

Reproducerea “in vitro” a ciclului evolutiv la căpușa *Dermacentor reticulatus* (Fabricius 1794)

C. MAGDAȘ, V. COZMA, A. MUREȘAN, Maria MITSIADI

Facultatea de Medicină Veterinară Cluj-Napoca

Introducere

Căpușele *Ixodidae* sunt acarieni caracterizați prin viață ectoparazitara temporara, obligatorie, prin mod de hrănire hematofag, fiind libere în mediul exterior. Importanța epidemiologică majoră a căpușelor se datorează rolului de gazde și vectori ai hemosporidiilor și ai altor agenți virali, bacterieni, micotici la om și animale (Șuteu și Cozma, 1998).

Ciclul evolutiv al ixodidelor se caracterizează prin alternanța fazelor parazitare – pe corpul animalelor – cu cele libere, în biotopi diferiți din mediul exterior. Fazele de dezvoltare sunt: ou, larvă, nimfă și adulți (Șuteu, 1992). Ciclul evolutiv integral se poate realiza într-un interval de timp extrem de variabil, în funcție de factorii ecologici, endogeni și arealul geografic. La căpușele cu o singură gazdă, durata este mai scurtă, de 2-3 luni, iar la celelalte poate ajunge la 2-3 ani (Bourdeau, 1993).

Parazitismul cu *Dermacentor reticulatus* are un caracter bifazal, cu o curbă ridicată în primăvară timpuriu, urmată de a doua în toamnă, după care unele exemplare pot rămâne pe animale în timpul stabulației (Cernăianu, 1957).

În lucrarea de față ne-am propus a studia reproducerea *in vitro* a ciclului evolutiv la *Dermacentor reticulatus* și influența temperaturii asupra dinamicii biologiei căpușei.

Materiale și metode

Cercetările privind reproducerea *in vitro* a ciclului evolutiv al căpușei *Dermacentor reticulatus* au fost efectuate în perioada martie-iunie 2002, în cadrul Disciplinei de Boli Parazitare – Facultatea de Medicină Veterinară Cluj-Napoca. În acest scop am folosit eprubete

de 18 cm lungime și 1,7 cm diametru. În aceste eprubete s-au introdus:

- un strat de vată cu înălțimea de 2 cm care a fost îmbibat cu apă, aproximativ 2 ml;
- un strat de vată uscată, împins cu o baghetă de sticlă astfel încât între cele 2 straturi de vată să existe un mic spațiu;
- bucată de hârtie de filtru cu dimensiunea de 10/1,5 cm, servind ca loc de odihnă pentru căpușe și totodată suportul pe care acestea vor depune ouăle;
- un tampon de vată ce va acoperi orificiul tubului.

În experiment au fost utilizate 20 femele hrănite de *Dermacentor reticulatus*, recoltate de la ovine provenite dintr-o fermă particulară din localitatea Ciurila (jud. Cluj). Pe corpul animalelor căpușele erau fixate în regiunile: sternală, axilară, abdominală inferioară și cervicală inferioară. Căpușele au fost repartizate câte una în fiecare eprubetă. Zece eprubete au fost menținute la temperatura laboratorului (aproximativ 20°C), iar celelalte zece au fost introduse la termostat, respectiv cinci eprubete la temperatura de 27°C și cinci eprubete la 37°C, observându-se influența temperaturii asupra evoluției.

În scopul hrănirii larvelor s-au folosit trei șoriceii albi, iar pentru hrănirea nimfelor un cobai. Atât șoriceii cât și cobaiul au fost introduși în cutii de sticlă, pe așternut de rumeguș. Pentru a facilita fixarea căpușelor, șoriceii și cobaiul au fost tunși pe o suprafață de 4 cm², în zona dorsală. Cutiile au fost introduse în tăvi cu apă, pentru a se evita răspândirea căpușelor în laborator. Atât larvele cât și nimfele hrănite, după recoltare, au fost repartizate în eprubete menținute la temperatura

laboratorului, iar altele introduse la termostat la 27° și respectiv 37°C.

Pe durata a 86 zile s-a studiat morfologia și durata fiecărui stadiu evolutiv.

Rezultate și discuții

O parte din femelele de *Dermacentor reticulatus* repartizate în eprubete, atât cele ținute la temperatura laboratorului cât și cele introduse la termostat, au început pontă după trei zile (20%), iar pe parcursul a 7 zile a pontat întregul lot. Media duratei ponte a fost de 7 zile pentru căpușele ținute la temperatura laboratorului, de 4 zile pentru cele introduse la termostat, la temperatura de 27°C și 3 zile pentru cele de la 37°C. În cazul căpușelor menținute la temperatura de 37°C s-a observat că numărul ouălor depuse a fost mult inferior comparativ cu numărul ouălor depuse la temperatura laboratorului și la 27°C.

Diferiți autori apreciază că durata ponte poate varia între una și șase săptămâni (Șuteu și Cozma, 1998; Sauer și Hair, 1986).

Eclozionarea larvelor a început după 5-6 zile în cazul ouălor introduse la 27°C, finalizându-se în circa 2 zile, procentul de ecloziune fiind de peste 90%. În cazul ouălor introduse la 37°C eclozionarea a început după 5-6 zile, însă procentul de ecloziune a fost de circa 30%, larvele fiind neviabile. Eclozionarea larvelor în cazul eprubetelor menținute la temperatura laboratorului (20°C) a avut loc la 28-33 de zile după depunerea ouălor, procentul de ecloziune fiind între 80-90%. Două dintre eprubetele menținute la temperatura laboratorului, după 15 zile de la depunerea ouălor, au fost introduse la 27°C. După 5 zile, 90% dintre larve au eclozionat.

Referitor la aspectul larvelor după ecloziune, s-au observat următoarele: inițial larva a avut formă rotundă și culoare gălbuie, prezenta scutul dorsal pe jumătate din suprafață, rostrumul având aceleași piese ca și adultul. Are trei perechi de membre prevăzute cu gheare și ambulacre, prima mai lungă, a doua mai scurtă, pe prima pereche de tarse prezenta organul Haller cu rol olfactiv, iar ambulacrele primei perechi de membre sunt mai dezvoltate comparativ cu celelalte. Larvele nu prezintă stigmată și nici orificiu sexual

Scientia Parasitologica, 2002, 2, (Cosoroabă, 2000). Dimensiunile larvelor nehrănite s-au încadrat între 810-900 μm. Cu timpul, forma larvei a devenit piriformă, iar culoarea castanie.

Larvele pasate pe șoriceii, deși șoriceii au fost tunși în zona dorsală pentru a facilita fixarea acestora, s-au fixat în zona auriculară, pe bot, pleoape, coadă și zona interdigitală. Hrănirea larvelor a durat în medie 2-3 zile, după care acestea s-au desprins, au urcat pe pereții cutiei și au căzut în apă de unde au fost recoltate. Dimensiunile larvelor hrănite au fost de 1,4-1,5 mm.

Timpul necesar nimfării a fost de 5-7 zile la temperatura de 27°C, 7-8 zile la 37°C și 20-21 zile la temperatura laboratorului (20°C). În urma examinării nimfelor nehrănite la microscop, s-au observat următoarele: prezența a patru perechi de membre prevăzute cu gheare și ambulacre, pe prima pereche de tarse prezentau organul Haller, ventro-lateral stigmată cu rol respirator, nu au prezentat orificiu genital, iar dimensiunile s-au încadrat între 1,2-1,5 mm.

Nimfele nehrănite s-au fixat pe corpul cobaiului în regiunea auriculară și dorsală. Hrănirea a durat circa 5 zile, interval în care nimfele au crescut până la dimensiuni de 4 mm, prezentând în plus față de larve o formațiune din care va lua naștere porul genital. Transformarea nimfelor în adulți atât la temperatura de 27°C cât și la temperatura laboratorului a durat 20-21 de zile. Dimensiunile adulților nehrăniți, obținuți în urma experimentului au fost de 5 mm pentru femele și 6 mm pentru masculi.

Ciclul evolutiv integral pentru căpușa *Dermacentor reticulatus* a avut o durată medie de 45 zile la temperatura de 27°C și 86 zile la temperatura laboratorului (20°C). Ciclul evolutiv la temperatura de 37°C nu a putut fi finalizat datorită numărului mic de nimfe obținute.

Hohorst (cit. de Cernăianu), în cazul desfășurării ciclului evolutiv în laborator, a obținut următoarele rezultate: larvele au eclozionat în 15-20 de zile de la pontă, nimfele au apărut după 5 zile de la sfârșitul hrănirii larvelor, adulții au apărut la 18 zile după hrănirea nimfelor, ciclul total fiind de 54-72 zile (Cernăianu, 1957).

În condiții naturale, după Cosoroabă (2000), larvele eclozionate după 2-3 săptămâni, se hrănesc 2 zile sau mai mult și nimfele apar după

2 săptămâni, iar după alte 2-3 săptămâni devin adulți.

Tabel 1

Corelația între temperatură și durata ciclului evolutiv la *Dermacentor reticulatus*

Stadiul evolutiv	Durata (zile)		
	20° C	27° C	37° C
Ou-larvă	28-33	5-6	5-6
Hrănire larve	2-3	2-3	2-3
Larvă-nimfă	20-21	5-7	7-8
Hrănire nimfe	5	5	5
Nimfă-adult	20-21	20-21	-
Ciclu integral	75-83(78-86)*	37-42 (40-45)*	-

* diferența de 3 zile se datorează în fiecare caz, timpului necesar pentru fixarea larvelor și nimfelor.

Concluzii

Rezultatele experimentale referitoare la realizarea ciclului evolutiv *in vitro* la căpușa *Dermacentor reticulatus* relevă următoarele:

1. Temperatura ambiantă influențează durata ciclului evolutiv la *Dermacentor reticulatus*, la 20°C acesta având o durată cuprinsă între 78-86 zile, iar la 27°C cuprinsă între 40-45 zile.
2. Durata fazelor evolutive s-a încadrat în următoarele intervale medii: ponta cu o durată de 5-7 zile; perioada necesară eclozionării larvelor: 5-33 zile; perioada necesară transformării larvelor hrănite în nimfe: 5-21 zile; perioada necesară transformării nimfelor hrănite în adulți: 20-21 zile.
3. Dimensiunile stadiilor evolutive obținute au fost: ouăle – 520/410 μm; larvele nehrănite – 810-900 μm; larvele hrănite – 1,4-1,5 mm; nimfele nehrănite – 1,2-1,5 mm; nimfe hrănite – 4 mm; adulții nehrăniți – 5 mm pentru femele și 6 mm, pentru masculi.
4. Temperatura mediului influențează durata eclozionării larvelor și durata trecerii de la stadiul de larvă la stadiul de nimfă, însă nu influențează durata trecerii de la stadiul de nimfă la cel de adult.

SUMMARY

***In vitro* reproduction of the evolutive cycle of *Dermacentor reticulatus* (Fabricius 1794)**

In vitro reproduction of evolutive cycle at *Dermacentor reticulatus* was made after modified Metianu method, during March-June 2002. In the experiment were used 20 females of *Dermacentor reticulatus*, which were collected from sheep from Ciurila, distributed in tubes, one female for each tube.

10 tubes were kept at laboratory temperature, the other 10 tubes were kept in thermostat (27 and 37°C), to observe the influence of temperature on the evolutive cycle.

For the feeding of the ticks larvae, 3 white mice were used and for nymphs feed was used a guinea pig.

The evolutive cycle at *Dermacentor reticulatus* was reproduced *in vitro* the average interval of the different evolutive phases was: egg laying during 5-7 days; the period necessary for hatching of the larvae, 5-33 days; the period necessary for larvaes transformation in nymphs, 5-21 days; the period necessary for the transformation of the nymphs in adults, 20-21 days.

Bibliografie

1. Bourdeau P. – Les tiques d'importance veterinaire at medicale, Le Point Veterinaire, Vol. 25, nr. 151, 1993
2. Cernăianu C. – Piroplasmă și piroplasmoză, Vol. 1, Edit. Academiei Române, București 1957
3. Cosoroabă I. – Parazitologie veterinară, Edit. Mirton, Timișoara, 2000
4. Sauer J., Hair J. – Morphology, physiology and behavioral biology of ticks, Ellis Horwood Series in Acariology, Halsted Press 1986
5. Șuteu I., Cozma V.- Bolile parazitare la animalele domestice, Edit. Ceres București 1998
6. Șuteu I.- Zooparaziții și mediul înconjurător, Vol. 1, Edit. Academiei Române, București, 1992