

Zakład Parazytologii i Chorób Inwazyjnych
KATEDRA PARAZYTOLOGII I CHORÓB RYB



WYDZIAŁ
MEDYCYNY
WETERYNARYJNEJ

II konferencja naukowo - szkoleniowa
Parazytozy zwierząt - aktualne zagrożenia - nowe
rozwiązania terapeutycznie i profilaktyczne
CIECHANOWIEC 06-09 września 2021



MUZEUUM ROLNICTWA
IM. KS. KRZYSZTOFA KLUKA W CIECHANOWCU
INSTYTUCJA KULTURY WOJEWÓDZTWA PODLASKIEGO



Ministerstwo
Edukacji i Nauki

Dofinansowano z programu „Doskonała nauka” Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego”



KOMITET ORGANIZACYJNY:

Przewodniczący:

prof. dr hab. Krzysztof Tomczuk

Członkowie:

mgr Dorota Łapiak

mgr Anna Wiśniewska

dr hab. Jakub Gawor, prof. IP PAN

dr hab. Joanna Hildebrand prof.UW

dr Maria Studzińska

dr Marta Demkowska-Kutrzepa

dr Monika Roczeń-Karczmarz

dr Klaudiusz Szczepaniak

mgr inż. Artur Wiatr

KOMITET NAUKOWY:

prof. dr hab. Krzysztof Tomczuk

prof. dr hab. Anna Bogucka-Kocka

prof. dr hab. Tomasz Cencek

prof. dr hab. Rajmund Sokół

dr hab. Joanna Hildebrand prof.UW.

dr hab. Izabella Rząd prof.US

dr hab. Jakub Gawor, prof. IP PAN

dr hab. Mirosław Mariusz Michalski

dr hab. Rusłan Salamatin

dr hab. Jacek Karamon prof. PIWET

dr hab. Jacek Sroka prof. PIWET

dr Maria Studzińska

dr Marta Demkowska-Kutrzepa

dr Monika Roczeń-Karczmarz

dr Klaudiusz Szczepaniak

dr Maciej Klockiewicz



Ministerstwo
Edukacji i Nauki

Dofinansowano z programu „Doskonała nauka” Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego”



The feces contamination by Strongylidae eggs and 137Cs of the wild Przewalski's horses in the Chornobyl Exclusion Zone, Ukraine: preliminary study

Vitalii Kharchenko¹, Kateryna Slivinska¹, Daniel Klich², Mykola Lazarev³

¹ I. I. Schmalhausen Institute of Zoology, NAS of Ukraine, vul. B. Khmel'nitskogo 15, Kyiv, 01030, Ukraine; e-mail: vit@izan.kiev.ua

² Warsaw University of Life Sciences, Faculty of Animal Sciences, Department of Genetics and Animal Breeding, ul. Ciszewskiego 8, Warszawa, Poland

³ Ukrainian Institute of Agricultural Radiology (UIAR) of National University of Life and Environmental Sciences of the Ukraine, Mashinobudivnykiv Str.7, Chabany, Kyiv Region, 08162, Ukraine

Summary

Keywords: Przewalski's horse, parasites, Strongylidae, 137Cs, Chornobyl Exclusion Zone.

Introduction

In 1998-1999, first captive bred wild horses (n=21) were introduced to the Chornobyl Exclusion Zone (CEZ) from the Askania-Nova Biosphere Reserve in Ukraine for their breeding as well as protection of the areas damaged after human activities through the horse's grazing. At present, near 130 Przewalski's horses roam freely in the grasslands of CEZ [Slivinska et al. 2007, 2017]. Adaptation and survival of wild animals in natural conditions with constant chronic radiation exposure are influenced by various factors, including parasites (citation). For this reason, a parasitological survey has been conducted from the moment of introduction of horses into the CEZ. The monitoring showed that Przewalski's horses keep their typical biological features and high resistance to parasitic infections (citation). A substantial growth of the population was observed as well as good clinical health state of horses [Slivinska et al. 2004, 2006; Zvegintsova et al. 2008; Slivinska et al. 2020].

The higher susceptibility of hosts on parasites in the radiated environment previously studied [Morley 2012; Pelgunov 2005]. Revealed, that as the radiation load increases, the level of infection with parasites increases in rodents [Pelgunov 2005] and in birds [Schyhobalova, Paruzhynskaja 1963]. Moreover, a distinct effect of radiation on nematodes was stated in the definitive mammalian hosts, resulting in reduction of parasites [Ishii et al. 1986; Sazykina and Kryshev 2006], and an effect of mutation related to radiation was stated in this taxonomic group [Genchi et al. 1987; Schyhobalova, Paruzhynskaja 1963; 1968]. In former studies conducted by Slivinska et al. [2006] in 2004 year no influence of radiation on parasite infestation in Przewalski's horses were stated. However, horses studied in 2014-2018 of the feces contamination

by Strongylidae eggs and ^{137}Cs of the wild Przewalski's horses in the CEZ, Ukraine in current radiation level conditions.

Materials and Methods

Study Area

The CEZ is located c. 200 km N of Kiev, Ukraine (51.3°N; 30.005°E), 123 m above sea level. This zone covers an area of 2 600 km², and falls entirely within the Polesie Lowland, Russian Plain. Climate of the CEZ is humid, with relatively mild winter and warm summers. The mean annual temperature is 5-7°C. The mean temperature in July is 18°C (max. 32°C), while in January -6.1°C (min. -25°C). The annual precipitation ranges from 550 to 750 mm. The snow cover lasts on average c. 50 days per year. The mean depth of the snow cover is 12-13 cm [Chornobyl disaster, 1996].

The CEZ is fenced with metal nets. Along with c. 50 peasants are still living in the CEZ, only few other persons have constant access to this area. Before the nuclear disaster, the CEZ consists of farmlands with forest fragments. At present, c. 60% the area is covered with forests (50% of which is pine forest) and the remaining consists of abandoned arable grounds, meadows, pastures and human settlements.

Data collection

Samples of feces of wild Przewalski's horses were collected during field trips in 2019, March. During each trip survey was conducted using vehicles. During each survey the same method was used. When horses were sighted, they were observed with the aid of binoculars or telescope. The number of individuals was recorded in each group. External negative signs of parasitosis among the wild horses such as body condition (slim; fat; regular) and poor coat condition, were noted during the study. After the basic census horses were observed for longer time to the moment of excretion of feces of all or at least some of individuals. After the group moved to graze in the other part of the meadow the samples of feces were collected and recorded was the location with GPS receiver. The samples were cooled in portable refrigerator, transported to laboratory and stored in refrigerator at +3 Celsius degrees until analysis. In total, we have collected individual samples from 26 wild horses belonging to the five reproductive groups. Groups were located in two places of higher radiation level: Benjovka (group N4, 14 horses), Stari Shepelichi (group N5, over 3 horses), and lower radiation level: Korogod (group N1, 10 horses), Chernobyl (group N2, 9 horses), and Cherevach (group N3, 13 horses) (Fig.1).

Fecal Egg Counts

Fecal egg counts (FECs) were performed using the McMaster technique, with a sensitivity of 25 Eggs Per Gram feces (EPG) [Herd 1992]. Mean FEC (average number of EPG per infected animal) and prevalence (percentage of animals infected) were calculated for each horse individually, and assigned to either reproductive groups. A total of 26 horses from 5 reproductive groups were examined.

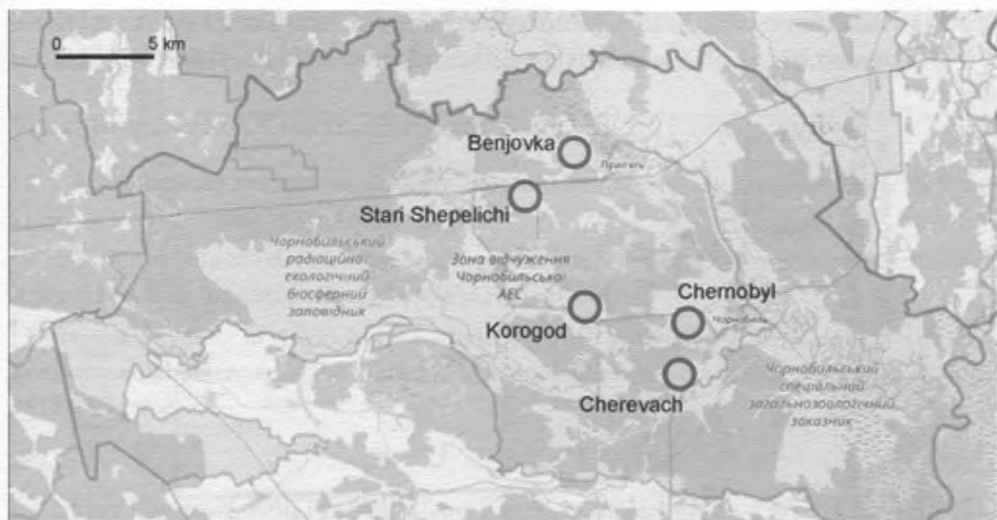


Figure 1. Location of the five reproductive groups of the wild Przewalski's horses in the Chernobyl Exclusion Zone during field study in 2019.

Data elaboration and statistics

To analyze the relation of Strongylidae infestation (fecal egg counts, EPG) and ^{137}Cs concentration in faecal samples we build regression model where faecal egg counts (EPG) was a dependent variable and ^{137}Cs concentration was an explanatory variable. In the model we did not divide the samples on age or sex group, because most of animals were not known regarding the sex and foals constituted a marginal percentage. The Curve Estimation procedure in SPSS software to find the most fit regression line basing on R^2 values, visual estimation of the curve and model assumptions.

Results

Nematode Strongylidae eggs were found in feces of wild Przewalski's horses. The prevalence of strongylids infections was 100 % in all observed groups of horses. The mean FEC of strongylids in observed groups of horses fluctuated between 58.3 ± 14.4 – $925 \pm 865.6 \pm 508.5$ EPG. In all analyzed samples the mean FEC of strongylids equaled 455.8 ± 431.1 EPG. Among the identified groups of horses, the infection increased in order N5 – N2 – N4 – N1 – N3 (58.3 ± 14.4 ; 233.3 ± 255.4 ; 317.9 ± 211 ; 365 ± 273.1 ; 865.6 ± 508.5 , respectively).

External negative signs of parasitosis among the wild horses has not been identified during the study.

Fecal egg count (EPG) presented statistically significant relation with ^{137}Cs concentration in feces ($F= 9.215$, $p=0.006$). The most fit line presented the inverse function, but with relative low R^2 value (0,286) indicating that the ^{137}Cs concentration explain less than 30% of the faecal egg count (EPG) variability. The faecal egg count

(EPG) was increasing with $1/^{137}\text{Cs}$ values increase in the feces (for $B1/^{137}\text{Cs} = 285576 \pm 94077 \text{ SE}$, $t=3,036$, $p=0,006$; Bintercept = $35,6 \pm 153 \text{ SE}$, $t=0,231$, $p=0,819$). (Fig.2).

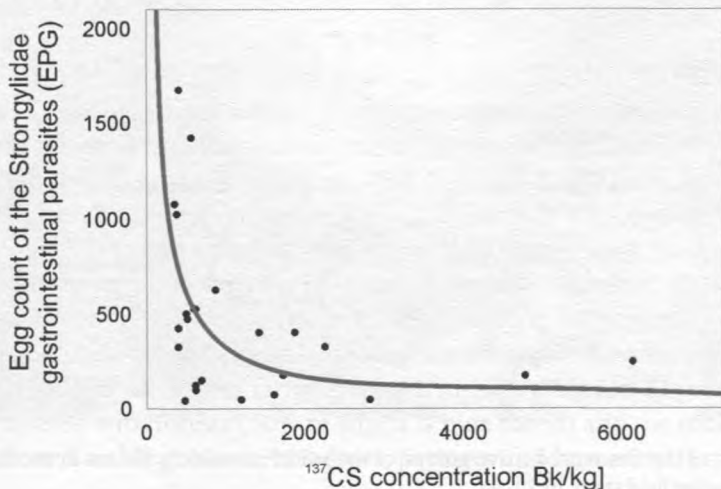


Figure 2. Relation of fecal egg count of the Strongylidae gastrointestinal parasites (EPG) and ^{137}Cs concentration in fecal samples.

Discussion

This work represents the first extensive analysis of a dependence of infections of strongylides gastrointestinal parasites in wild Przewalski's horses with regard to the radiation level of their faeces.

Radiation level was one of the factor influencing the strongylids infestation of Przewalski's horses within the CEZ. The lower infestation in higher radiation level is surprising in light of the numerous facts indicating higher susceptibility of hosts on parasites and in the radiated environment [Morley 2012; Pelgunov 2005]. As the radiation load increases, the level of infection with parasites increases in rodents [Pelgunov 2005] and in birds [Schyhobalova, Paruzhynskaja 1963]. At the same time, a recent publication on influence of radiation on parasite infestation in Przewalski's horses indicated no correlated effect [Slivinska et al. 2006]. In contrast, a distinct effect of radiation on nematodes was stated in the definitive mammalian hosts, resulting in reduction of parasites [Ishii et al. 1986, Sazykina and Kryshev 2006], and an effect of mutation related to radiation was stated in this taxonomic group [Genchi et al. 1987; Schyhobalova, Paruzhynskaja 1963; 1968].

Results obtained in the current study broaden the knowledge on existence of parasites systems in horses under chronicle radionuclides influence. This is also the first study that present drivers that can influence on the wild horses parasite infestation level in natural conditions.

Kontaminacja kału dzikich koni Przewalskiego jajami Strongylidae i 137Cs w Czarnobylskiej Strefie Wykluczenia na Ukrainie: badania wstępne

Vitalii Kharchenko¹, Kateryna Slivinska¹, Daniel Klich², Mykola Lazarev³

¹ I. I. Schmalhausen Institute of Zoology, NAS of Ukraine, vul. B. Khmel'nitskogo 15, Kyiv, 01030, Ukraine; e-mail: vit@izan.kiev.ua

² Warsaw University of Life Sciences, Faculty of Animal Sciences, Department of Genetics and Animal Breeding, ul. Ciszewskiego 8, Warszawa, Poland

³ Ukrainian Institute of Agricultural Radiology (UIAR) of National University of Life and Environmental Sciences of the Ukraine, Mashinobudivnykiv Str.7, Chabany, Kyiv Region, 08162, Ukraine

Słowa kluczowe: Koń Przewalskiego, pasożyty, Strongylidae, 137Cs, Czarnobylska Strefa Wykluczenia

Wstęp

W latach 1998-1999 pierwsze dzikie konie wyhodowane w niewoli (n=21) zostały wprowadzone do Czarnobylskiej Strefy Wykluczenia (CEZ) z Rezerwatu Biosfery Askania-Nova na Ukrainie w celu ich hodowli oraz ochrony obszarów zniszczonych działalnością człowieka poprzez wypas koni. Obecnie około 130 koni Przewalskiego swobodnie wędruje po murawach CEZ [Slivinska i in. 2007, 2017]. Na adaptację i przeżycie dzikich zwierząt w warunkach naturalnych przy stałej ekspozycji na promieniowanie chroniczne mają wpływ różne czynniki, w tym pasożyty (cytat). Z tego powodu badanie parazytologiczne prowadzone jest od momentu wprowadzenia koni do CEZ. Monitoring wykazał, że konie Przewalskiego zachowują swoje typowe cechy biologiczne i wysoką odporność na infekcje pasożytnicze (cytat). Zaobserwowano znaczny wzrost populacji oraz dobry stan kliniczny koni [Slivinska et al. 2004, 2006; Zvegintsova i in. 2008; Śliwińska i in. 2020].

Większa podatność żywicieli na pasożyty w napromieniowanym środowisku badanym wcześniej [Morley 2012; Pielgunow 2005]. Ujawniono, że wraz ze wzrostem obciążenia radiacyjnego poziom zarażenia pasożytami wzrasta u gryzoni [Pelgunov 2005] i ptaków [Schyobalova, Paruzhynskaja 1963]. Ponadto stwierdzono wyraźny wpływ promieniowania na nicienie u ssaków jako żywicieli ostatecznych, skutkujący redukcją pasożytów [Ishii et al. 1986; Sazykina i Kryshev 2006] w tej grupie taksonomicznej stwierdzono również efekt mutacji związany z promieniowaniem [Genchi et al. 1987; Schyobalova, Parużyńska 1963; 1968]. We wcześniejszych badaniach prowadzonych przez Slivinska et al. [2006] w 2004 roku nie stwierdzono wpływu promieniowania na pasożyty u koni Przewalskiego. Jednak konie przebadane z CEZ na Ukrainie w latach 2014-2018 na obecność w kale jaj *Strongylidae*

i ^{137}Cs wykazywały wyższy stopień zanieczyszczenia jajami w obecnych warunkach poziomu promieniowania.

Materiały i metody

Zakres badań

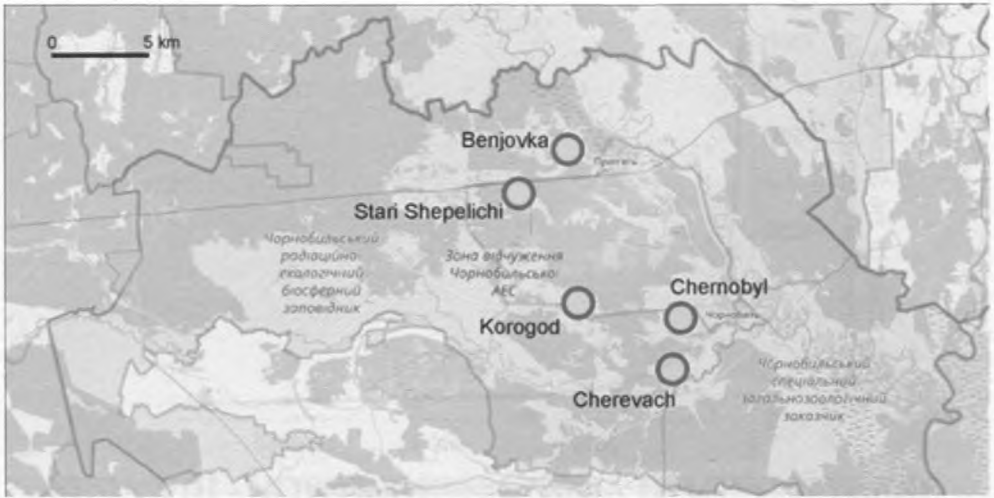
CEZ znajduje się ok. 15 tys. 200 km na północ od Kijowa ($51,3^{\circ}\text{N}$; $30,005^{\circ}\text{E}$), 123 m n.p.m. Strefa ta obejmuje obszar 2600 km² i w całości należy do Niziny Poleskiej, Niziny Rosyjskiej. Klimat CEZ jest wilgotny, ze stosunkowo łagodną zimą i ciepłym latem. Średnia roczna temperatura wynosi $5-7^{\circ}\text{C}$. Średnia temperatura w lipcu to 18°C (maks. 32°C), natomiast w styczniu $-6,1^{\circ}\text{C}$ (min. -25°C). Roczne opady wahają się od 550 do 750 mm. Pokrywa śnieżna trwa średnio ok. godz. 50 dni w roku. Średnia głębokość pokrywy śnieżnej to 12-13 cm [Katastrofa czarnobylska, 1996]. CEZ jest ogrodzony metalowymi siatkami. W CEZ nadal mieszka ok 50 chłopów, ale tylko nieliczni mają stały dostęp do tego obszaru. Przed katastrofą jądrową CEZ składa się z pól uprawnych z fragmentami lasów. Obecnie ok. 60% powierzchni zajmują lasy (50% to lasy sosnowe), a pozostałą część stanowią opuszczone grunty orne, łąki, pastwiska i osiedla ludzkie.

Zbieranie danych

Próbki kału dzikich koni Przewalskiego pobrano podczas wycieczek terenowych w marcu 2019 roku. Podczas każdego wyjazdu używano pojazdów. Podczas każdego badania stosowano tę samą metodę. Kiedy konie były widziane, były obserwowane za pomocą lornetki lub teleskopu. W każdej grupie zarejestrowano liczbę osobników. Podczas badania zaobserwowano zewnętrzne negatywne objawy pasożytnictwa wśród dzikich koni, takie jak kondycja ciała (szczupła, otyła, regularna) i słaba kondycja sierści. Po spisie podstawowym konie obserwowano przez dłuższy czas do momentu wydalenia kału wszystkich lub przynajmniej części osobników. Po przeniesieniu grupy na pastwiska w innej części łąki pobrano próbki kału i zarejestrowano lokalizację za pomocą odbiornika GPS. Próbkę schładzano w przenośnej lodówce, transportowano do laboratorium i przechowywano w lodówce w temperaturze $+3$ stopni Celsjusza do czasu analizy. W sumie pobraliśmy indywidualne próbki od 26 dzikich koni należących do pięciu grup reprodukcyjnych. Grupy znajdowały się w dwóch miejscach o wyższym napromieniowaniu: Benjovka (grupa N4, 14 koni), Stari Shepelichi (grupa N5, powyżej 3 koni) i niższym napromieniowaniu: Korogod (grupa N1, 10 koni), Czarnobyl (grupa N2, 9 koni) i Cherevach (grupa N3, 13 koni) (ryc. 1).

Liczba jaj w kale

Zliczanie jaj w kale (FEC) przeprowadzono przy użyciu techniki McMaster, z czułością 25 jaj na gram kału (EPG) [Herd 1992]. Średnie FEC (średnia liczba EPG na zarazone zwierzę) i częstość występowania (odsetek zakażonych zwierząt) obliczono dla każdego konia indywidualnie i przypisano do którejkolwiek z grup reprodukcyjnych. Przebadano łącznie 26 koni z 5 grup rozrodczych.



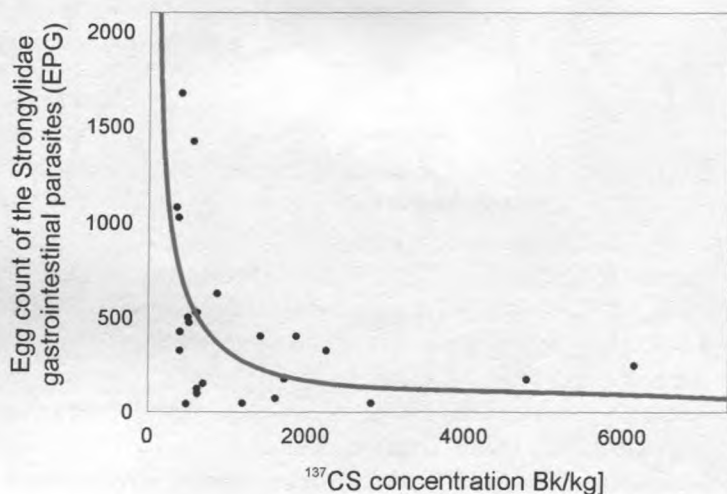
Rycina 1. Lokalizacja pięciu grup rozrodczych dzikich koni Przewalskiego w Czarnobylskiej Strefie Wykluczenia podczas badań terenowych w 2019 roku.

Opracowanie danych i statystyki

Aby przeanalizować związek inwazji Strongylidae (liczba jaj w kale, EPG) i stężenie ^{137}Cs w próbkach kału, zbudowaliśmy model regresji, w którym liczba jaj w kale (EPG) była zmienną zależną, a stężenie ^{137}Cs było zmienną objaśniającą. W modelu nie dzielono prób na grupę wiekową lub płeć, ponieważ większość zwierząt, których płeć nie była znana, a źrebięta stanowiły marginalny odsetek. Procedura Curve Estimation w oprogramowaniu SPSS w celu znalezienia najbardziej dopasowanej linii regresji na podstawie wartości R^2 , wizualnej oceny krzywej i założeń modelu.

Wyniki

Jaja nicieni Strongylidae znalezione w kale dzikich koni Przewalskiego. We wszystkich obserwowanych grupach koni częstość występowania inwazji słupekowcami wynosiła 100%. Średnie FEC słupekowców w obserwowanych grupach koni wahały się między $58,3 \pm 14,4$ – $925 \pm 865,6 \pm 508,5$ EPG. We wszystkich analizowanych próbach średni FEC słupekowców wynosił $455,8 \pm 431,1$ EPG. Wśród zidentyfikowanych grup koni inwazja wzrastała w kolejności: N5 – N2 – N4 – N1 – N3 (odpowiednio $58,3 \pm 14,4$; $233,3 \pm 255,4$; $317,9 \pm 211$; $365 \pm 273,1$; $865,6 \pm 508,5$). Podczas badania nie stwierdzono objawów zewnętrznych inwazji wśród dzikich koni. Liczba jaj w kale (EPG) wykazała istotną statystycznie zależność ze stężeniem ^{137}Cs w kale ($F=9,215$, $p=0,006$). Najbardziej dopasowana linia przedstawiała funkcję odwrotną, ale ze stosunkowo niską wartością R^2 (0,286) wskazującą, że stężenie ^{137}Cs wyjaśnia mniej niż 30% zmienności liczby jaj w kale (EPG). Liczba jaj w kale (EPG) wzrastała wraz ze wzrostem wartości $1/^{137}\text{Cs}$ w kale (dla $B1/^{137}\text{Cs} = 285576 \pm 94077$ SE, $t=3036$, $p=0,006$; Bintercept = $35,6 \pm 153$ SE, $t=0,231$, $p=0,819$). (Rys.2).



Rycina 2. Zależność liczby jaj w kale pasożytów żołądkowo-jelitowych Strongylidae (EPG) i stężenia ^{137}Cs w próbkach kału.

Dyskusja

Praca ta jest pierwszą obszerną analizą zależności inwazji pasożytów przewodu pokarmowego u dzikich koni Przewalskiego od poziomu napromieniowania ich kału. Jednym z czynników wpływających na zarażenie koni Przewalskiego był poziom promieniowania Cs. Niższa infestacja inwazji przy wyższym poziomie promieniowania jest zaskakująca w świetle licznych doniesień wskazujących na wyższą podatność żywicieli na pasożyty w napromieniowanym środowisku [Morley 2012; Pielgunow 2005]. Wraz ze wzrostem obciążenia radiacyjnego wzrasta poziom zarażenia pasożytami u gryzoni [Pelgunov 2005] i ptaków [Schyhobalova, Paruzhynskaja 1963]. Jednocześnie niedawna publikacja na temat wpływu promieniowania na inwazję pasożytów u koni Przewalskiego nie wykazała skorelowanego efektu [Slivinska i in. 2006]. Natomiast, stwierdzono wyraźny wpływ promieniowania na nicienie u różnych ssaków jako żywicieli ostatecznych, skutkujący redukcją pasożytów [Ishii et al. 1986, Sazykina i Kryshev 2006], przy czym tej grupie taksonomicznej stwierdzono efekt mutacji związanej z promieniowaniem [Genchi et al. 1987; Schyhobalova, Paruzhynskaja 1963; 1968]. Wyniki uzyskane w niniejszym badaniu poszerzają wiedzę na temat istnienia populacji pasożytów u koni narażonych na długotrwały wpływ izotopów pierwiastków promieniotwórczych. Jest to również pierwsze badanie, które przedstawia wpływ czynników na poziom zarażenia dzikich koni pasożytami w warunkach naturalnych.