

NGHIÊN CỨU SỰ PHÁT TRIỂN CỦA ẤU TRÙNG SÁN LÁ SINH SÁN CỦA VỊT TRONG VẬT CHỦ TRUNG GIAN (ẤU TRÙNG CHUỖN CHUỖN)

Nguyễn Đức Tân¹, Nguyễn Văn Thoại¹,
Huỳnh Vũ Vy¹, Lê Hứa Ngọc Lực¹

TÓM TẮT

Gây nhiễm thực nghiệm ấu trùng sán lá sinh sán (cercaria) từ ốc *Bithynia siamensis* (Vật chủ trung gian thứ nhất) cho 3 loài ấu trùng chuẩn chuẩn ngô (*Orthetrum sabina*, *Orthemis ferruginea*, *Diplacodes trivialis*). Kết quả cho thấy, cercaria thoát khỏi ốc, xâm nhập vào ấu trùng chuẩn chuẩn ngô, theo thời gian cấu tạo các cơ quan trở nên rõ ràng và hoàn thiện hơn. Từ ngày thứ 5 một số ấu trùng đã hoàn thành quá trình phát triển, chúng cuộn lại và tạo thành dạng nang kén nằm trong cơ của vật chủ. Sau ngày thứ 8, 100% ấu trùng tạo thành dạng nang kén ký sinh trong cơ của ấu trùng chuẩn chuẩn. Ấu trùng dạng nang kén có hình tròn, lớp vỏ dày bao bọc ấu trùng. Kích thước nang kén dao động 380-400 µm. Kết quả trên cho thấy, chuẩn chuẩn ngô là vật chủ trung gian thứ 2 của sán lá sinh sán.

Từ khóa: Ấu trùng, chuẩn chuẩn, ốc nước ngọt, sán lá sinh sán, vật chủ trung gian.

1. BẬT VẤN ĐỀ

Các tỉnh Nam Trung bộ có địa hình là những vùng đồng bằng ven biển và đồi núi thấp; khí hậu nhiệt đới nóng và ẩm; thảm thực vật nguyên sinh với hệ sinh thái đa dạng. Đây là những điều kiện thích hợp cho sự phát triển của nhiều loài côn trùng, trong đó có sự đa dạng của chuẩn chuẩn. Chuẩn chuẩn là bộ côn trùng với 5952 loài, chia làm 2 nhóm lớn là chuẩn chuẩn ngô và chuẩn chuẩn kum (Dijkstra và cs, 2013). Phần lớn các loài chuẩn chuẩn là có ích, là thiên địch ăn thịt nhiều loài sâu hại cây trồng và ruồi, muỗi. Tuy nhiên, cùng với những điều kiện sinh thái thích hợp để chuẩn chuẩn phát triển thì cũng là môi trường thuận lợi để một số ký sinh trùng tồn tại và phát triển.

Theo McDonald (1969) bệnh sán lá sinh sán do loài *Prosthogonimus* spp. gây ra. Vòng đời của sán lá sinh sán phải qua 2 vật chủ trung gian: Vật chủ trung gian thứ 2 là ấu trùng chuẩn chuẩn và chuẩn chuẩn. Vịt và các loài gia cầm khác nhiễm sán do ăn phải ấu trùng chuẩn chuẩn hoặc chuẩn chuẩn chứa ấu trùng ở dạng nang kén. Ở nước ta bệnh sán lá sinh sán trên vịt đã được phát hiện từ lâu. Tuy nhiên, cho đến nay vẫn chưa có nghiên cứu nào về sự phát triển của mầm bệnh ở vật chủ trung gian (ấu trùng chuẩn

chuồn). Vì vậy, đã tiến hành nghiên cứu vấn đề này nhằm làm rõ hơn mối quan hệ sinh thái giữa ký sinh trùng *Prosthogonimus* spp. và vật chủ.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Ốc nước ngọt *Bithynia siamensis*, chuẩn chuẩn, ấu trùng chuẩn chuẩn, sán lá sinh sán và một số dụng cụ, hóa chất cần để nghiên cứu ký sinh trùng học.

Vịt bắt chuẩn chuẩn làm bằng khung sắt, chiều cao 40 cm, chiều ngang 40 cm, cán vịt dài 60 cm, kích thước ô lưới 0,84 mm.

Hệ thống thí nghiệm nuôi ốc và nuôi chuẩn chuẩn: Nhà làm bằng khung sắt với diện tích khoảng 32 m², cao 1,7 m. Xung quanh nhà được phủ lưới nhựa, kích thước ô lưới 0,84 mm. Bên trong hệ thống nuôi đảm bảo các điều kiện tương tự ngoài tự nhiên (có ánh nắng, bể nước, cây có thủy sinh,...).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thu trứng sán trong túi Fabricius hoặc thu thập sán từ vịt nhiễm bệnh trong tự nhiên, trong nước sinh lý, sán thường sống được khoảng 3-4 giờ sau khi tách khỏi cơ thể vịt và tiếp tục thải trứng. Sau đó ly tâm, thu trứng cho vào môi trường nước ngọt tự nhiên, để ở nhiệt độ phòng thí nghiệm (22-23°C) và theo dõi quá trình phát triển của trứng dưới kính hiển vi. Khi trứng phát triển đến giai đoạn ấu trùng miracidium tiến hành gây nhiễm cho ốc *Bithynia siamensis*.

¹ Phân viện Thú y miền Trung

Theo dõi quá trình phát triển của ấu trùng trong ốc, khi ấu trùng dạng cercaria thoát ra ngoài cơ thể ốc, tiến hành ép ốc giữa 2 tấm kính, quan sát dưới kính vi, tính số lượng ấu trùng sản để gây nhiễm cho ấu trùng chuẩn chuẩn.

Các loài chuẩn chuẩn được thu thập trong tự nhiên tại tỉnh Bình Định, Phú Yên và Khánh Hòa. Tiến hành xác định loài dựa theo tài liệu của Orr (1996) và Asahina (1993). Ngoài ra còn sử dụng các mô tả, ảnh, hình vẽ của các tác giả: Wilson (1995), Do Mạnh Cường và Đặng Thị Thanh Hoa (2007), Bùi Hữu Mạnh (2007), Samways (2008). Các loài chuẩn chuẩn được nuôi trong điều kiện phòng thí nghiệm để chuẩn chuẩn đẻ trứng và trứng nở ra ấu trùng. Ấu trùng chuẩn chuẩn sẽ sống trong bể nước thí nghiệm, thức ăn là các loài côn trùng nhỏ, ấu trùng muối, hàng ngày bổ sung thức ăn là thịt các loài cá.

Thí nghiệm được thực hiện trên 3 loài thuộc nhóm chuẩn chuẩn ngò (*O. sabina*, *O. ferruginea*, *D. trivialis*). Các loài trên được bố trí nuôi, gây nhiễm riêng biệt và có lô đối chứng. Mỗi loài được bố trí 3 lô, mỗi lô 100 ấu trùng chuẩn chuẩn (300 ấu trùng/loài).

Cách gây nhiễm: Thu thập ấu trùng chuẩn chuẩn cho vào cốc thủy tinh có chứa 1000 ml nước sinh lý, mỗi cốc chứa 50 ấu trùng chuẩn chuẩn gây nhiễm khoảng 2000 ấu trùng cercaria thu thập trên ốc *Bithynia siamensis*. Sau gây nhiễm để cốc thủy tinh vào chỗ tối (khoảng 8-12 giờ), tạo điều kiện để ấu trùng sản xâm nhập vào ấu trùng chuẩn chuẩn. Sau đó thả ấu trùng chuẩn chuẩn xuống bể thí nghiệm. Định kỳ 1 ngày/lần xét nghiệm ấu trùng chuẩn chuẩn để xác định quá trình phát triển của

mầm bệnh.

Phương pháp xét nghiệm ấu trùng chuẩn chuẩn: Xét nghiệm được tiến hành trên từng cá thể. Ép ấu trùng chuẩn chuẩn giữa 2 tấm kính và quan sát dưới kính hiển vi để phát hiện các dạng ấu trùng sản.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả gây nhiễm ấu trùng sản là sinh sản từ ốc cho ấu trùng chuẩn chuẩn

Gây nhiễm ấu trùng sản là sinh sản ở dạng cercaria từ ốc *Bithynia siamensis* (vật chủ trung gian thứ nhất) cho ba loài ấu trùng chuẩn chuẩn ngò (*Orthetrum sabina*, *Orthemis ferruginea*, *Diplacodes trivialis*), kết quả được thể hiện ở bảng 1.

Kết quả trên bảng 1 cho thấy, ấu trùng chuẩn chuẩn ngò thích hợp để ấu trùng sản là sinh sản tồn tại và phát triển đến giai đoạn ấu trùng tạo thành dạng nang kén ký sinh trong cơ với tỷ lệ nhiễm ở các loài *Orthetrum sabina*, *Orthemis ferruginea* và *Diplacodes trivialis* lần lượt là 74,57%, 70,28% và 72,57%. Số lượng nang kén dao động 25,5-28,5 ở mỗi ấu trùng chuẩn chuẩn.

Bảng 1. Kết quả gây nhiễm ấu trùng sản là sinh sản từ ốc *Bithynia siamensis* cho ấu trùng chuẩn chuẩn

Loài ấu trùng chuẩn chuẩn	Số ấu trùng chuẩn chuẩn nhiễm/số kiểm tra (%)	Số nang ấu trùng sản/ấu trùng chuẩn chuẩn
<i>O. sabina</i>	215/300 (74,57)	25,5 ± 2,8 (22-30)
<i>O. ferruginea</i>	246/300 (70,28)	25,7 ± 2,1 (22-28)
<i>D. trivialis</i>	254/300 (72,57)	28,5 ± 2,2 (24-32)



Hình 1. Hình ảnh các loài chuẩn chuẩn và ấu trùng chuẩn chuẩn ngò gây nhiễm

Chuẩn chuẩn trưởng thành: a, Orthetrum sabina; b, Orthemis ferruginea; c, Diplacodes trivialis.

Ấu trùng chuẩn chuẩn: d, Orthetrum sabina; e, Orthemis ferruginea; f, Diplacodes trivialis

3.2. Các giai đoạn ấu trùng sán là sinh sản phát triển trong ấu trùng chuẩn chuẩn ngõ

Các giai đoạn ấu trùng sán là sinh sản phát triển trong ấu trùng chuẩn chuẩn ngõ được thể hiện ở bảng 2 và hình 2. Kết quả cho thấy, sau khi cercaria xâm nhập vào ấu trùng chuẩn chuẩn đến 12 giờ, cercaria đứt đuôi, it hoạt động, kích thước it thay đổi. Chiều dài dao động 80-90 μm , chiều rộng 50-60 μm .

Từ ngày thứ hai ấu trùng tăng nhanh cả về chiều dài và chiều rộng. Tuy nhiên, sự gia tăng về chiều dài chiếm ưu thế hơn so với chiều rộng. Kích thước chiều dài 130-150 μm và chiều rộng 80-90 μm . Lúc này bên ngoài ấu trùng sán là sinh sản hình thành một lớp vỏ mỏng, trong suốt có hình bầu dục hoặc hình elip bao bọc xung quanh ấu trùng.

Từ ngày thứ 3 ấu trùng sán tiếp tục gia tăng về chiều dài và chiều rộng, kích thước chiều dài 180-200 μm , chiều rộng 100-120 μm . Trong thời gian này ấu trùng có sự biến đổi màu sắc, từ màu trắng sữa sang màu vàng sẫm.

Đến ngày thứ 4 ấu trùng sán gia tăng về chiều dài nhưng không tăng về chiều rộng. Kích thước

chiều dài 250-270 μm , chiều rộng 100-120 μm . Lớp vỏ thứ hai của ấu trùng bắt đầu được hình thành.

Từ ngày thứ 5 một số ấu trùng đã hoàn thành quá trình phát triển, chúng cuộn lại và tạo thành dạng nang kén nằm trong cơ của vật chủ. Kích thước ấu trùng chiều dài 280-320 μm , chiều rộng 200-300 μm .

Đến ngày thứ 8, 100% ấu trùng tạo thành dạng nang kén ký sinh trong cơ của ấu trùng chuẩn chuẩn. Nang kén sán có hình tròn với lớp vỏ dày bao bọc ấu trùng, giác bung bằng giác miệng, chất nền màu nâu rải đều cơ thể, ấu trùng hoạt động mạnh trong nang kén. Kích thước nang kén dao động 380-400 μm .

Như vậy, kết quả trên cho thấy, ấu trùng chuẩn chuẩn ngõ là vật chủ trung gian thứ 2 của sán là sinh sản trên vịt. Vì ấu trùng cercaria ra khỏi ốc, xâm nhập vào ấu trùng chuẩn chuẩn, tiếp tục phát triển để tạo thành ấu trùng ở dạng nang kén, ký sinh trong cơ của vật chủ. Thời gian ấu trùng sán phát triển trong ấu trùng chuẩn chuẩn tương đối ngắn, từ khi ấu trùng cercaria xâm nhập vào ấu trùng chuẩn chuẩn đến giai đoạn ấu trùng ở dạng nang kén ký sinh trong cơ là 5 đến 8 ngày.

Bảng 2. Các giai đoạn ấu trùng sán là sinh sản phát triển trong ấu trùng chuẩn chuẩn ngõ

Thời gian sau gây nhiễm	Dạng ấu trùng sán	Kích thước ấu trùng (μm ; n=108)	
		Chiều dài (trung bình)	Chiều rộng (trung bình)
6 giờ	Cercaria	80-90 (85,4 \pm 4,50)	50-60 (56,2 \pm 4,33)
12 giờ	Cercaria	80-90 (87,5 \pm 3,37)	50-60 (57,9 \pm 3,34)
1 ngày	Cercaria	100-110 (102,9 \pm 3,96)	70-80 (75,8 \pm 4,17)
2 ngày	Cercaria	130-150 (141,2 \pm 8,01)	80-90 (84,5 \pm 4,50)
3 ngày	Cercaria	180-200 (189 \pm 8,21)	100-120 (113,7 \pm 6,07)
4 ngày	Cercaria	250-270 (258,3 \pm 7,48)	100-120 (115,4 \pm 6,20)
5 ngày	Cercaria, Ấu trùng dạng nang kén	280-300 (290,8 \pm 7,01)	200-220 (211,2 \pm 7,42)
6 ngày	Cercaria, Ấu trùng dạng nang kén	300-320 (310,8 \pm 9,0)	280-300 (290,8 \pm 7,9)
7 ngày	Cercaria, Ấu trùng dạng nang kén	380-400 (392,5 \pm 7,53)	380-400 (390,8 \pm 7,92)
8 ngày	Ấu trùng dạng nang kén	380-400 (392,5 \pm 7,53)	380-400 (390,8 \pm 7,92)

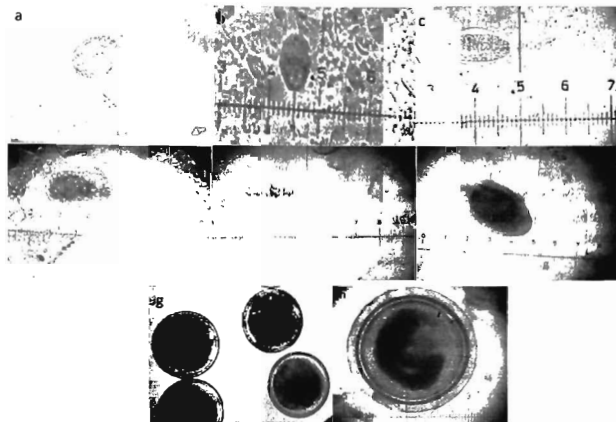
Chuẩn chuẩn là nhóm côn trùng sống theo phương thức bán thủy sinh. Khi còn ở giai đoạn ấu trùng, chuẩn chuẩn sống hoàn toàn dưới nước, đến thời kỳ sinh sản, ấu trùng lột xác thành dạng trưởng thành sống trên cạn, thực hiện quá trình giao phối và sinh sản (Cannings, 2014). Giai đoạn ấu trùng được

xem là giai đoạn chiếm nhiều thời gian nhất trong vòng đời của chuẩn chuẩn. Tùy thuộc vào từng loài chuẩn chuẩn, điều kiện khi hậu từng vùng mà giai đoạn ấu trùng có thể kéo dài từ vài tuần, vài tháng, một năm hoặc nhiều năm. Trong khi ở giai đoạn trưởng thành, chuẩn chuẩn có đời sống tương đối

ngắn, chỉ sống được từ một đến vài tuần (Corbet, 1999; Cannings, 2014).

Theo dõi thí nghiệm nhân thấy, ấu trùng sán ở dạng nang kén tồn tại trong cơ của chuồn chuồn cả ở

giai đoạn ấu trùng và giai đoạn chuồn chuồn trưởng thành. Vì vậy, nếu gà, vịt ăn phải ấu trùng chuồn chuồn hoặc chuồn chuồn trưởng thành đều có nguy cơ bị bệnh sán lá sinh sản.



Hình 2. Các giai đoạn ấu trùng sán lá sinh sản phát triển trong ấu trùng chuồn chuồn

a. ấu trùng sán sau 12 h gây nhiễm; b. ấu trùng sán sau 1 ngày; c. ấu trùng sán sau 2 ngày; d. ấu trùng sán sau 3 ngày; e. ấu trùng sán sau 4 ngày; f. ấu trùng sán sau 5 ngày; g. ấu trùng sán sau 6 ngày; h. ấu trùng sán sau 7 ngày gây nhiễm (100X)

4. KẾT LUẬN

Chuồn chuồn ngô (*Orthetrum sabina*, *Orthemis ferruginea*, *Diplacodes trivialis*) là vật chủ trung gian thứ 2 của sán lá sinh sản trên vịt.

Thời gian từ khi ấu trùng sán lá sinh sản xâm nhập vào ấu trùng chuồn chuồn, phát triển đến giai đoạn ấu trùng ở dạng nang kén ký sinh trong cơ là 5 đến 8 ngày.

Ấu trùng sán lá sinh sản dạng nang kén có hình tròn, lớp vỏ dày bao bọc ấu trùng. Kích thước nang kén dao động 380-400 μm .

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Asahina, S., 1993. *A List of the Odonata from Thailand*. Parts I-XXI. Bosco Offset.
- Bùi Hữu Mạnh (2007). *Danh mục bảng hình ảnh các loài chuồn chuồn Phú Quốc*. Nxb Tổ chức Wildlife At Risk và Vườn Quốc gia Phú Quốc, 43 tr.

- Cannings, R. A., 2014. The Dragonflies and Damselflies (Odonata) of Canadian Grasslands. *Arthropods Can Grass*3, 231-269.

- Corbet, P. S., 1999. *Dragonflies: Behavior and Ecology of Odonata*. Cornell University Press, Ithaca, USA and Harley Books, Colchester, UK, XXXIV + 829 pp.

- Cuong, D. M., D. T. T. Hoa, 2007. *Checklist of Dragonflies from Vietnam*. Vietnam National University Publisher, Hanoi, Vietnam.182 pp.

- Dijkstra, K. D. B., Bechly, G., Bybee, S. M., Dow, R. A., Dumont, H. J., Fleck, G., Garrison, R. W., Hamalainen, M., Kalkman, V. J., Karube, H., 2013. The classification and diversity of dragonflies and damselflies (Odonata). In: Zhang, Z. Q. (Ed.) *Animal biodiversity: An Outline of Higher level classification and survey of taxonomic richness (Addenda 2013)*. *Zootaxa* 3703 (1), 36-45.

7. McDonald, M., 1969. Catalogue of helminths of waterfowl (Anatidae). Spec. scient. Rep. US Fish Wildl. Serv., Wildlife No.126, Washinton, VIII + 692 pp.

8. Orr, A. G., 1996. Territorial and courtship displays in Bornean Chlorocyphidae (Zygoptera). *Odonatologica*, 25(2), 119-141 pp.

9. Samways, M. J., 2008. Dragonflies and damselflies of South Africa. (No 70). Sofia/Moscow: Pensoft Publishers, + 297 pp.

10. Wilson, K. D., 1995. Hong Kong dragonfly. Urban council of Hong Kong. HK. 8206, 211 pp.

RESEARCH ON DEVELOPMENT OF OVIDUCT FLUKE LARVAE IN DUCK IN INTERMEDIATE HOST (DRAGONFLY LARVAE)

Nguyen Duc Tan¹, Nguyen Van Thoai¹, Huynh Vu Vy¹, Le Hua Ngoc Luc¹

¹*Institute of Veterinary Research and Development*

Summary

The result of experimental infection of cercaria (in *Bithinia siamensis* snail-Intermediate host 1) for 3 species of dragonfly larvae (*Orthetrum sabina*, *Orthemis ferruginea* and *Diplacodes trivialis*) show that cercariae infected dragonfly larvae. After that, the organs of larvae become to be clearer and more completed. Some larvae have developed completely after 5 days, the larvae rolled up and formed metacercariae in host's muscle. After the day 8 the all larvae formed metacercariae. Metacercariae are round, they is covered by the thick shell. The size of metacercariae is about 380-400 μm . The above result affirmed dragonflies (*Orthetrum sabina*, *Orthemis ferruginea*, *Diplacodes trivialis*) were the second intermediate hosts of Oviduct fluke in duck.

Keywords: Larvae, dragonfly, freshwater snail, Oviduct fluke, intermediate host.

Người phản biện: PGS.TS. Tô Long Thành

Ngày nhận bài: 20/4/2018

Ngày thông qua phản biện: 21/5/2018

Ngày duyệt đăng: 28/5/2018