

UNIWERSYTET PRZYRODNICZY WE WROCŁAWIU
WYDZIAŁ BIOLOGII I HODOWLI ZWIERZĄT

MGR INŻ. EWELINA JAGŁA

ALTERNATYWNE METODY ZAPOBIEGANIA I ZWALCZANIA
INWAZJI ŚLUPKOWCÓW (NEMATODA: STRONGYLIDAE) U KONI

ALTERNATIVE METHODS FOR THE PREVENTION AND
CONTROL OF GASTROINTESTINAL PARASITES (NEMATODA:
STRONGYLIDAE) IN HORSES

AUTOREFERAT ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

WROCŁAW 2015

RADA WYDZIAŁU BIOLOGII I HODOWLI ZWIERZĄT
UNIwersytet PRZYRODNICZY WE WROCŁAWIU

Dziekan: prof. dr hab. Andrzej Zachwieja

Promotor: dr hab. inż. Ewa Jodkowska prof. nadzw.

Recenzenci: prof. dr hab. Zbigniew Jaworski
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski

dr hab. Jakub Gawor, prof. nadzw.
Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego

Praca doktorska wykonana
w Zakładzie Hodowli Koni i Jeździectwa
Instytut Hodowli Zwierząt

Praca liczy 128 stron tekstu, w tym 39 rycin, 14 tabel, 16 fotografii i 277 pozycji literatury.

Wstęp

Wśród koniowatych występuje duża różnorodność pasożytów będących częstym powodem problemów zdrowotnych tej grupy zwierząt [MFIŁODZE i HUTCHINSON 1990, LYONS i wsp. 1994, GAWOR 1995, KAPLAN 2002, MATTHEWS i wsp. 2004, NIELSEN i wsp. 2006, RELF i wsp. 2012]. W zależności od rodzaju pasożyta, stopnia jego inwazji oraz poziomu odporności immunologicznej żywiciela mogą one powodować różnego rodzaju szkody w organizmie [SOULSBY 1982]. Na całym świecie, zarówno u domowych jak i dzikich koni, najbardziej prewalentną i patogenną grupą pasożytów są nicienie należące do rodziny Strongylidae [DVOJNOS i KHARCHENKO 1994, LOVE i wsp. 1999, LICHTENFELS i wsp. 2008]. Rodzina ta dzieli się na dwie podrodziny: Strongylinae (słupkowce duże) oraz Cyathostominae (słupkowce małe). Nicienie należące do Cyathostominae mają zasięg kosmopolityczny i odnotowano je w Europie, Australii, Ameryce Północnej i Południowej oraz w Afryce [KRECEK i wsp. 1989, MFIŁODZE i HUTCHINSON 1990, GAWOR 1995, CIRAK i wsp. 1996, SILVA i wsp. 1999, BAUDENA i wsp. 2000a, RAMSEY i wsp. 2004]. Często inwazje słupkowców małych stanowią od 95% do 100% populacji wszystkich pasożytów w organizmie żywiciela, co wskazuje, iż występują znacznie częściej niż inne helminty jak *Parascaris equorum*, *Strongyloides westeri*, *Oxyuris equi*, *Strongylus vulgaris*, *S. edentatus*, *S. equinus*, *Triodontophorus* spp. czy też *Anoplocephala perfoliata* [NIELSEN 2012]. Wyniki badań dowodzą, iż słupkowce małe z epidemiologicznego i klinicznego punktu widzenia są najważniejszą grupą pasożytów występujących u koni [GAWOR 2006]. Gatunki należące do Strongylinae charakteryzują się znacznie mniejszym poziomem ekstensywności w odróżnieniu do Cyathostominae, czego potwierdzeniem są badania KUZMINY i wsp. [2005]. Zdaniem autorów niższa prewalencja jest skutkiem długiego okresu prepatentnego Strongylinae, czyli czasu od momentu zarażenia pasożytem do osiągnięcia przez niego dojrzałości płciowej.

Słupkowce (Strongylidae) cechuje prosty cykl rozwojowy, co skutkuje wysokim poziomem ekstensywności tych nicieni, a także dużą liczbą jaj pasożytów wydalanych z kałem. Do zarażenia dochodzi na skutek połknięcia wraz z runią pastwiskową inwazyjnych stadiów larwalnych L₃, które trafiają do jelita. Dalszy rozwój przebiega odmiennie u każdej z podrodzin, a u Strongylinae widoczne są również różnice międzygatunkowe. Mimo, iż jaja słupkowców jak i stadia nieinwazyjne wykazują dużą odporność na warunki zewnętrzne, to stadium L₃ cechuje największa odporność na niekorzystne czynniki środowiska, szczególnie na wysychanie [GAWOR 2006]. Sezonowy rozwój larw na pastwisku uzależniony jest od warunków klimatycznych. W klimacie umiarkowanym największy ich rozwój do stadium L₃ ma miejsce na przełomie lata i jesieni, kiedy to warunki do rozwoju i przetrwania są najbardziej sprzyjające, a następnie gwałtownie spada w miesiącach zimowych [OGBOURNE 1975]. Wiosną, gdy warunki środowiskowe są optymalne, następuje wzmożone wydalanie jaj do środowiska zewnętrznego i intensywny rozwój larw [DUNCAN 1974].

Nicienie z podrodziny Cyathostominae, a dokładniej ich stadia inwazyjne L₃, w odróżnieniu do innych pasożytów, mogą przejść w stan hypobiozy, czyli wstrzymania rozwoju larw w ścianie jelita [EYSKER i wsp. 1984, 1988]. Stan uśpienia umożliwia słupkowcom przetrwanie w organizmie żywiciela niekorzystnych warunków środowiska

zewnętrznego, by ponownie wznowić swój rozwój wiosną następnego roku lub nawet po kilku latach [HERD 1990a, GAWOR 1999, CORNING 2009]. Nawet do 90% otorbionych larw na poziomie wczesnego stadium EL₃, które nie różni się morfologicznie od stadium inwazyjnego, może przejść w stan hypobiozy [EYSKER i wsp. 1984, REINEMEYER 1999, PROUDMAN i MATTHEWS 2000]. Rezerwuar stadium EL₃ jest bardzo istotny gdyż w efekcie może spowodować masowe zanieczyszczenie pastwiska jajami pasożytów [SCHUMACHER i TAINTOR 2008]. Czas, w którym dochodzi do wstrzymania rozwoju larw, jest ściśle uzależniony od klimatu. W strefie umiarkowanej stan hypobiozy występuje głównie zimą. Ponowne wznowienie rozwoju stadiów uspijonych następuje wiosną [OGBOURNE 1975].

Większość koni dotkniętych inwazją Cyathostominae nie przejawia problemów zdrowotnych, natomiast u niektórych osobników pasożyty te mogą doprowadzić do ostrych stanów zapalnych jelita grubego [LOVE i wsp. 1999, CORNING 2009]. Słupkowce małe postrzegane są jako przyczyna różnych typów kolek u koni, za które odpowiedzialne są dojrzewające stadia larwalne [MAIR i PEARSON 1995, MURPHY i LOVE 1997, PROUDMAN i wsp. 1998, MAIR i wsp. 2000, CORNING 2009]. Największe szkody w organizmie zwierzęcia powodują rozwijające się otorbione stadia L₄, co ma miejsce późną zimą lub wczesną wiosną. Wówczas to olbrzymie ilości larw masowo przechodzą do światła jelita powodując zespół objawów zwanych larwalną cjatostaminozą, która objawia się biegunkami, kolkami i 50% wskaźnikiem śmiertelności [LOVE 1992, REILLY i wsp. 1993, MATTHEWS i MORRIS 1995, ABBOT 1998, LOVE i wsp. 1999].

Zastosowanie właściwie dobranych preparatów farmakologiczne jest łatwą, szybką i skuteczną metodą zwalczania inwazji pasożytniczych. Niestety wraz ze wzrostem częstotliwości stosowania leków odrobaczających pojawił się problem lekooporności wśród Cyathostominae [PRICHARD 1994]. Biorąc pod uwagę dużą popularność i częstotliwość stosowania makrocyclicznych laktonów oraz fakt, że lekooporność na te związki ujawniła się wśród pasożytów występujących u przeżuwaczy, wielu parazytologów twierdzi, iż pojawienie się oporności wśród słupkowców małych na te związki jest nieuniknione [LLOYD i SOULSBY 1998, SANGSTER 1999, COLES i wsp. 2003a].

W czasach gdy preparaty przeciwoobacze nie były jeszcze dostępne, zwalczanie inwazji pasożytniczych obejmowało wolno żyjące stadia rozwojowe w środowisku zewnętrznym. Dlatego też właściwe zarządzanie zabiegami pastwiskowymi było jedynym sposobem ograniczenia poziomu helmintów u koni. Obecnie, z uwagi na postępującą lekooporność, szczególnie wśród gatunków Cyathostominae, zasadnym jest wprowadzenie nowych, alternatywnych do farmakologicznych, metod walki z pasożytami [NIELSEN 2012].

Połączenie antyhelmintyków z innymi zabiegami mogącymi obniżyć poziom inwazji pasożytniczych wydaje się być trafnym działaniem, szczególnie, iż to właśnie pastwisko jest głównym źródłem zarażenia nicieniami jelitowymi [BARGER 1999, STROMBERG i AVERBECK 1999]. Właściwe zarządzanie wypasem zwierząt jak np. oddzielny wypas młodzieży i koni dorosłych, zapobiega ciężkim inwazjom pasożytniczym u młodych zwierząt [SVENSSON i wsp. 2000, DIMANDER i wsp. 2003, GAWOR 2006]. Wypas koni na przemian z innymi gatunkami zwierząt inwentarskich, jak np. owce, kozy lub bydło prowadzi do przerwania cyklu rozwojowego pasożytów typowych dla danego żywiciela [KLEI i BAUDENA 1999]. Należy także unikać nadmiernej obsady zwierząt, wówczas bowiem mocno obciążone

pastwisko zmusza zwierzęta do wygryzania runi pastwiskowej do powierzchni gleby, co zwiększa ich kontakt z formami inwazyjnymi pasożytów [GAWOR 2006]. Również właściwa pielęgnacja pastwisk, jak np. usuwanie odchodów, stanowiących główne źródło form inwazyjnych helmintów, może istotnie wpłynąć na poziom inwazji pasożytów. Zabiegi te wymagają jednak pewnych nakładów pracy i prawdopodobnie jest to powodem, dla którego hodowcy wciąż sięgają po szybkie i proste w użyciu środki farmakologiczne.

Do innych metod ograniczających inwazje pasożytnicze zaliczamy także stosowanie różnego rodzaju dodatków paszowych w postaci roślin leczniczych. Zawierają one substancje czynne, dzięki którym znalazły zastosowania w medycynie jak i ziołolecznictwie. Obecnie roślinne dodatki stosowane są wśród małych przeżuwaczy, gdyż pasożyty tej grupy zwierząt przyczyniają się do spadku ich produktywności [PINHEIRO i wsp. 2000]. Mechanizm działania roślinnych antyhelmintyków nie jest do końca poznany ale może być wynikiem bezpośredniego i pośredniego działania drugorzędnych związków chemicznych rośliny (np. skondensowanych tanin), wpływających na przeżywalność, wzrost i rozmnażanie pasożyta w przewodzie pokarmowym [WAGHORN i wsp. 1995, ATHANASIADOU i wsp. 2000a,b].

Do roślin wykazujących właściwości przeciworobacze zaliczane są m.in.: czosnek (*Allium sativum*), dynia piżmowa (*Cucurbita moschata*), palma kokosowa (*Cocos nucifera* L.), bylica piołun (*Artemisia absinthium*), orzech czarny (*Juglans nigra*), dynia zwyczajna (*Cucurbita pepo*), bylica pospolita (*Artemisia vulgaris*), koper włoski (*Foeniculum vulgare*), hyzop lekarski (*Hyssopus officinalis*) czy też macierzanka tymianek (*Thymus vulgaris*) [BENKSY i GAMBLE 1993, BURKE i wsp. 2009a, MARIE-MAGDELEINE i wsp. 2009, OLIVEIRA i wsp. 2009]. Wymienione gatunki wykazują zróżnicowany poziom aktywności przeciwko nicieniom, a także innym pasożytom zarówno u ludzi jak i zwierząt [WALLER i wsp. 2001, EL SHENAWY i wsp. 2008].

Biologiczna kontrola pasożytów jelitowych jest metodą wykorzystującą naturalnie występujące w środowisku grzyby, które atakują nicienie, stanowiące dla nich źródło składników pokarmowych [MOTA i wsp. 2003, ARAÚJO i wsp. 2008]. Ideą biologicznej walki z pasożytami jest znalezienie odpowiedniego gatunku grzyba, którego spory przejdą przez przewód pokarmowy zwierząt w niezmięnionej postaci, a następnie będą zdolne kiełkować w odchodach, a także atakować i eliminować rozwijające się w nich larwy. Dodatkowo, grzyb taki powinien być tani w produkcji, łatwy w użyciu i bezpieczny dla zwierząt [LLERANDI-JUÀREZ i MENDOGA-DE GIVES 1998, CHANDRAWATHANI i wsp. 2002]. Gatunek *Duddingtonia flagrans* wydaje się spełniać stawiane wymagania. Skuteczność nicieniobójcza *D. flagrans* została już sprawdzona na wszystkich kontynentach. Dotychczasowe badania prowadzono jednak głównie na owcach, u których problemy natury pasożytniczej, wyraźniej niżeli u innych grup zwierząt, przekładają się na ekonomikę produkcji. W dostępnej literaturze występują także doniesienia dotyczące skuteczności *D. flagrans*, w profilaktyce zwalczania nicieni u koni [FERNÁNDEZ i wsp. 1999].

Reasumując, wpływ i rozwój alternatywnych, nefarmakologicznych sposobów ograniczania inwazji pasożytniczych u koni jest bardzo istotny. Szczególnie ma to znaczenie w przypadku słupekowców małych, które występują u koni na całym świecie, a całkowita eliminacja tych pasożytów jest niemożliwa. Wciąż jest niewystarczająca ilość badań

przeprowadzanych bezpośrednio na koniach. Ponadto pracochłonność niektórych zabiegów skłania hodowców do sięgania po łatwe w użyciu, gotowe środki przeciwwrobacze.

Cele pracy

Ocena skuteczności alternatywnych do farmakologicznych metod ograniczających inwazje Strongylidae u koni poprzez zastosowanie kwaterowego systemu wypasu oraz aplikację dodatków paszowych w postaci czosnku granulowanego firmy Champion oraz preparatu aloesowego Aloe Vera Trunk firmy cdvet u koni w stadninach w warunkach chowu alkierzowo-pastwiskowego.

Określenie procentowego udziału słupkowców małych (Cyathostominae) i słupkowców dużych (Strongylinae) otrzymanych w wyniku hodowli larw po zastosowaniu wypasu kwaterowego oraz aplikacji wymienionych dodatków paszowych.

Ocena skuteczności trzech naturalnych preparatów o potencjalnych właściwościach przeciwwrobaczych: Verm-X, Contra Wurm, Worm-Stop zastosowanych u koni w stadninie i ośrodku jeździeckim.

Teren badań

Badania prowadzono w gospodarstwie agroturystycznym (GA) oraz trzech stadninach koni (SK) zlokalizowanych w województwie opolskim: SK „Moszna”, SK „Kalinówka” oraz lubuskim: SK „Capriola”, GA „U Jasinka”. W każdym z obiektów regularnie przeprowadzane były zabiegi przeciwwrobacze z użyciem preparatów farmakologicznych, a konie utrzymywano systemem alkierzowo-pastwiskowym. Struktura płci we wszystkich obiektach była wyrównana natomiast struktura wiekowa była zróżnicowana w zależności od stadniny.

Materiał i metody

W trakcie całego okresu badawczego, tj. od 2010r. do 2012r. wykonano łącznie sześć doświadczeń w czterech różnych stadninach koni. W każdym eksperymencie materiał badawczy stanowiły około 10 gramowe próby kałowe, które pobierano do oznakowanych plastikowych pojemników. Materiał kałowy od koni pozyskiwano bezpośrednio ze ściółki zaraz po jego wydaleniu, unikając tym samym zanieczyszczenia kału larwami i jajami nicieni saprofitycznych. Próby do badań pobierane były zawsze w godzinach rannych co umożliwiała przeprowadzenie analiz laboratoryjnych pozyskanego materiału tego samego dnia. Materiał biologiczny transportowany był do laboratorium w specjalnych lodówkach turystycznych zapewniających dostatecznie niską temperaturę, opóźniającą rozwój larw Strongylidae.

Preparat czosnkowy firmy Champion

Eksperyment z użyciem preparatu czosnkowego przeprowadzono w okresie od 31.07.2010r. do 13.11.2010r. w SK „Moszna”, w miejscowości Wawrzyńcowice. Preparat występował w formie sypkiej i podawany był wraz z paszą w dawce 15 g na każde 100 kg masy ciała konia na dzień. W trakcie całego doświadczenia próby kałowe były pobierane sześciokrotnie, co 2–3 tygodnie i łącznie wykonano 180 analiz koproskopowych.

Kwaterowy wypas koni

Oceny skuteczność kwaterowego wypasu koni dokonano w SK „Kalinówka” w okresie od 09.04.2011r. do 30.06.2011r. Grupa kontrolna korzystała z pastwiska, które użytkowała niezmiennie przez cały okres eksperymentu, natomiast grupa doświadczalna wypas rozpoczęła na kwaterze nr 1 (12.04.2011r.), następnie konie zmieniały kwatery kolejno w dniach 11.05.2011r. i 10.06.2011r. Materiał badawczy od koni z grupy doświadczalnej i kontrolnej pobrany zostały sześciokrotnie i łącznie zbadano 138 prób kałowych.

Preparat aloesowy Aloe Vera Trunk firmy cdVet

Wpływ aloesowego preparatu na poziom inwazji Strongylidae zbadano w SK „Capriola” w okresie od 26.05.2012r. do 19.08.2012r. Preparat występujący w postaci płynnej mieszany był z owsem i podawany w dawce 15 ml na jednego konia na dzień. Materiał biologiczny pobrany został sześciokrotnie i łącznie przeanalizowano 156 prób kałowych.

Naturalne preparaty o potencjalnych właściwościach przeciwrobaczych: Worm-Stop, Contra Wurm, Verm-X

Doświadczenie z udziałem preparatu Worm-Stop i Contra Wurm przeprowadzone zostało w SK „Moszna”, natomiast skuteczność środka Verm-X sprawdzono w GA „U Jasinka”.

Preparat Worm-Stop firmy FM Italia występujący w formie pasty aplikowano dorosłym osobnikom w dawce 40 g, co stanowiło zawartość całej tuby. W trakcie trwania doświadczenia materiał biologiczny pobierany był dwukrotnie i łącznie przebadano 30 prób kałowych.

Środek Contra Wurm podawano koniom przez dwa dni (08 i 09.12.2011r.) w dawce 12,5 g na konia na dzień, a następnie kurację powtórzono po 10 dniach (19 i 20.12.2011r.). Ponieważ dodatek występuje w formie sypkiej podawany był zwierzętom po zmieszaniu z owsem. Łącznie w czasie dwukrotnego pobrania materiału biologicznego przeanalizowano 30 prób kałowych.

Dodatek Verm-X aplikowany był przez pięć kolejnych dni w dawce 10 g na konia. Preparat występuje w formie sypkiej dlatego mieszano go wraz z paszą treściwą. W trakcie doświadczenia próby pobierano dwukrotnie i łącznie wykonano 28 analiz koproskopowych.

Metody badania kału i hodowla larw inwazyjnych

Próby kałowe pozyskane od koni w ciągu całego okresu badawczego, tj. od 2010r. do 2012r., zarówno od grupy kontrolnej jak i doświadczalnej, poddano badaniom prowadzonym metodami koproskopowymi:

A. Ilościowa metoda koproskopowa McMastera – umożliwiająca określenie stopnia zarobaczenia zwierząt, poprzez oszacowanie ilości jaj w 1 gramie kału (EPG-Eggs Per Gram).

B. Hodowla i izolacja larw słupkowców metodą Baermanna – bazująca na stworzeniu odpowiednich warunków środowiskowych, umożliwiających wyhodowanie inwazyjnych larw stadium L₃, następnie ich wyizolowanie oraz identyfikację.

Analiza parazytologiczna

Celem określenia poziomu zarażenia słupekowcami badanych koni posłużono się następującymi wskaźnikami parazytologicznymi [ZŁOTORZYCKA i wsp. 1998]:

- Ekstensywność (=prewalencja) zarażenia (%) – rozumiana jako stosunek liczby prób zainfekowanych do ogólnej liczby badanych prób.
- Średnia liczba jaj w badanych próbach – rozumiana jako średnia liczba jaj w 1 gramie kału (EPG) określona metodą McMastera.
- Zakres intensywności – rozumiany jako najmniejsza i największa liczba jaj stwierdzona w pojedynczej badanej próbce kałowej.

Analiza statystyczna

Do oszacowania poziomu istotności różnic otrzymanych w porównywanych grupach badawczych zastosowano nieparametryczne testy U-Manna-Whitneya, Kruskala-Wallisa oraz Wilcoxon. Normalność rozkładu zbadano za pomocą testu W Shapiro-Wilka. W testach statystycznych przyjęto poziom istotności $\leq 0,05$. Wszelkich obliczeń dokonano przy użyciu pakietu Statistica 10.0 PL.

Wyniki

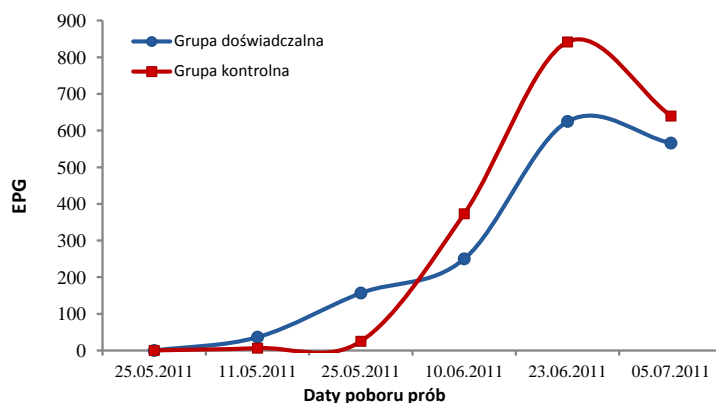
Wyniki przeprowadzonych badań dowiodły, iż konie w każdej stadninie, uczestniczącej w eksperymencie, dotknięte były inwazją nicieni jelitowych z rodziny Strongylidae. Wyhodowane larwy oznaczono do poziomu podrodziny Cyathostominae (słupekowce małe) i Strongylineae (słupekowce duże), a w przypadku słupekowców dużych stadium inwazyjne określono do poziomu rodzaju *Strongylus*.

Ocena wpływu zabiegów pastwiskowych na wskaźniki inwazji Strongylidae

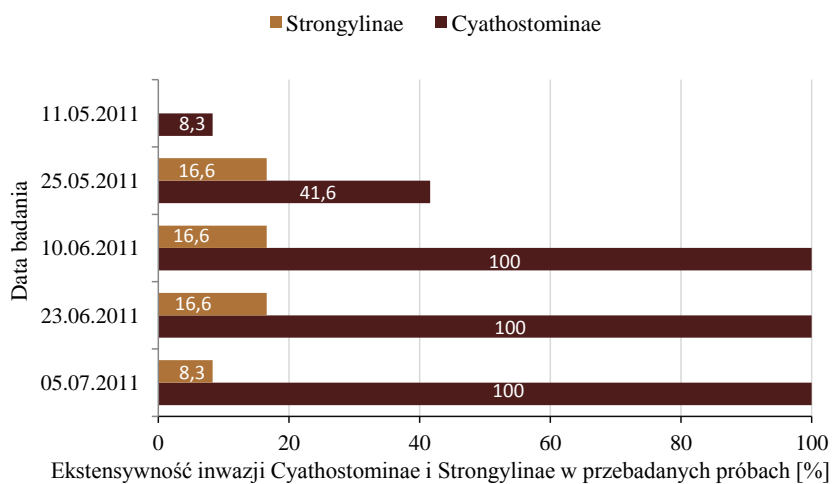
W SK „Kalinówka” przeprowadzono doświadczenie, którego celem była ocena wpływu kwaterowego wypasu koni na poziom zarażenia nicieniami z rodziny Strongylidae. Aby ocenić czy zwierzęta przydzielone do obu grup badawczych wykazywały zbliżony poziom zarażenia słupekowcami, wartości EPG, uzyskane z analiz laboratoryjnych wykonanych przed odrobaczeniem koni, porównano testem statystycznym U-Manna-Whitneya ($Z = 0,61, p < 0,950$).

Uzyskane w doświadczeniu wyniki wykazały, iż poziom zarażenia słupekowcami w grupie doświadczalnej był niższy w porównaniu do grupy kontrolnej przez cały okres trwania eksperymentu z wyjątkiem prób z dnia 11.05.2011r. i 25.05.2011r. (Ryc. 1). Analizując zmiany średnich wartości EPG w obu grupach badawczych w trakcie trwania całego doświadczenia, odnotowano stopniowy ich wzrost, co zostało potwierdzone testem Kruskala-Wallisa. Istotne różnice wykazano zarówno w grupie doświadczalnej ($H = 32,293, p < 0,001$) jak i kontrolnej ($H = 36,926, p < 0,001$).

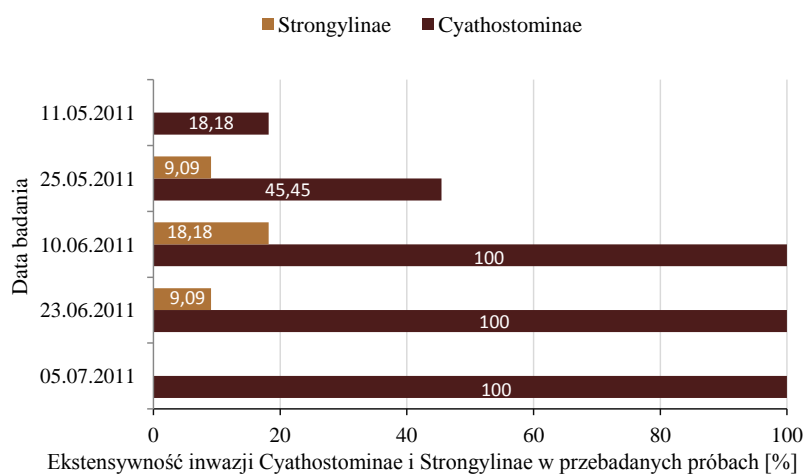
Celem określenia przynależności słupekowców pochodzących z badanych prób do podrodziny Cyathostominae i Strongylineae, wykonano hodowlę oraz izolację larw metodą Baermanna, a następnie ich identyfikację. Spośród wszystkich 138 przeprowadzonych hodowli, w 56 próbach nie wykryto obecności larw słupekowców, natomiast ekstensywność wyhodowanych stadiów inwazyjnych wynosiła 59,4%. Zidentyfikowano głównie larwy słupekowców małych oraz kilka larw słupekowców dużych z rodzaju *Strongylus* (Ryc. 2, 3).



Ryc. 1. Zmienność średniej liczby jaj słupekowców w gramie kawy (EPG) w trakcie doświadczenia dotyczącego kwatrowego wypasu koni



Ryc. 21. Ekstensywność inwazji wyizolowanych larw Cyathostominae i Strongyloinae w grupie kontrolnej koni z SK „Kalinówka”



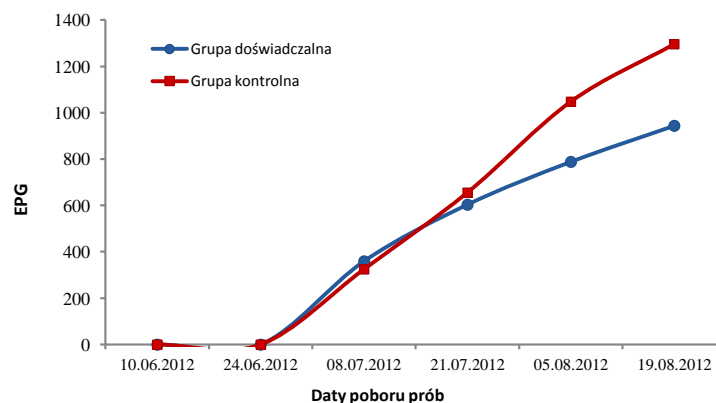
Ryc.3. Ekstensywność inwazji wyizolowanych larw Cyathostominae i Strongyloinae w grupie doświadczalnej z SK „Kalinówka”

Ocena wpływu preparatu aloesowego Aloe Vera Trunk na wskaźniki inwazji Strongylidae

Kolejne doświadczenie mające na celu ocenę wpływu preparatu aloesowego na poziom inwazji Strongylidae przeprowadzono w SK „Capriola”. Analogicznie jak we wcześniejszym doświadczeniu, celem sprawdzenia czy poziom zarażenia słupekowcami w obu grupach był wyrównany, wartości EPG uzyskane przed odrobaczeniem koni porównano testem statystycznym U-Manna-Whitneya. Wynik testu nie potwierdził istotności odnotowanych różnic ($Z = 0,307, p < 0,758$).

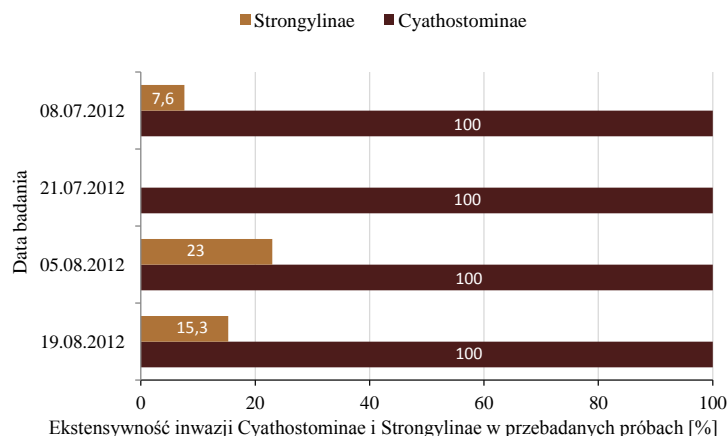
W trakcie trwania eksperymentu odnotowano wyraźną tendencję wzrostową średnich wartości EPG w obu grupach badawczych, co zostało potwierdzone testem statystycznym Kruskala-Wallisa. Wartość współczynnika p w grupie doświadczalnej ($H = 45,540, p < 0,001$) i kontrolnej ($H = 49,876, p < 0,001$) potwierdziła istotność odnotowanych różnic.

Poziom zróżnicowania wartości EPG obu stad uzależniony był od terminu badań co obrazuje Rycina 4, na której zauważalny jest spadek poziomu inwazji Strongylidae w próbach doświadczalnych w odniesieniu do prób kontrolnych w trzech ostatnich pobraniach materiału badawczego.

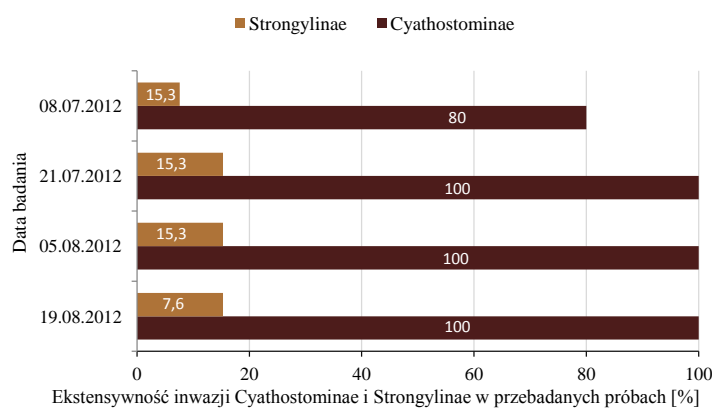


Ryc.4. Zmienność średniej liczby jaj słupekowców w gramie kału (EPG) po zastosowaniu dodatku Aloe Vera Trunk

W trakcie całego doświadczenia wyizolowano przede wszystkim larwy należące do podrodziny Cyathostominae oraz kilka sztuk larw z podrodziny Strongylinae, rodzaju *Strongylus*. Proporcje słupekowców małych i dużych w trakcie trwania eksperymentu były zbliżone w obu stadach (Ryc. 5, 6).



Ryc. 5. Ekstensywność inwazji wyizolowanych larw Cyathostominae i Strongylinae w grupie kontrolnej koni z SK „Capriola”



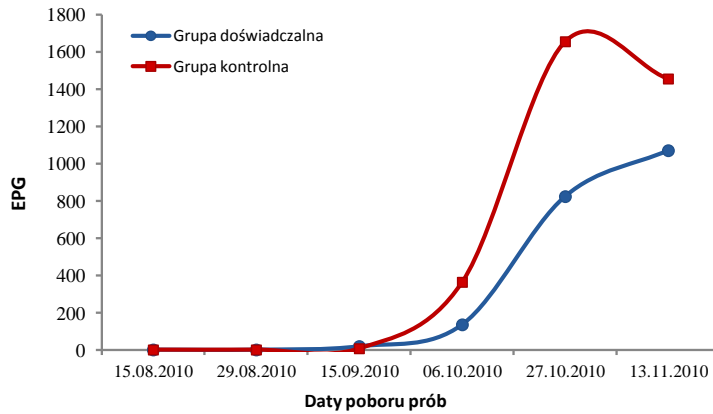
Ryc.6. Ekstensywność inwazji wyizolowanych larw Cyathostominae i Strongylinae w grupie doświadczalnej koni z SK „Capriola”

Wpływ preparatu czosnkowego na wskaźniki inwazji Strongylidae

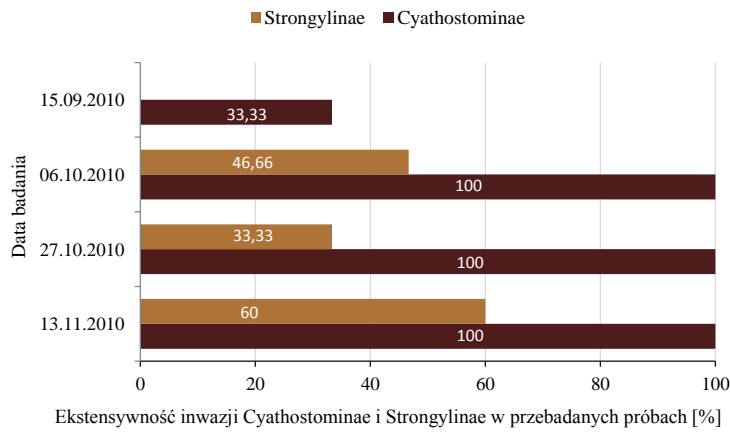
Doświadczenie z zastosowaniem naturalnego dodatku paszowego jakim jest czosnek granulowany zostało przeprowadzone w SK „Moszna”. Rezultaty zastosowanego dodatku czosnkowego przedstawiono na Rycinie 7. Niemal przez cały okres trwania eksperymentu grupa doświadczalna wykazywała niższy poziom zarażenia słupekowcami (Strongylidae) w porównaniu do grupy kontrolnej, gdzie średnia zawartość jaj w gramie kału była z reguły wyższa.

W obu stadach biorących udział w doświadczeniu odnotowano wzrost liczby jaj w gramie kału. Jak widać na Ryc. 7 wartości między dwoma grupami nie zwiększały się proporcjonalnie, jednak w obrębie każdej z grup odnotowane różnice zostały potwierdzone testem Kruskala-Wallisa (grupa doświadczalna $H = 59,936$, $p < 0,001$, grupa kontrolna $H = 62,194$, $p < 0,001$).

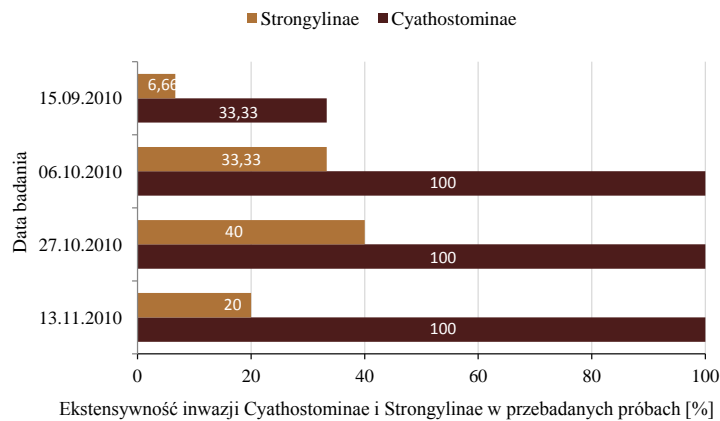
Wyizolowane w trakcie doświadczenia larwy zostały przyporządkowane do podrodzin Cyathostominae oraz Strongylinae, a w przypadku słupekowców dużych przypisano je do rodzaju *Strongylus*. Stosunek procentowy larw Strongylinae nie był wyrównany między grupami badawczymi (Ryc. 8, 9).



Ryc. 72. Zmienność średniej liczby jaj słupkowców w gramie kału (EPG) po zastosowaniu preparatu czosnkowego



Ryc. 8. Ekstensywność inwazji wyizolowanych larw Cyathostominae i Strongyloinae w grupie kontrolnej koni z SK „Moszna”



Ryc. 9. Ekstensywność inwazji wyizolowanych larw Cyathostominae i Strongyloinae w grupie doświadczalnej koni z SK „Moszna”

Ocena wpływu naturalnych preparatów o potencjalnych właściwościach przeciworobaczych na wskaźniki inwazji Strongylidae

Rezultaty przeprowadzonych badań okazały się bardzo zróżnicowane, a otrzymane w doświadczeniach wyniki poddano analizom z wykorzystaniem nieparametrycznego testu statystycznego Wilcoxon dla dwóch równolicznych próbek.

W każdym z trzech doświadczeń wykorzystano konie, u których poziom zarażenia przed podaniem naturalnego preparatu stanowił wartości kontrolne, natomiast wartości doświadczalne – średnie EPG uzyskane po podaniu preparatu.

Tabela 1. Średnia liczba jaj Strongylidae w gramie kału (EPG) przed i po aplikacji naturalnych preparatów odrobaczających oraz wyniki testów statystycznych w poszczególnych badaniach

Preparat	Termin	EPG		Istotność różnic (Test Wilcoxon)
		Średnie \pm SD	Min.–max.	
Worm-Stop	Przed podaniem	491,7 \pm 542,4	25–2175	$Z = 0,627$
	Po podaniu	581,7 \pm 546,8	75–1950	$p < 0,530$
Contra Wurm	Przed podaniem	991,7 \pm 413,7	50–1600	$Z = 0,965$
	Po podaniu	908,3 \pm 565,4	125–2025	$p < 0,334$
Verm-X	Przed podaniem	1291,1 \pm 940,6	75–2925	$Z = 2,793$
	Po podaniu	867,9 \pm 732,2	100–2550	$p < 0,005$

U dwóch niezależnych grup koni ze SK „Moszna” sprawdzona została skuteczność preparatu Worm-Stop oraz Contra Wurm.

Jako pierwszy zaaplikowany został środek Worm-stop, w sposób zgodny z zaleceniami producenta. Poziom zarażenie przed podaniem środka przeciworobaczego był niższy w odniesieniu do wartości EPG uzyskanych po jego aplikacji i wynosił odpowiednio 491,7 i 581,7 jaj w gramie kału ($Z = 0,627$, $p < 0,530$) (Tabela 1).

W kolejnym doświadczeniu ocenie poddano skuteczność preparatu Contra Wurm firmy cdVet. Wyniki badań uzyskane po zastosowaniu naturalnego preparatu wykazały niewielki spadek poziomu zarażenia słupkowcami (Strongylidae). Przed aplikacją preparatu, średnia ilość jaj w gramie kału badanych zwierząt wynosiła 991,7, natomiast dwa tygodnie po zakończeniu kuracji średnie EPG równe było 908,3 jaj (Tabela 1).

Jako ostatni przebadano ziołowy środek odrobaczający Verm-X. Uzyskane w doświadczeniu wyniki okazały się być najbardziej satysfakcjonujące w odniesieniu do dwóch innych preparatów. Jak wynika z Tabeli 1 średnia ilość jaj w gramie kału koni, uzyskana przed aplikacją naturalnego środka, znacznie przewyższała wartości EPG otrzymane po zastosowaniu preparatu Verm-X i wynosiły odpowiednio 1291,1 (\pm 940,6) oraz 867,9 (\pm 732,2). Także maksymalna liczba jaj w kale jaką odnotowano po kuracji przeciworobaczej (2550) była mniejsza od maksymalnych wartości EPG uzyskanych przed aplikacją preparatu (2925).

Dyskusja

Analiza wpływu zabiegów pastwiskowych na poziom inwazji pasożytniczych

W literaturze naukowej pojawiają się liczne uwagi dotyczące właściwych zabiegów na pastwisku jako skutecznej metody wspomagającej obniżenie poziomu inwazji

pasożytniczych. LYONS i wsp. [1999] zachęcają do stosowania kwaterowego wypasu koni, który może przyczynić się do zmniejszenia występowania pasożytów u zwierząt. Oczekiwane korzyści uwarunkowane są odpowiednio długimi, kilku miesięcznymi przerwami między kolejnymi wypasami na danej kwaterze. W przypadku koni z uwagi na sezonowy rozwój larw słupkowców oraz ich odporność na warunki środowiskowe, z epidemiologicznego punktu widzenia wiosną pastwisko jest bezpieczne dla tego gatunku zwierząt, o ile nie było intensywnie użytkowane w poprzednim sezonie [GAWOR 2000]. W przeprowadzonych badaniach grupa doświadczalna po podaniu preparatu farmakologicznego przeniesiona została na pastwisko, które nie było użytkowane przez cały okres zimowy. Następnie, po czterech tygodniach zwierzęta zmieniały kwaterę, zanim z wydalonych jaj wylęły się larwy, przekształciły w stadium inwazyjne i w znacznym stopniu zanieczyściły pastwisko.

W krajach Beneluksu największy poziom zakażenia pastwiska pasożytami obserwuje się w połowie lata [MIRCK 1981]. Według EYSKER i wsp. [1983] przeniesienie koni przed tym okresem na czyste pastwisko, w połączeniu z zastosowaniem preparatów odrobaczających powinno ochronić zwierzęta przed rozwojem robaczyc przewodu pokarmowego. Autorzy zalecają także wypas koni na pastwisku wcześniej użytkowanym przez owce. Zabieg ten ma gwarantować koniom czysty i bezpieczny teren do wypasu, z wyjątkiem sytuacji gdy przeżuwacze zanieczyszczą ruń gatunkiem *Trichostrongylus axei*, który sporadycznie może powodować niezbyt żołądka u koniowatych.

Doświadczenie przeprowadzone przez LINDGREN i wsp. [2008] dotyczyło obecności w glebie jaj *Parascaris equorum*, w zależności od stopnia użytkowania pastwiska przez konie. Wyniki analiz dowiodły, iż w próbach glebowych kwatery, która użytkowana była wyłącznie przejściowo do wypasu źrebiąt, nie zidentyfikowano jaj glisty końskiej, w odróżnieniu do kwatery, która wypasana była przez cały rok, zarówno przez źrebięta jak i ich matki. Wyniki badań LINDGREN i wsp. [2008] w znacznym stopniu korespondują z wynikami badań własnych, gdyż konie, które korzystały niezmiennie z jednego pastwiska wykazywały wyższy poziom zarażenia Strongylidae w odróżnieniu do osobników, które zmieniały kwatery wypasu średnio co 3 tygodnie. U tych zwierząt odnotowano niższe wartości EPG.

Preparat aloesowy Aloe Vera Trunk firmy cdVet

Aloes jest rośliną bogatą w liczne antyoksydanty, we wszystkie witaminy z grupy B, łącznie z witaminą B12, a także liczne związki mineralne. Wśród aktywnych składników aloesu zwyczajnego znajdują się m.in. mukopolisacharydy, do których należy acemannan. Jest on jednym z najsilniejszych immunomodulatorów pochodzenia roślinnego. Wpływa na pobudzenie układu odpornościowego poprzez stymulację produkcji makrofagów i zwiększenie aktywności limfocytów T o ponad 50%. Acemannan powoduje wzrost produkcji interferonu i interleukin wspomagających zwalczanie wirusów, bakterii i komórek nowotworowych, a także pasożytów i grzybów [SENTHILNATHAN 2012]. W badaniach przeprowadzonych z udziałem koni acemannan wykazał antynowotworowe właściwości przeciwdziałając rozwojowi sarkoidozy [MCANALEY i wsp. 1988].

Zastosowany w badaniach suplement diety, jakim jest preparat Aloe Vera Trunk okazał się mieć wpływ na poziom inwazji nicieni jelitowych u koni. Według VAN DER MERWE i wsp. [2001] gatunki *Aloe greatheadii* var. *davyana* i *Aloe zebrina* wykazują

zdolności zwalczające pasożyty wewnętrzne, jak również gatunek *Aloe tenuior* [DOLD i COCKS 2001]. GREEN [1996] w swoich badaniach poddał ocenie wpływ aplikowanego aloesowego preparatu w formie żelu, na zwiększenie udziału białych krwinek w organizmie koni, u których stwierdzono leukopenię i stan depresyjny. W efekcie, zwierzęta zareagowały pomyślnie na stosowany preparat wykazując wzrost poziomu leukocytów oraz większą witalność i odporność na wysiłek. Porównanie wyników uzyskanych w badaniach własnych z rezultatami doświadczeń innych autorów jest niemożliwe z uwagi na brak doniesień naukowych, dotyczących przeciwpasożytniczego działania gatunku *Aloe vera*. Zastosowany w eksperymencie preparat aloesowy okazał się mieć duży wpływ na obniżenie poziomu inwazji słupkowców u koni, natomiast na podstawie jednego doświadczenia nie można w sposób jednoznaczny stwierdzić, że obniżenie poziomu inwazji Strongylidae było wynikiem wzmocnienia odpowiedzi immunologicznej zwierząt na skutek podawanego preparatu. Wyszucie takiego wniosku wymagałoby poparcia wynikami dalszych badań, co umożliwiłoby dokładniejszą ocenę skuteczności tej rośliny.

Preparat czosnkowy firmy Champion

Czosnek pospolity (*Allium sativum*) jest powszechną i najczęściej stosowaną rośliną, która zarówno w postaci świeżej, sproszkowanej lub oleistej jest wysoce skuteczna w zwalczaniu bakterii, wirusów, grzybów i pasożytów na całym świecie [GONCAGUL i AYZAZ 2010]. W badaniach przeprowadzonych przez SUTTON i HAIK [1999], autorzy ocenili skuteczność stosowanego czosnku w zwalczaniu nicieni z rodziny Strongylidae u osłów. Mimo iż między grupą kontrolną a otrzymującą czosnek otrzymane różnice nie zostały potwierdzone statystycznie, widoczny był spadek poziomu wartości EPG u kilku osobników, którym aplikowano dodatek. W badaniach BURKE i wsp. [2009b] skuteczność *Allium sativum* w zwalczaniu gatunku *Haemonchus contortus*, powszechnie występującego u przeżuwaczy, nie została potwierdzona. Zarówno aplikacja całych ząbków czosnku jak i wyciskanego soku z tej rośliny, nie wpłynęły na obniżenie poziomu gatunku nicienia u badanych owiec i kóz.

W badaniach własnych, oceniających wpływ *Allium sativum* na poziom inwazji Strongylidae u koni, wykorzystano granulowany preparat czosnkowy przeznaczony dla tego gatunku zwierząt. Według SINGH i SINGH [1996] substancja czynna tej rośliny, czyli allicyna, występuje także w suchym sproszkowanym czosnku. Zastosowany dodatek pomyślnie wpłynął na obniżenie poziomu inwazji Strongylidae, a uzyskane w ostatnim pobraniu prób mniejsze różnice mogły wynikać z innych czynników niż stosowany preparat. Wątpliwości rozstrzygnęłyby kolejne wyniki badań jednak, ze względów zdrowotnych, zaleca się stosowanie czosnku w okresie nie dłuższym niż trzy miesiące, a następnie należy zrobić przerwę w jego aplikacji [UMAR i wsp. 1998, CAREY i LAMPRECHT 2008]. U koni bowiem *A. sativum* może powodować rozrzedzenie krwi doprowadzając do aglutynacji jej płytek [JOSLING 2000].

Ograniczenie poziomu inwazji pasożytniczych w organizmie gospodarza może wynikać z wysokiej zawartości tanin w czosnku, wpływających na upośledzenie funkcji fizjologicznych pasożyta jak ruchliwość, wchłanianie pokarmu czy procesy reprodukcyjne [MASAMHA i wsp. 2010]. Według DUVAL [2004] *A. sativum* zapobiega rozwojowi larw z jaj, co skutkuje niższym poziomem inwazyjnych stadiów na pastwisku, a to w konsekwencji przekłada się na mniejszy udział pasożytów w organizmie zwierząt. W badaniach własnych

obie grupy badawcze korzystały z tych samych pastwisk, więc ewentualna redukcja larw na pastwisku na skutek działania czosnku przyczyniłaby się do obniżenia poziomu zarażenia u wszystkich koni, natomiast spadek wartości EPG zaobserwowano wyłącznie w grupie doświadczalnej.

Według MASAMHA i wsp. [2010] *A. sativum* zdaje się nie wykazywać długotrwałego działania, stąd też wymaga ciągłego podawania, dlatego zalecany jest jako homeopatyczny lek profilaktyczny. Zdaniem DUVAL [2004] rośliny wykazujące wysoką zawartość substancji pasożytoobójczych mogą mieć krótkotrwały efekt działania stąd też powinny być używane w celach prewencyjnych. MASAMHA i wsp. [2010] uważają, że czosnek, może być także wykorzystywany w mieszankach ziołowych, które mogą wykazać szersze spektrum działania.

Analiza skuteczności naturalnych preparatów o potencjalnych właściwościach przeciworobaczych dla koni

Mimo, iż obecnie preparaty farmakologiczne są głównym sposobem zwalczania pasożytów, w ogólnej sprzedaży dostępne są gotowe, naturalne preparaty o potencjalnych właściwościach przeciworobaczych, których komponentami są mieszanki różnych ziół i roślin. W badaniach własnych ocenie poddano trzy preparaty: Contra Wurm, Worm-stop oraz Verm-X.

Preparat Worm-Stop

W wyniku przeprowadzonych analiz wykazano, że środek Worm-Stop nie odznaczył się skutecznością w zwalczaniu nicieni jelitowych u koni. Wśród komponentów preparatu można znaleźć składniki, którym przypisuje się właściwości pasożytoobójcze, jak choćby czosnek czy ekstrakt z aloesu, grejpfruta i papai. Badania WAGHORN'A i wsp. [2006] wykazały skuteczność ekstraktu z pestek grejpfruta w zwalczaniu gatunku *Trichostrongylus colubriformis* u owiec, natomiast doświadczenie HOUNZANGBE-ADOTE i wsp. [2005] dowiodło efektywności alkoholowego ekstraktu z *Carica papaya* w zwalczaniu nicienia *Haemonchus contortus*, jednakże w badaniach BURKE i wsp. [2009b] zastosowane pestki papai okazały się nieskuteczne w zwalczaniu tego gatunku pasożyta. Mimo, że odrębne badania potwierdzają efektywności niektórych składników preparatu Worm-stop w zwalczaniu pasożytów u różnych gatunków zwierząt, jako komponenty użytej w doświadczeniu mieszanki okazały się nie mieć wpływu na redukcję inwazji pasożytniczych u koni. Brak odrębnych doniesień dotyczących działania środka Worm-Stop uniemożliwia analizę uzyskanych wyników.

Preparat Contra Wurm

Kolejny preparat – Contra Wurm, wykazał bardzo ograniczoną skuteczność w porównaniu do środka Worm-Stop. Wszelkie rozważania dotyczące skuteczności środka są mocno zawężone, z uwagi na brak dokładniejszych informacji dotyczących składu tego dodatku. Dane producenta, ograniczające się do stwierdzenia, że preparat jest mieszanką ziół i ekstraktów wielu warzyw, są niewystarczająco precyzyjne. Podobnie jak w przypadku środka Worm-stop nie odnotowano w literaturze naukowej żadnych badań z udziałem tego preparatu.

Preparat Verm-X

Największe efekty w przeprowadzonych badaniach odnotowano dla preparatu Verm-X, który spowodował spadek średniej ilości jaj w gramie kału z poziomu 1291,1 do poziomu 867,9 jaj. Badania SQUIRES i wsp. [2012], w których poddano ocenie wpływ preparatu Verm-X przeznaczonego dla drobiu, okazały się nie być tak satysfakcjonujące jak badania własne. Mimo, że skład preparatów był zbliżony, w przypadku drobiu środek ten okazał się nie być skuteczny. Wśród komponentów preparatu Verm-X przeznaczonego dla koni wyróżnia się czosnek, miętę pieprzową, tymianek, cynamon, gorzle właściwą, wrotycz pospolity, koper, przytulię czepną, pokrzywę, wiaź oraz oman wielki. Właściwą ocenę skuteczności preparatu Verm-X przeznaczonego dla koni, uniemożliwia brak dostępnych wyników badań uzyskanych po zastosowaniu tego preparatu.

Wyniki uzyskane w badaniach własnych były zróżnicowane w zależności od doświadczenia. Mimo, że właściwe zabiegi pastwiskowe jak i zastosowane w doświadczeniach naturalne dodatki okazały się nie być na tyle skuteczne by mogły w pełni zastąpić farmakologiczne preparaty przeciworobacze, to jednak były na tyle efektywne, iż powinny być stosowane zarówno jako terapia prewencyjna jak i uzupełniająca przy tradycyjnym leczeniu farmakologicznym. Jest to ważne, gdyż przy inwazjach pasożytniczych nicieniami Cyathostominae skuteczność zastosowanych preparatów farmakologicznych utrzymuje się bardzo krótko i po kilku tygodniach pojawiają się w kale kolejne jaja słupkowców. Stosowanie alternatywnych do farmakologicznych metod zwalczania pasożytów może przyczynić do spowolnienia wzrostu inwazji pasożytniczej u koni, a tym samym do rzadszego stosowania chemicznych środków odrobaczających.

Podsumowanie

1. Przeprowadzone doświadczenia dotyczyły oceny skuteczności niefarmakologicznych metod zwalczania inwazji nicieni jelitowych z rodziny Strongylidae u koni.
2. Analizom koproskopowym poddano łącznie 562 próby kałowe pochodzące od 79 koni oraz wykonano 474 hodowle larw przy zastosowaniu metody Baermanna.
3. W wyniku przeprowadzonych badań wyizolowano jaja i larwy nicieni należących do rodziny Strongylidae, w tym podrodzin Cyathostominae oraz Strongylineae.
4. W doświadczeniu dotyczącym kwaterowego wypasu koni uzyskano redukcję średnich wartości EPG w grupie doświadczalnej w stosunku do grupy kontrolnej, a maksymalny spadek średniej liczby jaj wynosił 216,1. W obu grupach badawczych wyizolowano przede wszystkim larwy Cyathostominae jak również pojedyncze larwy Strongylineae z rodzaju *Strongylus*.
5. Eksperyment z udziałem preparatu aloesowego Aloe Vera Trunk dowiódł zmniejszenia średnich ilości jaj w gramie kału u osobników z grupy doświadczalnej, a największą redukcję EPG na poziomie 352 jaj uzyskano w końcowym etapie eksperymentu. Przeprowadzona hodowla larw wykazała, że w obu grupach słupkowce małe stanowiły dominującą grupę Strongylidae, natomiast słupkowce duże występowały w znacznie mniejszych ilościach u wszystkich osobników biorących udział w doświadczeniu.
6. Zastosowany preparat czosnkowy wpłynął na obniżenie wskaźników parazytologicznych u koni otrzymujących dodatek. Wyniki uzyskane w przedostatnim pobraniu zostały

potwierdzone statystycznie ($p < 0,021$), bowiem w grupie doświadczalnej średnie wartości EPG wynosiły 823,3 jaj, natomiast w grupie kontrolnej 1655,0. Wśród wyizolowanych larw zidentyfikowano przede wszystkim przedstawicieli Cyathostiminae oraz dodatkowo osobniki z rodzaju *Strongylus*. W odróżnieniu do wcześniejszych doświadczeń, słupkowce duże występowały w większej ilości u zwierząt zakwalifikowanych do badań.

7. Analiza skuteczności zastosowanych naturalnych preparatów odrobaczających u koni wykazała zróżnicowane efekty. Preparat Worm-stop okazał się nieskuteczny. Środek Contra Wurm w małym stopniu wpłynął na obniżenie poziomu inwazji Strongylidae u badanych osobników, natomiast po zastosowaniu preparatu Verm-X odnotowano najlepsze rezultaty przekładające się na obniżenie poziomu zarażenia Strongylidae wśród badanych koni, a istotność otrzymanych różnic została potwierdzona testem Wilcoxon.

Wnioski

1. Zarówno kwaterowy wypas koni jak i dodatki paszowe w postaci preparatu czosnkowego i aloesowego wykazały korzystny wpływ na obniżenie inwazji Strongylidae u badanych koni, zatem powinny być stosowane jako terapia prewencyjna i uzupełniająca przy tradycyjnym leczeniu farmakologicznym, co w konsekwencji może przyczynić się do rzadszego stosowania preparatów chemicznych.
2. Wśród naturalnych preparatów odrobaczających tylko Verm-X okazał się mieć największy wpływ na ograniczenie inwazji słupkowców, zatem preparat ten może być stosowany zamiennie z chemicznymi preparatami odrobaczającymi, przez co pozwoli obniżyć poziom zarażenia pasożytami i ograniczy częstotliwość stosowania preparatów farmakologicznych.

Życiorys

Pani mgr inż. Ewelina Jagła urodziła się 21 lipca 1984r. w Kluczborku. Jest absolwentką Zespołu Szkół Licealno Technicznych o profilu ekonomiczno-administracyjnym, które ukończyła w 2003r.

W latach 2004-2009 zrealizowała dwustopniowe studia w Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt. Po uzyskaniu w 2008r. tytułu inżyniera w zakresie hodowli zwierząt, Pani Ewelina rozpoczęła studia magisterskie, które zakończyła w 2009r. obroną pracy magisterskiej o tytule „Wpływ systemu utrzymania, fenologii, wieku oraz płci koni na inwazje słupkowców (Strongylidae, Nematoda)”. Jesienią tego samego roku, chcąc kontynuować prace badawcze z zakresu parazytologii koni, Pani magister rozpoczęła studia doktoranckie realizowane również na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt UP we Wrocławiu, w Zakładzie Hodowli Koni i Jeździectwa. W trakcie studiów Doktorantka prowadziła zajęcia dydaktyczne z przedmiotu „Chów i hodowla koni” oraz uczestniczyła we współorganizowanych wyjazdach terenowych.

W dorobku naukowym Pani Eweliny jest 8 oryginalnych publikacji, spośród których w 3 Doktorantka jest pierwszym autorem, a 2 z nich opublikowane zostały w czasopiśmie wyróżnionych w bazie Journal Citation Reports. Ponadto w czasie studiów aktywnie reprezentowała uczelnię na 1 międzynarodowej (7th International Equitation Science Conference, Eindhoven, Netherlands) oraz 4 krajowych konferencjach naukowych i jest współautorką 10 posterów i 1 referatu. Dodatkowo uczestniczyła w międzynarodowych warsztatach „Equine management in Europe” organizowanych w Tuluzie oraz „Pathogens, Parasites and their Hosts: Ecology, molecular interaction and evolution” w Stuttgarcie, gdzie zgłębiała swoją wiedzę z zakresu parazytologii.