

Paraugu ievākšanas protokols lielo plēsēju monitoringam

Mērķis

Bojāgājušo dzīvnieku izpēte sniedz ļoti nozīmīgu informāciju par sugas bioloģiju un ekoloģiju vietējās populācijas līmenī. Lai pēc iespējas pilnīgāk raksturotu katru pieejamo indivīdu un iegūtie dati būtu salīdzināmi ilgākā laika periodā, kā arī starp dažādām mikropopulācijām vai teritoriālām grupām, dzīvnieku ķermeņu izpēte un paraugu ievākšana jāveic, ievērojot vienotu procedūru. No katra indivīda jāievāc visi iespējamie paraugi, kas raksturo tā stāvokli populācijā. Paraugiem jābūt līdzvērtīgā salīdzināšanai derīgā kvalitātē.

Šajā dokumentā aprakstīta līdzšinējā praksē iegūtā labākā pieredze paraugu ievākšanā no nomedītiem vai citu iemeslu rezultātā bojāgājušiem vilkiem un lūšiem Latvijā.

Paraugu veidi

Šajā dokumentā par paraugu sauc no ķermeņa atdalītu dzīvnieka orgānu vai audu daļu, ko izmanto tālākai izpētei laboratorijā.

Vilku un lūšu invazīvajā (tiešas ietekmes ceļā notiekošā, šinī gadījumā medību rezultātus izzinošā) monitoringā izmanto šādu veidu paraugus:

- Ilkņa saknes fragmentu vecuma noteikšanai
- Muskuļaudus trihinellu pārbaudei
- Muskuļaudus DNS analīzēm
- Kuņģi barības sastāva noteikšanai
- Reproductīvos orgānus - dzemdi un olnīcas vairošanās pierādīšanai un auglības noteikšanai
- Visus iekšējos orgānus helmintoloģiskai izmeklēšanai - traheja, bronhi, plaušas, sirds, barības vads, kuņģis, zarnu trakts, aknas (ar žultspūsli), liesa, nieres, urīnpūslis

Nepieciešamais inventārs

- Labi uzasināts nazis vai ķirurga skalpelis
- Vienreizējas lietošanas gumijas cimdi
- Dažādu izmēru slēdzamie polietilēna maisiņi
- Piezīmju papīrs un rakstāmlietas, ieskaitot tumšas krāsas permanento (ūdensnoturīgo) marķieri rakstīšanai uz polietilēna maisiņiem
- Dezinfekcijas līdzeklis un salvetes roku un instrumentu dezinfekcijai
- Rokas (piekaramie) svāri (līdz 60kg) un izturīga aukla
- Ierīce digitāliem fotouzņēmumiem (kamera vai mobilais telefons)
- Ķirurģiskās šķēres (vēlams)
- Kaulu knaibles, kaulu zāģītis (vēlams)

Parauga ieguves kārtība

Transportējot paraugus uz pētniecības laboratoriju, jābūt pierādāmai to legālai izcelsmei. Tādēļ, saņemot informāciju par plēsēja nomedīšanu, jānoskaidro, vai par šo faktu ir sastādīts noteiktā parauga akts un vai ziņa ir nodota VMD. Pēc tam jānoskaidro, ko nomedītā dzīvnieka īpašnieks gatavojas ar to darīt, kāda veida medību trofeju vēlas sagatavot, kādas citas personas iesaistīt medījuma turpmākajā apstrādē. Nomedītā plēsēja trofejas īpašniekam jālūdz sagatavot

nomedīšanas akta kopiju vai nosūtīt akta elektronisku fotogrāfiju. Jāvienojas par paraugu saņemšanas laiku un vietu.

Kermeņa preparēšana un paraugu sagatavošana izpētei

Precīza ķermeņa svara uzzināšanai, dzīvnieks pēc tā nomedīšanas jānosver pēc iespējas ātrāk, jo asins noplūdes vai sasalšanas – atkuššanas rezultātā daļa svara tiek zaudēta. Nav nozīmes svērt arī nodīrātu plēsēju ķermeņus. Paraugu ievākšana jāšāk ar bojāgājušā dzīvnieka ārējo apskati, kuras laikā nosaka tā dzimumu, novērtē vecumu un atzīmē ievainojumu, slimību un kroplības pazīmes (tās arī jānofotografē). Vērtība jāpiegriež kašķa pazīmēm (1. att.).



1. attēls. Kašķa ietekmē apmatojums sākotnēji kļūst nevienāds, bet, slimībai progresējot, parādās kailas ādas laukumi ar sīkām brūcītēm un krevēm – vispirms vietās, kur dzīvnieks kasoties var piekļūt ar zobiem vai nagiem, vēlāk gandrīz pa visu ķermeni.

Lūšu mazuļiem un jaunajiem lūšiem ārējie dzimumorgāni nav ar izteiktām atšķirībām, tādēļ jāpievērš galvenā uzmanība dzimumatveres attālumam no tūpļa atveres. Mātītēm šis attālums ir salīdzinoši neliels – apmēram 2,5-3 cm (2. att.), bet tēviņiem 3-5cm, kamēr sēklinieku maisiņš ārpus rieta perioda nav pamanāmākā tēviņu pazīme, jo ir neizspīlēts (3. att.).



2. attēls. Lūšu mātītes anālais apvidus.



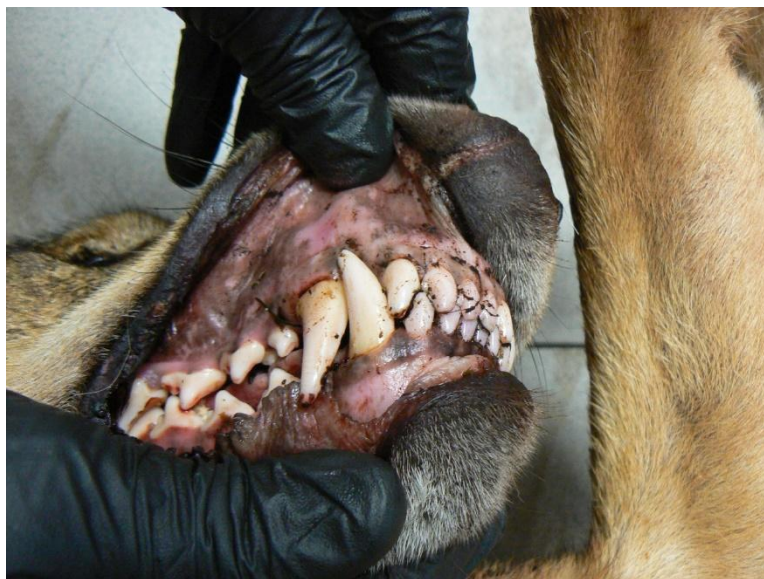
3. attēls. Lūšu tēviņa anālais apvidus.

Jānovērtē dzīvnieka vecums pēc zobu stāvokļa. No medību termiņa atklāšanas 15. jūlijā līdz dažkārt oktobra beigām vilcēniem, kas dzimuši attiecīgā gada pavasarī, ir piena zobi, kas viegli atšķirami, paverot un aplūkojot dzīvnieka muti (4. att.).



4. attēls. Piena zobi 4-5 mēnešus vecam vilcēnam.

Turpmākajos vēla rudens un ziemas mēnešos jaunieji vilkiem vecumu norāda vēl nepietiekami izaugušie ilkņi, kas ir ievērojami īsāki nekā viengadīgiem un vecākiem indivīdiem. Par ilkņu garumu visērtāk spriest, tos salīdzinot ar blakus novietotajiem malējiem priekšzobiem. Ja augšējais ilknis ir tikpat garš vai tikai uz pusi garāks par līdzās esošo priekšzobu, tad vilks ir jaunāks par gadu. Gadu veciem un vecākiem vilkiem augšējais ilknis ir vismaz 3x garāks par priekšzobu (5. att.).



5. attēls. Pieauguša vilka ilknis salīdzinājumā ar malējo priekšzobu.

Lūšu mazuļiem atļautā medību termiņa sākumā piena zobi jau ir nomainījušies, taču ilkņi vēl ir ļoti nelieli, un griezējzobi (lielākie no dzerokļiem) var nebūt vēl izauguši. Atšķirībā no vilkiem lūšu mazuļi visu ziemu ir ievērojami mazāki un vieglāki par pieaugušiem dzīvniekiem.

Pēc ārējās apskates ievāc muskuļu paraugus trihinellu un DNS analīzēm. Paraugus ņem no priekškājas augšdelma muskuļa. Nenodīrātiem dzīvniekiem vispirms veic muskuļa atdīrāšanu. Izgriež 100-150g muskuļaudu, izvairoties no cīpslām, zemādas asinsizplūdumiem un taukiem. Šis paraugs paredzēts trihinellu pārbaudei. Atsevišķi nogriež dažus centimetrus garu muskuļu sloksnīti DNS analīzēm. Ievācot DNS paraugus no vairākiem plēsējiem, pirms katra indivīda rūpīgi jānomazgā nazis un cimdi tekošā ūdenī vai arī kārtīgi jānotīra ar mitro salveti, ja nav pieejams ūdens. Paraugus iesaiņo atsevišķos maisiņos, uz katra maisiņa ar izturīgas krāsas marķieri uzrakstot parauga veidu un numuru (skat. tabulu pielikumā). Ieteicams maisiņā ievietot arī papīra lapiņu, kur parauga identifikācijas datiem jābūt uzrakstītiem ar zīmuli. Paraugu ievācējam jāveido saraksts (1. pielikums), kurā pretī attiecīgajiem uz maisiņiem norādītajiem paraugu numuriem ir informācija par parauga veidu, dzīvnieka bojāejas datumu, vietu, sugu un dzimumu.

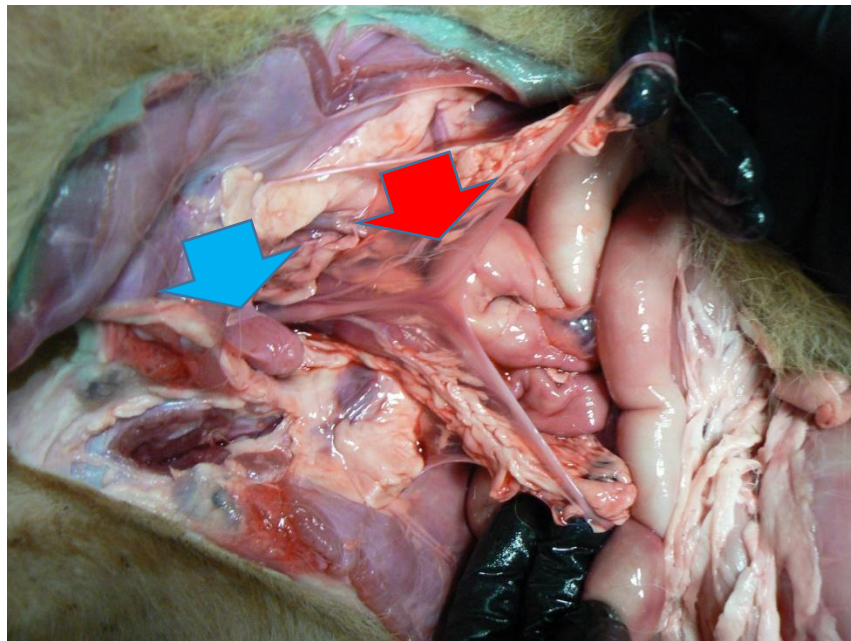
Pēc šo paraugu ievākšanas veic vēdera dobuma atvēršanu. Vēdera sienā griezumam izdara virzienā no anālās atveres uz krūšu kurvī (6. att.), tālāk atgriež ribu galus gar krūšu kaulu un kakla muskuļaudus līdz pat rīklei, ko balsenes rajonā pārgriež šķērsvirzienā. Vecāku indivīdu krūšu kurvja atvēršanā ērti izmantot kaulu šķēres.



6. attēls. Griezums, lai piekļūtu vēdera dobuma iekšējiem orgāniem.

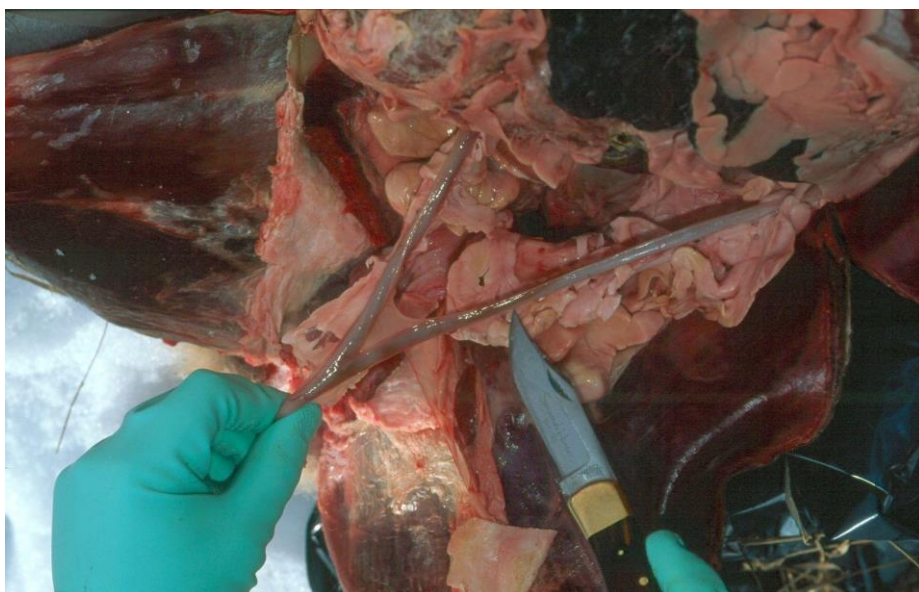
Ērtākai piekļūšanai iekšējiem orgāniem ieteicams vēdera sienu pārgriezt arī šķērsvirzienā no vēderpuses viduslīnijas līdz mugurkaulam. Jāuzmanās nepārgriezt kuņģa vai zarnu sieniņas.

Vilku un lūšu mātītēm vispirms ievāc reproduktīvo orgānu paraugu. Tie atrodami vēdera dobuma aizmugurējā daļā virs resnās zarnas līdzās urīnpūslim (7. att. zila bultiņa) Y burta formā (7. att. sarkana bultiņa). Dzemdī un tās abus simetriskos ragus uzmanīgi atdala no apkārtējiem saistaudiem un taukiem.



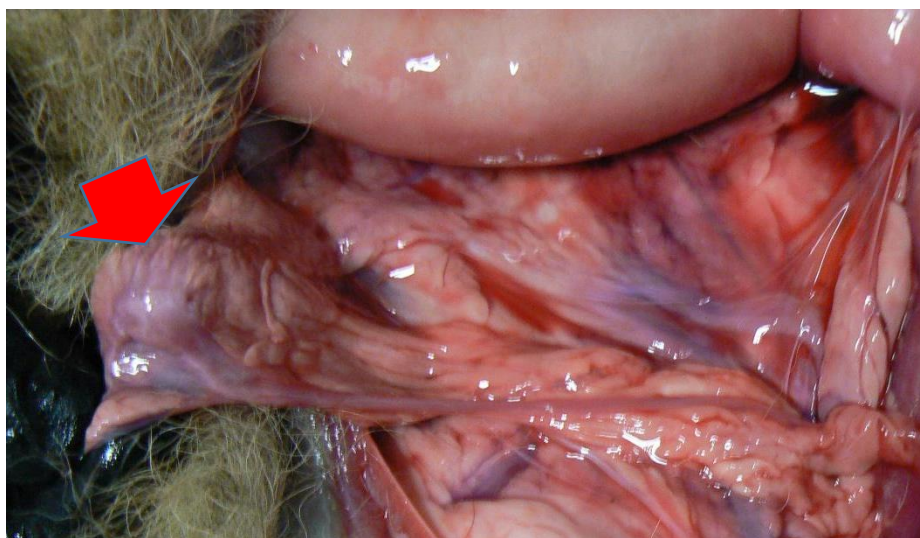
7. attēls. Vilku mātītes urīnpūslis (zila bultiņa) un dzemde (sarkana bultiņa).

Vispirms to nogriež (8. att.) dzemdes kakla rajonā (t.i. pie savienojuma ar maksti, kas, riestam tuvojoties, var būt uzbriedusi un atgādināt cauruļveida skrimsli – šī cietā daļa nav jāievāc). Tālāk piesardzīgi atbrīvo dzemdes ragus. To galos atrodamas olnīcas. Ieteicams lietot ķirurģiskās šķēres.



8. attēls. Dzemes ragu izgriešana.

Olnīcas mēdz būt dažāda lieluma atkarībā no dzīvnieka vecuma un vairošanās cikla. Tās ir ietvertas saistaudos, īpaši vilkiem, un pamanāmas tikai, nostiepjot dzemes ragus un atbrīvojot no apkārtējiem ķermeņa taukaudiem (9. att.).



9. attēls. Jaunas vilcenes olnīca.

Ievācot reproduktīvo orgānu paraugu, olnīcas (9. un 10. att.) no dzemes ragu galiem nav jāatdala. Parauga apstrādes gaitā to veic laboratorijā. Šī procedūra neattiecas uz paraugu ievācēja darbu, bet labākai izpratnei par nepieciešamajiem orgāniem un to kvalitāti ieteicams apskatīt izpētei sagatavotu dzemdi (11. att.) un olnīcu (12. att.). Reprodukktīvo orgānu paraugs (dzemde + olnīcas) jāievieto atsevišķā maisiņā ar marķējumu indivīda identificēšanai un jāuzglabā -20°C temperatūrā.



10. attēls. Lūšu mātītes olnīca.



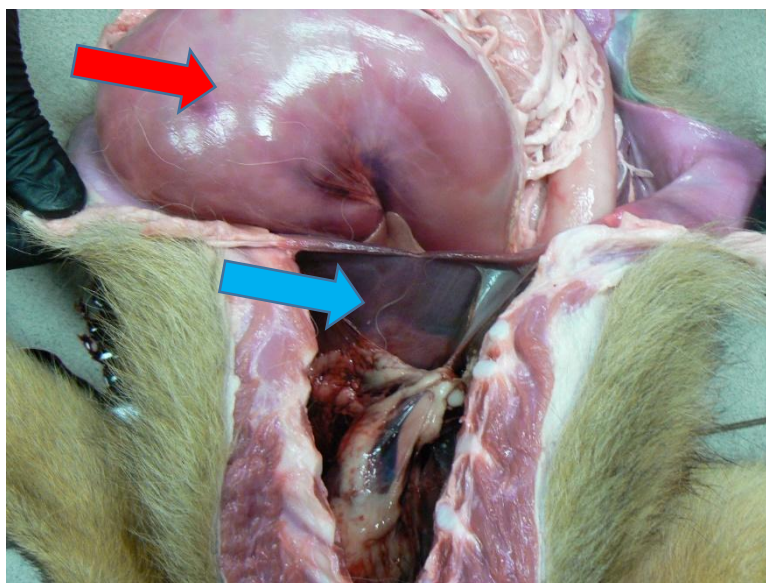
11. attēls. Lūšu mātītes dzemde.



12. attēls. Lūšu mātītes olnīca.

Nākamo ievāc diafragmas muskuļaudu paraugu trihinellu pārbaudei. Diafragma novietota vēdera dobuma priekšdaļā kā muskuļaudu siena, kas atdala vēdera (13.att. sarkana bultiņa) un krūšu

dobumus (14. att. zila bultiņa). Diafragmu atdala ārējā piestiprinājuma vietās pa perimetru, kā arī no iekšējiem orgāniem vidusdaļā, kur tā gredzenveidā iekļauj barības vada pāreju kuņģī.



13. attēls. Vilka kuņģa (sarkana bulta) un diafragmas (zila bulta) novietojums vēdera dobumā.

Izgrieztā veidā diafragmas forma atgādina priekšautu (14. att.).



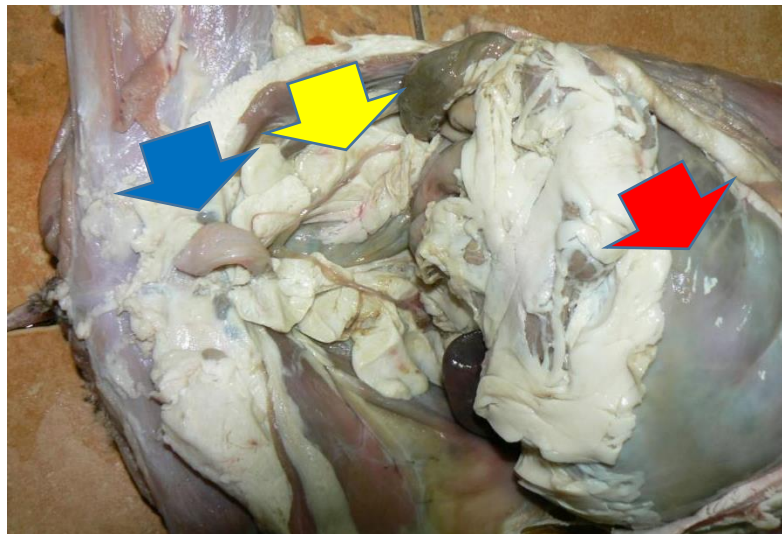
14. attēls. Izgriezta diafragma.

Diafragmu ievieto atsevišķā maisiņā vai vienā maisiņā kopā ar priekškājas muskuļa gabalu. Uz maisiņa bez indivīdu identificējošiem datiem jānorāda arī, ka tas ir trihinellu paraugs, kas satur gan diafragmu, gan priekškājas muskuli (15. att.) vai tikai vienu no tiem. Ja tiek ievākti visi iekšējie orgāni pilnai parazitoloģiskai pārbaudei, diafragmu var atsevišķi nenodalīt.



15. attēls. Paraugš trihinellozes pārbaudei.

Kuņģa izņemšana atkarīga no tā piepildījuma pakāpes ar barību, īpaši vilkiem. Ja barības ir daudz, kuņģis var aizņemt lielu daļu no vēdera dobuma (16. att. sarkana bultiņa), un jāuzmanās, lai to nejauši nepārgrieztu.



16. attēls. Vilcenes kuņģis (sarkana bulta), dzemde (dzeltena bulta) un urīnpūslis (zila bulta).



17. attēls. Kuņģa atdalīšana.

Kuņģi (17. att.) pārvadā un uzglabā atsevišķā plastmasas maisiņā vai traukā ar atbilstošu marķējumu un norādi kopējā paraugu sarakstā (1. pielikums).

Ja ievāc visu iekšējo orgānu paraugu (helmitoloģiskai izmeklēšanai), tad:

- vispirms atdala urīnpūsli (16. att., zila bultiņa) un ievieto atsevišķā maisiņā, lai novērstu satura izplūdi;
- kuņģi atsevišķi neatdala un ievāc kopā ar pārējiem iekšējiem orgāniem (18. att.).

Visus orgānus, arī maisiņu ar urīnpūsli, ievietot vienā maisā ar atbilstošu marķējumu un norādi kopējā paraugu sarakstā (1. pielikums).

N.B. Šajā maisā neievieto reproduktīvo orgānu, trihinellu un DNS paraugus!



18. attēls. Visu iekšējo orgānu izņemšana parazitoloģiskai pārbaudei.

Ilkņa saknes paraugu ievāc no dzīvniekiem, kas ir vecāki par vienu gadu. Gadījumā, ja galvaskauss nav vajadzīgs, ar kaulu zāģīti nozāģē apmēram $\frac{1}{3}$ apakšžokļa ar ilkņiem. Ja apakšžoklis ir sabojāts, tad ievāc augšžokļa fragmentu. Pēc novārīšanas no jaunu dzīvnieku galvaskausiem ilkni izvilkt ir viegli, dažkārt tie paši izkrīt. Jaunākus par gadu plēsējus var pazīt pēc atvēruma ilkņa kanālā, kas izzūd tikai apmēram 9-10 mēnešu vecumā (19. att. sarkana bultiņa).



19. attēls. Zoba kanāla atvere saknē par gadu jaunākam vilkam.

Par gadu vecākiem dzīvniekiem, novārot galvaskausu, ilknis ir pamazām jāizkustina, izmantojot spēku. Kad tas izvilks no zoba alveolas, ar dzelzs zāģīti nozāģē apmēram 1,5 cm garu saknes galu. Tas jāievieto maisiņā ar indivīda identitāti saistītu marķējumu un jānogādā laboratorijā, bet ilknis bez nozāģētā saknes gala (20. att.) jāievieto atpakaļ alveolā un nepieciešamības gadījumā jānostiprina ar piemērotu līmi.



20. attēls. Ilkņa saknes parauga ievākšana no vilka, kas vecāks par gadu.

Ja mednieks atsakās no trofejas un nodod izpētei veselu plēsēja ķermeni, tam jāpiestiprina informācija (nomedīšanas datums, vieta un medību iecirkņa nosaukums), lai dzīvnieks būtu nekļūdīgi identificējams pēc transportēšanas vai uzglabāšanas (21. att.).



21. attēls. Vesela plēsēja ķermeņa marķēšana pārvadāšanai.

1. PIELIKUMS

Paraugu reģistrācijas lapa

[illegible]