduje, maitinasi jo krauju ar kitomis jo kūno medžiagomis ir dauginasi. Aplamai parazitai gali būti tiek gyvūnines, tiek bakterinės, tiek ir augalines kilmės ir parazituoti tiek augaluose, tiek ir gyvūnuose.

Visi parazitai skirstomi į dvi pagrindines grupes:

- I. **Ektoparazitai**, kurie parazituoja gyvūno kūno paviršiuje.
- II. **Endoparazitai**, kurie parazituoja kūno viduje.

Ektoparazitai dar skirstomi į **laikinus ir nuolatinius**. Pirmieji, užpuolę savo šeimininką, prisisiurbę maisto medžiagų, jį apleidžia ir gyvena nuošaliai, kol vėl išalksta, o nuolatiniai, kartą susiradę sau šeimininką, jo nepalieka visą laiką.

Parazitas gyvena savo šeimininko sąskaitą. Iš jo ima visa, kas jo gyvenimui reikalinga, o šeimininkui palieka tik savo metabolizmo atmatas, įvairius toksinus ir kitas nuodingas medžiagas. Be to, šeimininką parazitai erzina savo kūno judesiais: ardo jo audinius ir kenkia jam įvairiais būdais.

Visi parazitai, su kuriuos mes nagrinėsime, priklauso įvairiems zoologiniams tipams.

I. Subkaralystė Vienaląščiai (Protozoa). Maži vienaląščiai organizmai. Dauguma jų yra laisvai gyvenantieji organizmai, bet jų tarpe yra kelios tikrų parazitų rūšys.

Tipas. Sarkodiniai (Sarcodina)

Tipas. Žiuželiniai (Mastigophora)

Tipas Sporagyviai (Sporozoa)

Tipas. Blakstienotieji (Ciliophora)

II. Subkaralystė Daugialąščiai (Metazoa)

Tipas. **Plokščiosios kirmėlės (Plathelminthes).** Iš jų tik kelios rūšys yra laisvai gyvenančios, o dauguma - parazitai. Šiam tipui priklausančių klasių Siurbikės (Trematoda), ir Kaspinočių (Cestoda) visi atstovai yra endoparazitai, Monogenėjų (Monogenea) – dažniausiai ektoparazitai, rečiau endoparazitai.

Tipas. **Apvaliosios kirmėlės (Nemathelminthes).** Nematodų (**Nematoda**) ir **Acanthocephala** klasių atstovai – augalų ir gyvūnų parazitai. Pirmųjų tarpe yra labai daug parazitinių rūšių, kurios daro didelę žalą žmonėms, o antrųjų tarpe yra, palyginti, nedaug rūšių (iš viso apie 100), visos jos parazitinės ir gali sudaryti tiek žmogui, tiek gyvulių ūkiui daug žalos.

Tipas. **Žieduotosios kirmėlės (Annelida).** Tai daugiausia ne parazitai, bet yra kelios rūšys iš Hirudined ir Oligochaeta klasių, kurios gyvena parazitinių būdu.

Tipas. **Nariuotakojai (Arthropoda).** Labai daug parazitinių rūšių priklauso vabzdžiams ir erkės, kurios įvairiais būdais gali parazituoti tiek gyvūnus, tiek ir žmones.

Klasė. Vėžiagyviai (*Crustacea*)

Klasė. Vabzdžiai (*Insecta*)

Klasė. Voragyviai (*Arachnoidea*)

Bendros taisyklės tyrinėjant gyvūnų ektoparazitų ir endoparazitų

Svarbiausioji aparatūra, kuri reikalinga šiame darbe, yra

1) paprastas biologinis mikroskopas, vienos ar kitos rūšies paprastas didinamasis stiklas, pavyzdžiui, lupa, binokuliaras ir pan.; 2) du pincetai, geriau su smailiais galais, 3) vieną ar daugiau skalpelių, žirklių, keletą skrodimų adatų, ir 4) nemažai įvairaus didumo buteliukų bei mėgintuvėlių, į kuriuos būtų galima sudėti

tiriamuosius parazitus.

Iš chemikalų svarbu turėti 95° spirito, formalino, glicerino ir kitų paprastai visose laboratorijose esančių chemikalų, neužmirštant paprastos druskos, muilo, rankšluosčio.

Atliekant bandymus su parazitais, reikia **laikytis švaros**. Juos rinkti ir kilnoti reikia tik su pincetais, šepetėliu ar pipete. Visuomet žiūrėti, kad rankos būtų švarios, kad prie jų neprikibtų parazitų kiaušiniai, ir tyrinėtojas pats savęs neapkręstų. Prisilaikant švaros ir tvarkos, parazitus tyrinėti nėra jokio pavojaus.

Ieškant parazitų gyvame organizme, reikia **peržiūrėti** ne tik visą odą, plaukus ir plunksnas, bet ir ausis, akis, nosį, kuriose dažnai gali būti ne tik ektoparazitų, bet ir endoparazitų. Po to galima pradėti skrosti. Tai reikia atlikti kiek galima greičiau po gyvulio mirties, nes ektoparazitai, ilgai lavonui pastovėjus, išsivaikščioja, o endoparazitų dauguma susivirškina ar kitaip pranyksta.

Ypatingai reikia skubėti skrosti paukščius, nes ir labai daug parazitų turinčio paukščio virškinimo sistemoje, kelioms valandoms praėjus, dažnai randamos tik parazitų liekanos, pavyzdžiui, cestodų kabliai ir pan. Negalint tuojau po mirties lavono skrosti, reikia kūno ertmę ir žarnas užpilti vienos ar kitos rūšies fiksuojamąja medžiaga, (10% formalino skiediniu ar 40-70% spirito skiediniu), o mažus gyvūnus kaip peles ir paukščius, perpjovus kūną, sumerkti į tą pačią fiksuojamąją medžiagą. Stambesnių gyvulių į fiksuojamąją medžiagą sumerkti atskirus organus ar jų dalis. Taip fiksuoti jie gali išbūti ilgai nesugedę. Tačiau, nebaigus tyrinėjimo, geriau jų ilgai taip nepalikti.

Skrodžiant lavoną, negalima palikti nė vienos neperžiūrėtos kūno dalies. Reikia peržiūrėti ir patikrinti kiekvieną spuogelį, cistą ar kitą įtariamą vietą, pasidėjus po mikroskopų ar su kitu didinančiu stiklu, jei negalima jų įžiūrėti paprasta akimi. Visa, kas tik panašu į parazitą, reikia išaiškinti ir suskaičiuoti. Stambesnius parazitus iš plaučių, kepenų, širdies, inkstų, šlapimo pūslės ir kitų organų išrinkti, suskaičiuoti ir apibūdinus sudėti į atskirus indelius. Plaučiuose kartais randama įvairių parazitų, lervų. Norint jas surinkti, reikia plaučius vandenyje sudraskyti į gabalėlius ir čia pat tas lervas surinkti.

Reikia ištirti atskirai visos **virškinimo sistemos pagrindines dalis**. Kad geriau būtų galima tai padaryti, visi virškinimo organai suskirstomi į dalis, ir kiekviena iš jų tyrinėjama atskirai. Žarnos supjaustomos ir jų pagrindines dalis ir tiriamos atskirai.

Pirmiausia iš visų dalių išpilamas jų turinys ir kiekvienos dalies jis tiriamas atskirai. Po to kiekviena dalis išverčiama epiteliu į viršų arba perpjaunama, ir tiriamas

epitelis. Kai kurie smulkūs parazitai gali būti įsiskverbę į žarnų sienų liaukas; norint juos surinkti, reikia nuskusti epitelį ir tas skutenas iširti mikroskopu.

Atskiros parazitų grupės reikalauja skirtingų tyrinėjimo metodų, kuriais patogiau jas apibūdinti. Tyrinėjant **pirmuonis**, patogiau juos tyrinėti **natyviame** preparate, tai yra be jokių kitų priemonių. Dažnai tokio metodo ir pakanka. Tiriamosios medžiagos gabalėlis atskiedžiamas fiziologiniu tirpalu ar net paprastu vandentiekio vandeniu, atsargiai išmaišoma ir, uždėjus dengiamąjį stiklėlį tiriama po mikroskopu.

Kraujo pirmuonims tyrinėti paprastai daromi kraujo preparatai - **tepinėliai**; jie dažomi Giemso būdu ir parazitai ieškomi su stipriausiu padidiniu. Tyrinėjant žarnų, kepenų ir kitų organų pirmuonis, iš jų daromi tepinėliai, o kartais jie auginami jiems tinkamose kultūrose.

Apibūdinant **didesnius parazitus**, ypač **kirmėles**, kurių vidaus organai sunkiai permatomi ar visai nepermatomi, reikia juos praskaidrinti. Paprastai tai daroma arba histologiniais metodais, arba vartojant pieno rūgštį, ypač tiriant nematodas.

Apibūdinant **vabzdžius**, **erkes** ir **kitus nariuotakojus** (Arthropoda), kai kurių sunkumų sudaro jų kietas chitininis skeletas, kuris paprastai yra nepermatomas ir neleidžia matyti vidaus organų. Jei tiriamasis parazitas didelis ir jo skeletas storas, jį galima praskaidrinti keletą valandų išmirkius 10% **kalio šarmo** tirpale. Po to parazitas dedamas ant objektyvinio stiklelio ir užpilamas glicerino lašeliu. Taip galima jį tyrinėti mikroskopu ar paprastu didinamuoju stiklu.

Norint apibūdinti bet kurį parazitą, pirmiausia reikia žinoti: *kokiame gyvūne ir kuriame jo organe* jis yra rastas. Reikia, kad parazitas būtų *sveikas, nesužeistas* ir, jei galima, kad jų būtų *daugiau kaip vienas* ir kad jų tarpe būtų *patinų* ir *patelių*. Ypač tai svarbu apibūdinant nematodus, kuriuos apibūdinant, patinai turi labai daug reikšmės.

Labai svarbu apibūdinti ne tik parazitus, bet ir jų *kiaušinius* o kartais ir parazitų jauniklius, *lervas*. Ypač tai svarbu dėl to, kad tai galima padaryti šeimininkui dar gyvam esant, kai parazitai dar tebegyvena savo šeimininko viduje. Tai dažnai padeda parazitais nusikratyti ir tokiu būdu jų šeimininką išgydyti.

Tinkamai apibūdinus kiaušinius ir lervas, jei ne tikrai, tai bent apytikriai, bus galima žinoti ir apie tuos kirminus ar kitus parazitus, kurie tuos kiaušinius padėjo. Tyrinėjant išmatas, galima, palyginti, tiksliai susekti, kokie yra parazitai dar gyvame šeimininko kūne. Parazitų ieškojimas išmatose vadinamas **koprologiniu tyrimu**. Jei ieškomi tik parazitų kiaušiniai, tai vadinama *ovoskopija*, arba ovoskopiniu koprologiniu tyrimu, o jei ieškoma lervų, - *lervoskopija*.

LABORATORINIO DARBO : 1. Parazitų nustatymas smulkiuose graužikuose

Eiga

Smulkieji graužikai yra daugelio ektoparazitų ir endoparazitų šeimininkai. Apibendrinti pelinių graužikų helmintų faunos tyrimai ir nustatyta, kad Lietuvoje jų sudaro 73 helmintų rūšys, t. y. 19 kaspinuočių, 24 siurbikių ir 30 apvaliųjų kirmėlių, nors tai nepilnai atspindi realų rūšių skaičių, nes ne visi helmintai apibūdinti iki rūšies (Mažeika, 1997). Kai kurie smulkiųjų graužikų endoparazitai pristatyti lentelėje:

<u>Rūšys</u>	<u>Grupė</u>	<u>Agentai</u>
Pelės, žiurkės	Endoparazitai	<i>Syphacia sp.</i> (<i>Nematodes</i>)
Pelės	Endoparazitai	<i>Aspicularis</i> (<i>Nematodes</i>)
Pelės, žiurkės	Endoparazitai	<i>Hymenolepis diminuta</i> (<i>Cestoda</i> – žiurkinis kaspinuotis)

1995–2000 m. atlikti pelinių graužikų sarkosporidijų tyrimai (Grikienienė, Mažeikytė, 2000).

Paskutiniai Lietuvos graužikų parazitologiniai tyrimai buvo atlikti prieš dešimtmetį (V.Mažeika, 1996), kai kurių rūšių - fragmentiškai (bebras) arba iš viso netyrinėti (voverė).

Vakarų Europoje atlikti tyrimai rodo, kad graužikai (*Apodemus flavicollis*, *A. agrarius*, *Microtus arvalis*, *M. agrestis*, *Clethrionomys glareolus*) yra vieni iš pagrindinių blusų ir iksodinių erkių pernešėjai ir bakterijų *Borrelia burgdorferi* ir *Anaplasma phagocytophila* gamtiniai rezervuariniai šeimininkai.

Darbo tikslai:

1. Nustatyti smulkiojo graužiko užsikrėtimą ektoparazitais
2. Nustatyti graužiko užsikrėtimą endoparazitais

Reagentai ir medžiagos:

1. 95°, 70° etanolio spiritas,
2. muilas,
3. rankšluostis,
4. vienkartinės pirštinės

Darbo priemonės:

1. Biologinis mikroskopas,
2. lupa, binokuliaras,
3. pincetai, geriau su smailiais galais,
4. skalpeliai,

5. žirklys

Metodika:

- Smulkieji graužikai sugaunami gyvagaudžiais spąstais. Graužikai dekapituojami ir iškart įdedami į polietilenuosius maišelius tam, kad ektoparazitai nepabėgtų. Nuo graužiko nurenkami visi rasti ektoparazitai (erkės, blusos).
- **Ektoparazitai** identifikuojami, nustatoma smulkiųjų graužikų rūšis, lytis, amžius.
- Atliekamas graužikų skrodimas ir ištiriamos visos virškinamojo trakto pagrindinės dalys: stemplė, skrandis, plonoji ir storoji žarnos, taip pat širdis, plaučiai, inkstai ir kepenys.
- Aptikti **endoparazitai** identifikuojami.
- Rezultatai surašomi į lentelę:

Graužiko rūšis	Sugavimo vieta	Graužiko amžius ir lytis	Ektoparazitai	Endoparazitai	
				taksonas	vieta organizme