UNIVERZA V LJUBLJANI

VETERINARSKA FAKULTETA

MATEJA STVARNIK

SPECIFIČNOSTI MIKROČIPIRANJA PRI GRŠKI IN MAVRSKI KORNJAČI

Magistrska naloga

Ljubljana 2011

Izjava o delu

Izjavljam, da je magistrska naloga rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Ljubljana, 10. december 2010 Mateja Stvarnik

UNIVERZA V LJUBLJANI

VETERINARSKA FAKULTETA

UDK: 598.132.4:636.081.2:654.937:612.12(043.2)

MATEJA STVARNIK

SPECIFIČNOSTI MIKROČIPIRANJA PRI GRŠKI IN MAVRSKI KORNJAČI

Magistrska naloga

Ljubljana 2011

MATEJA STVARNIK

SPECIFIČNOSTI MIKROČIPIRANJA PRI GRŠKI IN MAVRSKI KORNJAČI

DELO JE BILO OPRAVLJENO NA:

VETERINARSKA FAKULTETA V LJUBLJANI
INŠTITUT ZA ZDRAVSTVENO VARSTVO PERUTNINE
Predstojnica: prof. dr. Olga Zorman Rojs

VETERINARSKA FAKULTETA V LJUBLJANI
KLINIKA ZA PREŽVEKOVALCE IN AMBULATORNO KLINIKO
Predstojnica: prof. dr. Martina Klinkon Ogrinec

KMETIJA DULAR
TITOVA CESTA 96,4270 JESENICE
LOKACIJA FARME: ZAPOGE 21, 1217 VODICE

MENTORICA: **prof. dr. Alenka Dovč, dr. vet. med.**

Zagovor je bil opravljen v Ljubljani, dne _____

ČLANI STROKOVNE KOMISIJE: ZA OCENO IN ZAGOVOR:

Predsednik: doc. dr. Joško Račnik, dr. vet. med.
Članica: doc. dr. Alenka Nemec Svete, univ. dipl. ing. kem. ing.
Članica: prof. dr. Ksenija Vlahović, dr. vet. med.



Nalogo posvečam vam najdražji Lana, mama in ate.

VELIČINA NI V TEM, DA NIKOLI NE PADEŠ,

PAČ PA V TEM, DA SE PO PADCU VEDNO ZNOVA POBEREŠ.

(Konfucij)

VSEBINA **STRAN**

IZVLEČEK 1
ABSTRACT 3

1 UVOD 5

2 PODATKI IZ LITERATURE 7
2.1 TAKSONOMIJA 8
2.2 OGROŽENOST ŽELV 9
2.3 MORFOLOŠKE IN FIZIOLOŠKE ZNAČILNOSTI 11
2.3.1 Grška kornjača (*Testudo hermanni* GMELIN, 1789) 11
2.3.1.1 Podvrste grške kornjače 12
2.3.2 Mavrska kornjača (*Testudo graeca* LINNAEUS, 1758) 13
2.3.2.1 Podvrste mavrske kornjače 14
2.3.3 Razlike med grško in mavrsko kornjačo 15
2.3.4 Prehrana 16
2.3.5 Ločevanje spola 17
2.3.6 Reprodukcija 18
2.3.6.1 Reprodukcija grške kornjače 20
2.3.6.2 Reprodukcija mavrske kornjače 22
2.3.7 Hibernacija 23
2.3.8 Anatomske posebnosti želv 25
2.3.8.1 Oklep želv 25
2.3.8.2 Koža 27
2.4 MIKROČIPIRANJE 28
2.4.1 Označevanje živali prosto živečih vrst 29
2.4.1.1 Mikročipi 30
2.4.2 Označevanje želv 31
2.5 BOLEZNI KOPENSKIH ŽELV 32
2.5.1 Klinični pregled 32
2.5.1.1 Odvzem kri 33
2.5.2 Prehrana in posthibernacijska anoreksija 35
2.5.3 Stres 36
2.5.4 Toplotni udar 36
2.5.5 Metabolna bolezen kosti 36
2.5.6 Distocija 38
2.5.7 Poškodbe oklepa 39
2.5.8 Abscesi 39
2.5.9 Bakterijske bolezni 40
2.5.9.1 Infekcija z bakterijami iz rodu *Salmonella* 40
2.5.9.2 Infekcija z bakterijami iz rodu *Pseudomonas* 41
2.5.9.3 Infekcija z bakterijami iz rodu *Staphylococcus* 41
2.5.9.4 Infekcija z mikoplazmami 41
2.5.10 Virusne bolezni 42
2.5.10.1 Infekcije s herpesvirusi 42
2.5.10.2 Infekcije z iridovirusi 42

2.5.11 Glivične infekcije 43
2.5.12 Infestacije s paraziti 43
2.5.12.1 Infestacije z ektoparaziti 43
2.5.12.2 Infestacije z endoparaziti 44

3 MATERIAL IN METODE 49
3.1 FARMA ŽELV V SLOVENIJI 49
3.1.1 Osnovni pogoji reje kornjač 50
3.2 OBSEG NALOGE IN ČASOVNI OKVIR 51
3.2.1 Mikročipiranje 51
3.2.2 Proučevanje mikročipiranja in biokemijskih parametrov pri izbrani skupini želv 54
3.2.3 Statistična obdelava podatkov 56

4 REZULTATI 57
4.1 MIKROČIPIRANJE 57
4.1.1 Način aplikacije mikročipa 57
4.1.2 Zapleti ob aplikaciji mikročipa 58
4.1.2.1 Tehnološke in tehnične težave in napake 58
4.1.2.2 Krvavitve ob aplikaciji 58
4.1.3 Izguba mikročipov v različnih obdobjih kontrole pri grških kornjačah 61
4.1.4 Pregled zdravstvena stanja grških in mavrskih kornjač 64
4.1.4.1 Zdravstveno stanje grških in mavrskih kornjač v času aplikacije mikročipa 64
4.1.4.2 Patologija vezana na mikročipiranje 68
4.2 PROUČEVANJE MIKROČIPIRANJA IN BIOKEMIJSKIH PARAMETROV PRI IZBRANI SKUPINI ŽELV 69
4.2.1 Kontrola mikročipiranja skozi večletno obdobje 69
4.2.2 Ugotavljanje nihanja biokemijskih parametrov 70
4.2.2.1 Ugotavljanje nihanja kalcija 73
4.2.2.2 Ugotavljanje nihanja anorganskega fosfata 76
4.2.2.3 Primerjava vrednosti kalcija in anorganskega fosfata 79

5 RAZPRAVA 85
5.1 OGROŽENE ŽIVALSKE VRSTE IN STATUS ŽELV 86
5.2 OBVEZNO OZNAČEVANJE GRŠKIH IN MAVRSKIH KORNJAČ 87
5.3 GOJENJE ŽELV V UJETNIŠTVU 89
5.4 MIKROČIPIRANJE NA FARMI 90
5.4.1 Pregled zdravstvenega stanja grških in mavrskih kornjač 96
5.4.1.1 Tehnični in tehnološki problemi mikročipiranja 101
5.5 PROUČEVANJE MIKROČIPIRANJA IN BIOKEMIJSKIH PARAMETROV PRI IZBRANI SKUPINI ŽELV 102

6 ZAKLJUČKI 105

7 POVZETEK 107

8 SUMMARY 109

9 ZAHVALA 111

10 LITERATURA 113

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Sistemska uvrstitev. 8
Preglednica 2: Osnovne razlike med grško in mavrsko kornjačo. 15

KAZALO SLIK

Slika 1: Območje naravne razširjenosti grške kornjače v Evropi. 11
Slika 2: Različne oblike suprakavdalne ploščice pri grški želvi. 12
Slika 3: *Testudo hermanni hermanni* in *Testudo hermanni boettger*. 13
Slika 4: Območje naravne razširjenosti mavrske kornjače v Evropi. 13
Slika 5: Primerjava samic grške in mavrske kornjače. 15
Slika 6: Primerjava samcev grške in mavrske kornjače. 15
Slika 7: Prehrana grških kornjač. 17
Slika 8: Spolni dimorfizem pri grških kornjačah. 18
Slika 9: Spolni dimorfizem pri mavrskih kornjačah. 18
Slika 10: Grška želva izlega jajca. 20
Slika 11: Izleganje grških želv v izvalilniku. 21
Slika 12: Embrionalni razvoj želv – grška kornjača. 21
Slika 13: Patologija v reprodukciji želv – grška kornjača. 22
Slika 14: Pričetek hibernacijskega obdobja. 24
Slika 15: Karapaks pri zvezdasti želvi – *Geochelone elegans*. 25
Slika 16: Osrednja, neparna ploščica plastrona pri grški želvi. 25
Slika 17: Določanje starosti želve po zažemkih na ploščici karapaksa pri vrsti 27
Slika 18: Začasno označevanje želv. 28
Slika 19: Predpisana oznaka na mikročipu. 30
Slika 20: Fotografiranje – način identifikacije želve. 31
Slika 21: Deformacija zgornje čeljusti pri grški želvi – videz kljuna kot pri papigi. 38
Slika 22: Invadiranost mavrske kornjače z askaridi. 46
Slika 23: Farma želv v Zapogah. 49
Slika 24: Vzgoja mladičev v notranjih prostorih. 50
Slika 25: Čitalec in mikročipi. 53
Slika 26: Dodatna oprema, potrebna pri označevanju. 55
Slika 27: Pravilen prijem in mesto aplikacije ob mikročipiranju. 57
Slika 28: Nepravilen prijem in mesto aplikacije ob mikročipiranju. 57
Slika 29: Napake aplikatorjev za mikročipiranje. 58
Slika 30: Stara poškodba spodnje čeljusti. 65
Slika 31: Slepa grška kornjača; grška kornjača brez levega gležnja. 65
Slika 32: Stare poškodbe pri grški kornjači. 65
Slika 33: Prisotnost klopa pri mavrski kornjači. 66
Slika 34: Infekcija oči in zgornjih dihal pri grški kornjači – potrjena infekcija z mikoplazmami. 66
Slika 35: Sveža poškodba noge; prolapsus penisa; infekcija s *Pseudomonas* sp. 66
Slika 36: Poškodba nastala zaradi košenja. 66
Slika 37: Poškodba karapaksa, ki jo naredijo sive vrane. 67
Slika 38: Napeljane mreže proti vranam. 67
Slika 39: Zaplet po aplikaciji mikročipa – miaza. 67
Slika 40: Rentgenska slika grške želve z dvema mikročipoma. 68

Slika 41: Migracija mikročipa vidna ob patoanatomski preiskavi. 68
Slika 42: Najpogostejše rastline v obori, ki pogosto služijo tudi kot vir obroka za želve. 83
Slika 43: Grške želve: albino primerek; specifično obarvan karapaks; drugačna razporeditev ploščic na karapaksu; drugačna razporeditev ploščic na karapaksu in specifično obarvan karapaks 87
Slika 44: Poškodbe karapaksa. 88
Slika 45: Prvoten način trajnega označevanja želv. 90
Slika 46: Rentgeniziranje želv na terenu. 91
Slika 47: Lokacija mikročipa pri raztelesbi. 92
Slika 48: Krvavitve ob aplikaciji mikročipa. 92
Slika 49: Zaustavljanje krvavitev. 93
Slika 50: Sortiranje želv pred izvedbo mikročipiranja. 94
Slika 51: Pravilen način sortiranja želv pred izvedbo mikročipiranja. 94
Slika 52: Napeljane mreže prti vranam in proti sončni pripeki. 95
Slika 53: Mikročipiranje v deževnem obdobju. 97
Slika 54: Zapleti ob celjenju rane po aplikaciji mikročipa. 98
Slika 55: Miaza neočiščena in očiščena rana. 98
Slika 56: Poškodba karapaksa kot posledica kljuvanja vrane. 99
Slika 57: Leto dni po poškodbi – napad vrane. 100
Slika 58: Invazija z oksiuridi. 101
Slika 59: Izpad mikročipa zaradi nepravilne aplikacije. 101
Slika 60: Tudi pokošena trava iz travnika je lahko primeren obrok za želve. 104

KAZALO TABEL

Tabela 1: Vpliv temperature na spol želv pri grški želvi 19
Tabela 2: Razlike med grško in mavrsko kornjačo glede na število gnezd, velikost gnezda, temperaturo in dolžino inkubacije v ujetništvu 23
Tabela 3: Literaturni podatki o hematoloških parametrih pri želvah. 33
Tabela 4: Literaturni podatki o biokemičnih parametrih pri želvah. 34
Tabela 5: Število mikročipiranih kornjač. 52
Tabela 6: Prikaz krvavitev ob mikročipiranju matične reje. 58
Tabela 7: Prikaz krvavitev ob mikročipiranju želv za prodajo. 58
Tabela 8: Izguba mikročipov matična reja *Testudo hermanni*. 61
Tabela 9: Prikazane izgube mikročipov v matični reji *Testudo hermanni* po posameznih letih, ločeno za samce, samice in neodvisno od spola. 63
Tabela 10: Izguba mikročipov matična reja *Testudo hermanni* po letih. 69
Tabela 11: Tehtanje pred odvzemom krvi. 70
Tabela 12: Povprečne vrednosti telesne mase samcev in samic v aprilu in septembru in povprečna razlika med začetkom in koncem sezone pri samcih in samicah. 72
Tabela 13: Izmerjene vrednosti kalcija. 73
Tabela 14: Vrednosti kalcija pri samcih in samicah. 74
Tabela 15: Izmerjene vrednosti anorganskega fosfata. 76
Tabela 16: Vrednosti anorganskega fosfata pri samcih in samicah. 77
Tabela 17: Povprečne vrednosti kalcija in anorganskega fosfata samcev. 80
Tabela 18: Povprečje vrednosti kalcija in anorganskega fosfata samic. 81
Tabela 19: Analiza trave. 82

KAZALO GRAFIKONOV

Grafikon 1: Prikaz krvavitev ob mikročipiranju matične reje in želv za prodajo. 59
Grafikon 2: Krvavitve želv matične reje ob mikročipiranju prikazane po dnevih v letih 2005 do 2008. 60
Grafikon 3: Krvavitve želv matične reje ob mikročipiranju prikazane po mesecih v letih 2005 do 2008. 61
Grafikon 4: Razmerje med številom mikročipiranih želv in številom izgubljenih mikročipov. 62
Grafikon 5: Razmerje med številom mikročipiranih želv in številom izgubljenih mikročipov ločeno po spolu. 62
Grafikon 6: Prikaz izgube mikročipov v odstotkih pri samcih in samicah po posameznih letih. 63
Grafikon 7: Vnetje kloake pri samicah matične reje 64
Grafikon 8: Nihanje povprečja telesne mase pri samcih in samicah. 71
Grafikon 9: Nihanje vrednosti kalcija pri posameznih samcih in samicah. 74
Grafikon 10: Nihanje vrednosti kalcija pri samcih in samicah. 75
Grafikon 11: Nihanje vrednosti anorganskega fosfata pri posameznih samcih in samicah. 77
Grafikon 12: Nihanje vrednosti anorganskega fosfata pri samcih in samicah. 78
Grafikon 13: Primerjava nihanja povprečne vrednosti kalcija med spoloma. 79
Grafikon 14: Primerjava nihanja povprečne vrednosti anorganskega fosfata med spoloma. 80
Grafikon 15: Primerjava razmerja kalcija in anorganskega fosfata – samci. 81
Grafikon 16: Primerjava razmerja kalcija in anorganskega fosfata – samice. 82
Grafikon 17: Prisotnost parazitov na farmi v letu 2002. 100

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI V NALOGI	
CITES	Konvencija o mednarodni trgovini z ogroženimi prosto živečimi živalskimi in rastlinskimi vrstami
Testudo hermanni	*T.h.*
Testudo hermanni hermanni	*T.h.hermanni*
Testudo hermanni boettgeri	*T.h.boettgeri*
Testudo graeca	*T.g.*
Testudo graeca graeca	*T.g.graeca*
Testudo graeca ibera	*T.g.ibera*
Testudo graeca terrestris	*T.g.terrestris*
Testudo graeca zarudnyi	*T.g.zarudnyi*
Karapaks	dorzalni del oklepa
Plastron	ventralni del oklepa
Evropska unija	EU
Agencija Republike Slovenije za okolje	ARSO
MCV	povprečni volumen eritrocitov
MCHC	povprečna koncentracija hemoglobina na liter eritrocitov
MCH	povprečna količina hemoglobina v eritrocitih
ALT	alanin-aminotransferaza
AST	aspartat-aminotransferaza
GLDH	glutamat dehidrogenaza
LDH	laktat-dehidrogenaza
AP	alkalna fosfataza
CK	kreatin-kinaza
CHE	holin esteraza
Ca	celotni kalcij
aP	anorganski fosfat

minimalna vrednost	v tabelah in grafikonih označeno z modro pisavo
maksimalna vrednost	v tabelah in grafikonih označeno z rdečo pisavo
Mediana	centralna vrednost
statistična obdelava podatkov	tabele obarvane svetlo rumeno

SPECIFIČNOSTI MIKROČIPIRANJA PRI GRŠKI IN MAVRSKI KORNJAČI

Ključne besede: želve; živali, sistem označevanja; kri, kemične analize; kalcij – kri; fosfor – kri; letni časi.

IZVLEČEK

Od leta 2005 do 2010 smo želeli ugotoviti uspešnost označevanja z mikročipi, najbolj primeren čas označitve in opazovati morebitne posledice ter napake samega označevanja. Mikročipirali smo klinično zdrave živali. Nalogo smo opravljali na farmi v Zapogah, ki je edina farma želv Sloveniji.

Za ciljno skupino smo izbrali grško in mavrsko kornjačo. V pomladanskih in poletnih mesecih 2005, 2006, 2007 in 2008 smo mikročipirali 7633 želv matične reje in 1267 želv, ki so bile namenjene prodaji. Skupaj smo mikročipirali 8900 želv.

Ob mikročipiranju smo ugotavljali morebitne razlike glede na spol želve, starost oziroma velikost, vrsto želv (grška in mavrska kornjača), letni čas (sezonski vpliv in vpliv temperature okolice), zdravstveno stanje; po posameznih oborah tudi morebitne izgube mikročipov skozi večletno obdobje. V času aplikacije mikročipa in tudi kasneje, po daljšem časovnem obdobju, smo ugotavljali možne zaplete: krvavitve, velikost poškodbe ob aplikaciji, celjenje ran, vnetne spremembe, nastanek abscesov, miazo, migracijo mikročipa, izgubo mikročipa.

V kontrolnem pregledu v letu 2010 smo zajeli 5128 želv matične reje vrste *Testudo hermanni*, ki smo jih mikročipirali v preteklih letih. Ugotovili smo, da je 235 živali brez mikročipa. Pri 1113 mikročipiranih samcih smo ob kontrolnem pregledu v letu 2010 našli 63 neoznačenih samcev. Pri 4015 mikročipiranih samicah smo ob kontrolnem pregledu v letu 2010 našli 172. Ugotovili smo, da z vsakim nadaljnjim letom narašča odstotek izgube mikročipov. Izjema so le samice, ki smo jih mikročipirali leta 2005.

Skupini dvaintridesetih želv (šestnajst samcev in šestnajst samic) znotraj izbrane obore smo v letu 2008 periodično jemali kri za ugotavljanje koncentracije kalcija in anorganskega fosfata v serumu. Kri smo jemali iz kavdalne repne vene – *vena coccygeal dorsalis*.

MICROCHIPPIG SPECIFICITY ON THE HERMANN'S AND SPUR-THIGHED TORTOISE

Key words: Turtles; animal identification systems; blood chemical analysis; calcium – blood; phosphorus – blood; seasons

ABSTRACT

From 2005 to 2010 we tried to assess the success of the implantation of microchips, the most suitable time for implantation and to observe the possible consequences and mistakes of the implantation itself. Only clinical healthy animals were microchipped. This work was undertaken on the farm in Zapoge which is the only turtle farm in Slovenia.

As a research group we chose the Hermann's and Spur-thighed Tortoise. In the Spring and Summer months of 2005, 2006, 2007 and 2008 we microchipped 7633 maternal breed and 1267 turtles bred for sale. All together we microchipped 8900 turtles.

When turtles were microchipped potential differences were observed, taking into consideration the gender, age or the respective size, species (Hermann's and Spur-thighed Tortoise), the time of year (the seasonal influence and the environmental temperature influence), the health status; there was a potential microchip loss throughout a longer period. During the implantation of the michrochip and also later on, after a longer period, the probability of complications were observed: bleeding, the size of the implantation wound area, the heeling time, inflammation changes, abcess formations, myasis, the microchip migration, the microchip loss.

At the control check in 2010, 5128 turtles from the maternal breed of species *Testudo hermanni* previously microchipped were included. We found that 235 turtles lost their microchip. At the control check of 1113 microchipped males, 63 were unmarked. Out of the 4015 microchipped females in the control check, 172 were unmarked. We discovered that year on year microchip loss rose. The only exception were the females microchipped in 2005.

From a group of 32 turtles (sixteen males and sixteen females) chosen from the paddock in 2008, periodical blood samples were taken to analyse the serum concentration of calcium and inorganic phosphate. Blood was taken from the dorsal coccygeal vena – *vena coccygeal dorsalis*.

–

1 UVOD

Nedovoljena trgovina z ogroženimi vrstami živali je kriminalno dejanje, katero je po dobičku, ki ga prinaša, uvrščeno na tretje mesto, takoj za tihotapljenjem mamil in orožja. Zaradi trgovanja z želvami iz družine *Testudinidae* so od leta 1977 vse vrste želv iz te družine uvrščene na dodatke konvencije o mednarodni trgovini z ogroženimi prosto živečimi živalskimi in rastlinskimi vrstami (CITES).

Veterinarska stroka se zadnja leta zelo uspešno vključuje v delo z neharmoniziranimi vrstami živali. Pooblaščeni veterinarji sodelujejo pri praktični izvedbi in pripravi poročil o presoji tveganja za naravo pred naselitvijo ali doselitvijo tujerodnih prosto živečih živali v naravo ali gojitvijo tujerodnih prosto živečih živali (1). Ob neupoštevanju priporočil in mnenj, ki se podajo v končnem poročilu o presoji tveganja za naravo in morebitnemu pobegu živali iz farmske vzreje, lahko vdor tujega organizma močno vpliva na ekosistem. Vpliv je večji v kolikor živali izhajajo iz zdravstveno nepregledane reje in neznane zdravstvene problematike. V naravi je kontrola in preventiva težja oziroma velikokrat celo nemogoča. Ob veterinarskemu nadzoru namenjamo posebno pozornost možnosti prenosa bolezni, med njimi so tudi potencialne zoonoze, od tujerodnih prosto živečih vrstah na naše avtohtone prosto živeče vrste. Pri izdaji poročila je potrebno upoštevati tudi bližino naravnih vrednot, ekološko pomembnih območij in posebnih varstvenih območij. Ob vsem naštetem je potrebno živali tudi označiti. Mikročipiranje ogroženih živalskih vrst lahko izvajajo le pooblaščeni veterinarji. Le-teh je trenutno v Sloveniji šestnajst (2).

Direktive, zakoni in podzakonski akti narekujejo pomembnost označevanja. Zagotavljanje sledljivosti prosto živečih vrst živali v ujetništvu je v Sloveniji zakonsko določeno. Označevanje je obvezno za živali, ki po Uredbi ES št. 338/97 sodijo v Annex A. V Sloveniji trenutno EU predpise s tega področja povzema Uredba o ravnanjih in načinu varstva pri trgovini z živalskimi in rastlinskimi vrstami. Pogoje o reji urejata Odredba o bivalnih razmerah in oskrbi živali prosto živečih vrst v ujetništvu in Zakon o zaščiti živali. Natančnejša navodila o načinu označevanja od leta 2004 ureja Pravilnik o označevanju živali, prosto živečih vrst v ujetništvu. Pravilnik med drugim določa seznam vrst, ki jih je potrebno označevati in ustrezne načine označevanja. Sem sodijo tudi grške in mavrske kornjače. Obe vrsti sta v Sloveniji alohtoni, čeprav pogosto zasledimo, da gre za naše avtohtone vrste. Napačno prepričanje izvira še iz časa skupne države Jugoslavije, na ozemlju katere so avtohtone vrste.

Znotraj EU je Slovenija ena največjih izvoznikov kornjač. Farma, na kateri smo označevali, ima preko 7500 osebkov matične reje. Prevladujejo grške kornjače, nekaj manj je mavrskih kornjač; na farmi je preko 60 različnih drugih vrst kopenskih in vodnih vrst želv in nekaj posameznih vrst ostalih plazilcev, kuščarjev in kač.

Naloga povzema rezultate in izkušnje mikročipiranja grških in mavrskih kornjač v Sloveniji. Do sedaj še ni bilo objavljenih rezultatov na tem področju pri tako velikem številu želv in naloga predstavlja pionirsko delo na tem področju. Izkušnje, ki jih lahko povzamemo iz tuje literature, namreč proučujejo manjše skupine, do največ 31 kopenskih želv (3, 4). Izkušnje, ki smo jih dobili pri izvajanju označevanja, so pomembna osnova tudi za druge vrste plazilcev in hkrati pomemben doprinos k tovrstni problematiki.

V nalogi smo želeli ugotoviti uspešnost označevanja z mikročipi, najbolj primeren čas označitve in opazovati morebitne posledice ter napake samega označevanja. Mikročipirali smo klinično zdrave živali.

Pri izbrani skupini dvaintridesetih želv smo z odvzemom krvi iz repne vene sledili nihanju koncentracije kalciju in anorganskemu fosfatu serumu skozi aktivno obdobje: po končani hibernaciji, razmnoževanju, izleganju jajc in pred ponovno hibernacijo. Določanje kalcija in anorganskega fosfata v serumu ima namreč poleg kliničnega pregleda veliko diagnostično vrednost pri prepoznavanju, nepravilne prehrane in nepravilnega razvoja kosti (mineralizacije). Določevali smo tudi natrij, kalij, klor, sečno kislino in proteine, vendar teh podatkov v nalogi nismo obdelovali, ker menimo, da niso ključne za samo izvedbo mikročipiranja.

Pri nalogi smo si zastavili naslednje hipoteze:

- čas izvajanja mikročipiranja lahko pripomore k nastanku in razvoju nekaterih patoloških stanj:
    - takoj po hibernaciji (zlomi kosti, pojav sekundarnih infekcij),
    - tik pred valilno sezono (distocije),
    - v času deževnega obdobja (abscesi na mestu aplikacije in posledične sepse),
    - poleti ob največji vročini (toplotni udar);
- mikročipiranje samcev je bolj zahtevno kot mikročipiranje samic (fiziološke lastnosti samcev: so manjši, bolj energične narave, težja fiksacija);
- mikročipiranje mavrskih želv je bolj zahtevno kot mikročipiranje grških želv (anatomske in fiziološke značilnosti obeh vrst);
- mikročipi migrirajo po telesu kot pri drugih živalskih vrstah;
- mikročipi lahko izpadejo tudi po daljšem časovnem obdobju;
- možen je nov pristop k odvzemu krvi – iz področja na nogi.

2 PODATKI IZ LITERATURE

Red *Testudines* vključuje kopenske in vodne želve z več kot 285 vrstami, ki pripadajo 13 družinam in 75 rodovom (5). Delimo jih na dva podreda: *Pleurodira* (vijevratke) in *Cryptodira* (kritovratke); vijevratke vpotegnejo vrat z bočnim zavijanjem v vodoravni ravnini, kritovratke lahko glavo in vrat skrijejo pod oklep z ostrim upogibanjem v vertikalni ali horizontalni ravnini. Filogenetsko so najstarejša skupina plazilcev (5, 6). Življenjska doba želv je prav tako dolga, saj lahko živijo več kot 50 let. V ujetništvu preživijo do 100 let, v naravi do 35 let, na kar vplivajo zunanji dejavniki: vremenski vplivi, napadi predatorjev, požari, bolezni (7, 8).

Med želvami obstaja velika raznolikost, saj jih najdemo v morju, sladkih vodah in na kopnem (9). Vsem je skupna značilnost koščen oklep. Vse se razmnožujejo z jajci. Po izleganju jih zakopljejo v prst, mivko ali rastlinski drobir. Lupina jajc je ponavadi mehka, le morske želve imajo trdo-lupinasta jajca, na otip podobna ptičjim (6).

Veliko družino Testudinidae (kornjače) predstavljajo izključno kopenske želve. Nahajajo se po vseh celinah razen Avstraliji in Antarktiki, kjer najdemo le morske želve. Večina kopenskih želv je rastlinojedih. Morfološke značilnosti kopenskih želv so močan, visoko kupolast oklep, močne, čokate noge, potrebne za nošenje velike telesne mase in kratki prsti, ki imajo le po dve prstnici (6).

Najbolj prepoznaven del želvjega skeleta je oklep. Sestavljen je iz roževinastih in koščenih ploščic, ki so povezane s šivi. Ploščice skupaj s kostno osnova dorzalno oblikujejo kupolo ali karapaks, in ventralno ploščo ali plastron, ki skupaj ščitita telo. Karapaks je sestavljen iz približno 50 kosti: reber, hrbtenice in dermalnih elementov kože (6, 10).

Vse želve potrebujejo vodo za vzdrževanje hidracije, ki je pomembna za preživetje. Zaradi specifičnosti bivalnega okolja (puščavske vrste kopenskih želv, morske vrste želv) je preskrba s tekočino, tako količinska potreba kot pogostnost pitja, zelo različna med želvami. Puščavske želve so sposobne naenkrat zaužiti ogromno količino vode, to je do 40 odstotkov svoje telesne mase. Redkeje je opisano pitje vode pri morskih želvah. Ugotovili so, da lahko na novo izlegle morske želve s pitjem morske vode efektivno regulirajo ozmozo in pridobivajo na telesni masi (11).

2.1 TAKSONOMIJA

deblo (*Phyllum*)	Chordata (strunarji)
razred (*Classis*)	Reptilia (plazilci)
red (*Ordo*)	*Testudines* (želve)
podred (*Subordo*)	*Cryptodira* (kritovratke)
družina (*Familia*)	*Testudinidae* (kornjače – kopenske želve)
rod (*Genus*)	*Testudo* LINNAEUS, 1758 (kornjača – kopenska želva)
vrsta (*Species*)	*Testudo graeca* LINNAEUS, 1758 (mavrska kornjača)
podvrsta (*Subspecies*)	*Testudo graeca graeca* LINNAEUS, 1758
	Testudo graeca ibera PALLAS, 1814
	Testudo graeca terrestris FORSKAL, 1775
	Testudo graeca zarudnyi NIKOLSKIJ, 1896
vrsta (*Species*)	*Testudo hermanni* GMELIN, 1789 (grška kornjača)
podvrsta (*Subspecies*)	*Testudo hermanni hermanni* GMELIN, 1789
	Testudo hermanni boettgeri MOJSISOVICS, 1889
vrsta (*Species*)	*Testudo marginata* SCHOEPFF, 1792 (širokoroba kornjača)
vrsta (*Species*)	*Testudo horsfieldii* GRAY, 1844 (ruska kornjača)
vrsta (*Species*)	*Testudo kleinmanni* LORTET, 1883 (egiptovska kornjača)

Preglednica 1: Sistemska uvrstitev (12).

2.2 OGROŽENOST ŽELV

CITES (angl. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) ali Konvencija o mednarodni trgovini z ogroženimi prosto živečimi živalskimi in rastlinskimi vrstami je poznana tudi kot Washingtonska konvencija. Veljati je začela leta 1975. V Sloveniji je Konvencija CITES stopila v veljavo 23. aprila 2000 (13).

V EU problematiko o varstvu prosto živečih živalskih in rastlinskih vrst z zakonsko ureditvijo trgovine z njimi obravnava Uredba Sveta št. 338/97 (14). Vsebuje štiri priloge: A, B, C in D. Priloge A, B in C v veliki meri sovpadajo z Dodatki I, II in III konvencije CITES, vendar vsebujejo tudi nekatere vrste, ki jih ni v dodatkih CITES in so zavarovane samo z zakonodajo EU. Priloga A vključuje nekatere vrste iz Dodatka II in III CITES, za katere je EU sprejela strožje domače ukrepe. Vrste iz Dodatkov II in III konvencije CITES so navedene na prilogah Direktive o habitatih in Direktive o pticah in so zato vključene v prilogo A. Taki ukrepi veljajo tudi za grške in mavrske kornjače in po EU zakonodaji prav tako sodijo v prilogo A. Priloga D vključuje vrste, ki bi lahko bile primerne za uvrstitev v eno od ostalih prilog. Uvoz teh vrst v EU se spremlja, zato se priloga pogosto navaja kot »seznam za spremljanje stanja«. Konvencija CITES nima dodatka, primerljivega s Prilogo D (13).

Pri nas Konvencijo povzema Zakon o ratifikaciji Konvencije o mednarodni trgovini z ogroženimi prosto živečimi živalskimi in rastlinskimi vrstami, spremembe konvencije ter Dodatkov I, II, III in IV h Konvenciji (15).

V Sloveniji so z Uredbo o zavarovanih prosto živečih živalskih vrstah (16) zavarovane ogrožene prosto živeče živalske vrste. Predpisana so pravila ravnanja, poseben varstven režim ter ukrepi varstva in smernice za ohranitev habitatov živalskih vrst. Vse to je predpisano z namenom ohranitve vrst. Hkrati se s tem varstvenim režimom in varstvom habitatov zagotavlja varstvo mednarodno varovanih vrst. V Prilogi 1 te uredbe je naveden seznam živalskih vrst, katerih živali so zavarovane. Na seznamu najdemo tudi grške in mavrske kornjače.

Vrste, ki jih obravnava Konvencija CITES, so glede ogroženosti razvrščene v tri dodatke. Za vsakega velja poseben režim mednarodne trgovine na podlagi sistema dovoljenj in potrdil. Dodatek I zajema vrste, ki jim grozi izumrtje. Z njimi je komercialna mednarodna trgovina prepovedana. Dodatek II zajema vrste, ki jim sicer ne grozi izumrtje, lahko pa bi postale ogrožene. Mednarodna trgovina je dovoljena in strogo urejena. Dodatek III zajema vrste, ki so zavarovane vsaj pri eni pogodbenici, katera je preko Sekretariata zaprosila ostale pogodbenice za sodelovanje. Mednarodna trgovina je dovoljena, vendar nadzorovana. Grške in mavrske kornjače so uvrščene v Dodatek II (17).

Za osebke, gojene v ujetništvu, po Konvenciji CITES (iz dodatkov I, II, III) morajo biti izpolnjeni naslednji pogoji:

- izmenjava gamet je potekala v okolju, ki ga nadzira človek;
- matična skupina živali je pridobljena v skladu z določbami Konvencije CITES in domače zakonodaje pogodbenice ter ne vpliva neugodno na stanje populacije v naravi;
- matična reja je vzdrževana brez dodajanja osebkov iz narave, razen v izjemnih primerih, ki so bili določeni z eno od resolucij Konference pogodbenic (št. 10.16),
- osebki pripadajo drugi ali naslednji generaciji, gojeni v ujetništvu (F1 in F2) (17).

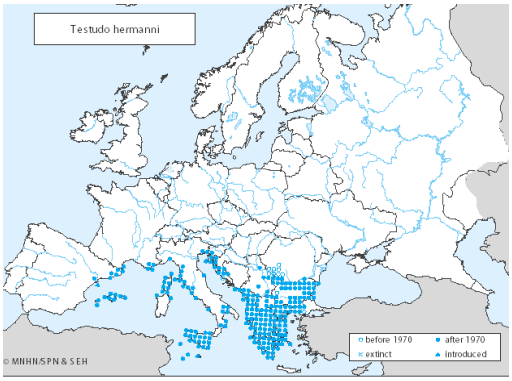
Od leta 1977 so vse vrste želv Testudinidae (40) uvrščene na dodatke konvencije CITES. Osem vrst (*Astrochelys radiata*, *Astrochelys yniphora*, *Chelonoides nigra*, *Gopherus flavomarginatus*, *Psammobates geometricus*, *Pyxis arachnoides*, *Pyxis planicauda*, *Testudo kleinmanni*) je navedenih v Dodatku I, vse ostale pa na Dodatku II (18).

Želve, ki jih gojimo v Sloveniji, so navedene v Dodatku I ali II konvencije CITES. Izvažajo se v države EU, Združene države Amerike in v Azijo. V skladu s konvencijo CITES si rejci lahko pridobijo dovoljenje CITES za izvoz mladih želv šele, ko se ugotovi izvor matične skupine in z ogledom potrdi, da so bili mladiči gojeni v ujetništvu skladno z resolucijo Konference pogodbenic (13).

2.3 MORFOLOŠKE IN FIZIOLOŠKE ZNAČILNOSTI

2.3.1 Grška kornjača (*Testudo hermanni* GMELIN, 1789)

Grške kornjače (*Testudo hermanni* GMELIN, 1789) (*T.h.*) so razširjene v južni Evropi. Najdemo jih pretežno na južnem območju reke Donave (Albanija, Bolgarija) v južni Franciji (Korzika), Grčiji (Jonsko otočje), južnem in zahodnem območju Italije (Elba, Pianosa, Sardinija, Sicilija), Monaku, Malti, Romuniji, Španiji (Balearski otoki), Turčiji, na Hrvaškem, v Črni gori in Makedoniji (12).



Slika 1: Območje naravne razširjenosti grške kornjače v Evropi (19).

Literaturni podatki glede podvrst grške kornjače *Testudo hermanni* so neenotni. Večinoma priznavajo dve podvrsti: *Testudo hermanni hermanni* (*T.h.hermanni*) (angl: Western population Hermann's Tortoise) in *Testudo hermanni boettgeri* (*T.h.boettgeri*) (angl: Eastern population Hermann's Tortoise) (12). Vinke in Vinke (20) opisujeta vrsto *Testudo hercegovinensis*, ki najdemo v Istri in Dalmaciji (angl: Dalmatian's Tortoise).

Pri odraslih kornjačah je ne glede na podvrsto oblika karapaksa eliptična, močno kupolasta, včasih zelo nabrazdana. Tako kot pri vseh kopenskih želvah, so tudi pri grških želvah samice večje od samcev. Običajna dolžina karapaksa je pri samcih do 12 in pri samicah do 20 centimetrov. Pri podvrsti *T.h.boettgeri* so lahko samice velike tudi do 23 centimetrov (12, 21, 22).

Anatomske značilnosti, po katerih ločujemo *T.h.* od ostalih vrst kopenskih želv, so naslednje. Plastron grških kornjač je negibljiv. Karapaks je oker rjave barve s črnimi progami. Ploščice imajo pogosto črnkast anteriorni rob. Na vsaki okončini imajo pet krempljev. Luske na sprednjih nogah so rahlo hrapave. Konica repa je poroženela. Na stegnu nimajo ostroge. Nuhalna ploščica je prisotna. Suprakavdalna ploščica je lahko deljena ali celotna. Barva kože odraslih kornjač je rumenkasto oranžna, rjavkasta ali zelenkasta, prežeta z različnimi količinami temnega pigmenta. Barva kože odraslih kornjač je rumenkasto oranžna, rjavkasta ali zelenkasta, prežeta z različnimi količinami temnega pigmenta. Barva kože mladih kornjač je na splošno svetlejša v primerjavi z odraslimi (12, 21, 22).



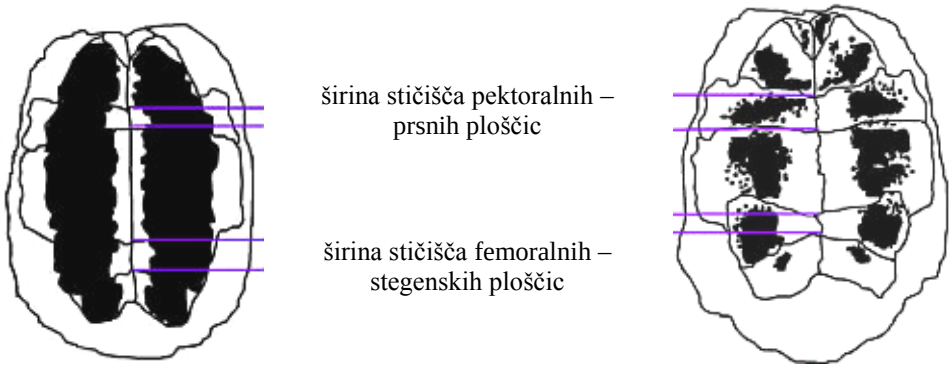
Slika 2: Različne oblike suprakavdalne ploščice pri grški želvi – deljena, enotna in dvojna ploščica (Slika: A. Dovč, 2007).

2.3.1.1 Podvrste grške kornjače

T.h.hermanni predstavlja zahodno populacijo, katere predstavniki so nekoliko manjši od ostalih podvrst. Samice so velike 12 do največ 13 cm. Ležejo le eno do tri jajca. Vzdolž celotnega plastrona potekata vzporedno dva izrazita, značilno oblikovana temna trakova. Osnovna barva je svetlo zlato rumena, kar daje močan kontrast. Barva kože na glavi variira od temno zelene do rumenkaste s posameznimi temnimi zaplatami. Pri večini najdemo značilno rumeno piko na licu. Ponavadi prednje noge ob straneh niso pigmentirane. Baza krempljev je pogosto svetlo obarvana. Večina *T.h.hermanni* ima deljeno suprakavdalno ploščico. Nekaj osebkov najdemo z nedeljeno ploščico podobno kot jo imajo mavrske kornjače. Pektoralne ploščice so krajše v primerjavi s femoralnimi (21, 22).

Vzhodna populacija – *T.h.boettgeri* so veliko večje želve. Samci merijo okrog 16,5 cm in samice 19 cm. Med populacijo, ki živi na področju Bolgarije, najdemo največje primerke. Samice lahko presežejo 26 cm in telesno maso 3400 g. Samice ležejo šest do deset jajc. Blede markacije plastrona pri tej podvrsti variirajo. Pri nekaterih želvah potekata oba trakova vzdolž plastrona, podobno kot *T.h.hermanni*, večina pa ima difuzno serijo zaplat. Osnovna barva je zelenkasto rumena. Obarvanja se pri odraslih živalih pogosto razbarvajo. Za to podvrsto velja, da ima 20 odstotkov populacije deljeno suprakavdalno ploščico. Pektoralne in femoralne ploščice so približno enake dolžine (21, 22). Highfield (21) je pri velikankah vzhodne vrste opazil, da imajo vse po 4 kremplje na vseh nogah, kot ima tudi ruska kornjača (*Testudo horsfieldii*).

Testudo hercegovinensis so velike do 17 cm. Po obliki so podobne *T.h.boettgeri*. Ponavadi imajo eno gnezdo na leto s 3 do 5 jajci. Inkubacijska doba je 59 do 60 dni. Pri temperaturi 31,5 °C se izležejo le samice (20). Karapaks je visoko zaobljen in ovalen. Barva variira od umazano rumene, olivno zelene do rjavo rumene.

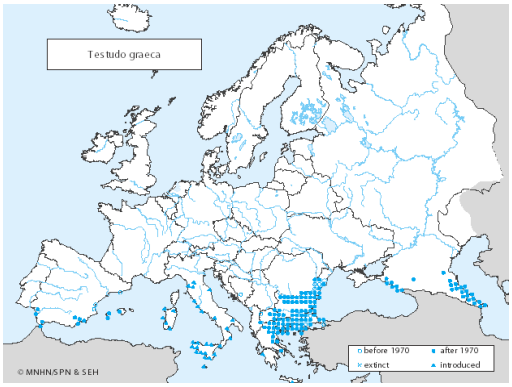


A B

Slika 3: *Testudo hermanni hermanni* (A) in *Testudo hermanni boettgeri* (B) (19).

2.3.2 Mavrska kornjača (*Testudo graeca* LINNAEUS, 1758)

Mavrske kornjače (*Testudo graeca* LINNAEUS, 1758) (*T.g.*) so razširjene v južni Evropi, severozahodni Aziji in severni Afriki. Najdemo jih v Albaniji, Alžiriji, Bolgariji, Grčiji, Iranu, Iraku, Italiji (Sardinija), Izraelu, Jordaniji, Libanonu, Libiji, Malti, Maroku, Pakistanu, Romuniji, Španiji, Siriji, Tuniziji, Turčiji, Rusiji in Makedoniji (12).



Slika 4: Območje naravne razširjenosti mavrske kornjače v Evropi (7).

Literaturni podatki glede podvrst mavrske kornjače so neenotni. Večina avtorjev priznava štiri podvrste, nekateri dvanajst podvrst. CITES Manual (12) opisuje štiri podvrste:

- *Testudo graeca graeca* (*T.g.graeca*) (angl: Mediterranean Spur-thighed Tortoise),
- *Testudo graeca ibera* (*T.g.ibera*) (angl: Asia Minor Spur-thighed Tortoise),
- *Testudo graeca terrestris* (*T.g.terrestris*) (angl: Middle Eastern Spur-thighed Tortoise),
- *Testudo graeca zarudnyi* (*T.g.zarudnyi*) (angl: Iranian Spur-thighed Tortoise).

Pri odraslih mavrskih kornjačah je oblika karapaksa ovalna ali eliptična in zmerno kupolasta. Dolžina je pri samcih 15 cm in pri samicah do 20 cm (23). Pri velikih vrstah je karapaks nekoliko razširjen in v zadnjem delu naguban brez ostrih robov. Na obrobju in središču vsake ploščice so temni madeži. Plastron je po navadi trden, le pri izjemno velikih samicah je zadnji predel gibljiv. V centru ima temno pigmentirane predele vzdolž svetle regije. Mehki deli so sivo rumenkasti. Barva mladih kornjač lahko variira med svetlo rumeno in temno olivno s temnimi vzorci. Na vsaki okončini imajo pet krempljev. Luske na sprednjih nogah so precej hrapave. Na stegnu se nahaja po ena stožčasta ostroga. Rep nima poroženele repne ostroge. Nuhalna ploščica je prisotna. Suprakavdalna ploščica je enotna (11, 21). Znesejo od 3 do 10 jajc na gnezdo. Pri temperaturi 27 do 31 °C valijo 67 do 78 dni (23).

2.3.2.1 Podvrste mavrske kornjače

Podvrsto *T.g.graeca* najdemo v južni Alžiriji, Maroku in južni Španiji. Je relativno majhna želva. Samci so povprečno dolgi 13 cm in imajo telesno maso 535 g. Samice so opazno večje, kar kaže na izrazit dimorfizem. Karapaks je podolgovato ovalen, z rahlo nagubanimi posteriornimi ploščicami. Vsaka ploščica je temno obrobljena in ima črn center. Plastron ima majhne posamezne lise, ki so rumene do nežno olivne barve z izrazitimi temnimi lisami. Imajo temno glavo (12, 22). Jajca so manjša in bolj okrogla od *T.g.ibera*. Običajno je v gnezdu 4 do 5 jajc (21).

Podvrsto *T.g.ibera* najdemo na vzhodnem delu Balkana – južno in vzhodno od Donave, v vzhodnem delu Makedonije, vzhodnem delu Grčije in evropskem delu Turčije. Karapaks je ovalen, posteriorne ploščice so ravne. Pri starejših osebkih so robovi uvihani navzgor. Barva karapaksa in plastrona je temno roževinaste barve, z nekaj nepravilnimi temnimi lisami, ki občasno oblikujejo dolge trakove (12, 22). Jajca so manjša. Znesejo od 5 do 10 jajc na gnezdo. Pri temperaturi 27 do 31 °C valijo 67 do 80 dni (23).

Podvrsto *T.g.terrestris* najdemo v severovzhodnem delu Egipta vse do Libije, Izraela, Jordanije, Libanona in južnega dela Turčije. Imajo visoko kupolast karapaks. Glava je na vrhu in ob straneh obarvanja rumeno (12, 22).

Podvrsta *T.g.zarudnyi* naseljuje vzhodni Iran. Ima pravokotni karapaks, anteriorni in posteriorni deli karapaksa so lahko nabrazdani. Oklep je rjavo do olivne barve z nerazločnimi temnimi lisami (11, 21).

2.3.3 Razlike med grško in mavrsko kornjačo

Glavne razlike med grško in mavrsko kornjačo so prikazane v Preglednici 2 ter na Sliki 5 in 6.

GRŠKA KORNJAČA	MAVRSKA KORNJAČA
poroženela repna konica	na vsakem stegnu stožčast tuberkel
suprakavdalna ploščica deljena ali nedeljena	nedeljena suprakavdalna ploščica
močno kupolast karapaks, rumeno do olivne barve	zmerno kupolast, ovalen karapaks, temno zelene barve

Preglednica 2: Osnovne razlike med grško in mavrsko kornjačo (21, 24).



Slika 5: Primerjava samic grške (levo) in mavrske kornjače (desno) (Slika: A. Dovč, 2002).



Slika 6: Primerjava samcev grške (levo) in mavrske kornjače (desno) (Slika: A. Dovč, 2002; 2008).

Poleg zgoraj opisanih lastnosti imajo pri grških kornjačah ploščice karapaksa pogosto črnkaste anteriorne robove ter fiksen in rigiden ksifiplastron. Mavrske kornjače imajo veliko bolj hrapave luske na sprednjih nogah kot njihove sorodnice. Obe vrsti želv imata po pet krempljev na vsaki okončini (21).

2.3.4 Prehrana

Kopenske želve so po navadi rastlinojede ali vsejede živali. So živali, ki izražajo sezonski prehrambeni cikel. Le-ta je odvisen od dolžine dneva, količine vode, temperature okolja in svetlobe (25). Rastlinojede želve imajo počasnejšo presnovo, ki je prilagojena za prebavo celuloze s pomočjo bakterij in encimov. Trebušna slinavka je manjša v primerjavi z vsejedimi in mesojedimi vrstami. Prehod hrane skozi celotni prebavni trak traja več tednov. Mikrobiološka fermentacija poteka v debelem črevesju. Prednost tovrstne fermentacije je, da lahko mikroorganizmi predelajo celulozo, katere sama želva ni sposobna predelati. Prebava debelega črevesa je odvisna od črevesne mikroflore (21, 25). Želve tako kot tudi druge živali potrebujejo vedno tudi zadosti pitne vode (6).

Grška in mavrska kornjača sta rastlinojedi vrsti želv. Devetdeset odstotkov obroka predstavljajo zeleni deli rastlin in njihovi cvetovi, do deset odstotkov pa različne vrste sadja in drugih sadežev. Želvam v ujetništvu pokladamo regrad, tako zelene dele, kot tudi cvetove, zelje, liste in cvetove detelje, ohrovt, zeleno solato, peteršilj, brokoli, radič, vrhove korenja, repne liste, repico, stročnice, osat, grobo mešano travo in drugo rastlinsko krmo. Na voljo imajo tudi sveže rastoče rastline, ki rastejo na travnikih. Ostalih 10 odstotkov predstavlja različno sadje in drugi plodovi kot so melone, paradižniki, cvetača, jabolka, sladka paprika, kumare, jajčevci, grozdje, pomaranče, breskve, slive, nektarine, melone, lubenice, jagode, maline, pa tudi banane, dateljni, mango in ananas (21, 22, 26, 27).

Veliko sladkorja v hrani spodbudi rast bakterij, glivic in protozojev, zato mora biti uporaba sadja biti premišljena. V črevesju pride do pospešene peristaltike, ki vzpodbudi proliferacijo črevesnih zajedavcev, zlasti flagelatov in tako pripelje do kolike (21, 22, 26, 27).

Prehrana rastlinojedih kornjač mora vsebovati dovolj beljakovinskih vlaken in mineralov (npr. kalcij) in vitaminov (zlasti vitamina A in D_3). Pomembno je pravilno razmerje med kalcijem in fosforjem, in sicer vsaj v razmerju 1,5:1 ali 2:1. V naravi je razmerje Ca:P vsaj 4:1. V obroku naj bo tudi nizka vsebnost maščob in olj ter nizka vsebnost tiocianatov in oksalatov (6). McArthur in Barrows (25) odsvetujeta krmljenje rabarbare ravno zaradi visoke vsebnosti oksalne kisline.

Obroku je potrebno dodati kvalitetne mineralne in vitaminske dodatke. Dodatki se močno razlikujejo po sestavi. Večina strokovnjakov se strinja, da morajo dodatki vsebovali kalcij in vitamin D_3 (brez dodanega fosforja), vitamin A v obliki beta karotena. Priporočeno razmerje vitaminov A:D:E v dodatkih je približno 100:10:1 (27).

Boyer in Boyer (6) priporočata ob vsakem krmljenju hrano potrositi s kalcijevim laktatom, karbonatom ali glukonatom, en do dvakrat tedensko pa tudi z multivitaminskimi dodatki, še posebno, če je hrana siromašna z vitamini. V obroku priporoča pod 5 odstotkov visokoproteinske hrane, kot so žitarice in tofu.

V ujetništvu najlažje zadovoljimo prehranske potrebe s pleveli, cvetlicami in travo. Kompletirani peleti se odsvetujejo. Želve se krmijo dnevno. Potrebujejo dovolj pitne vode in vodo za kopanje. Pri krmljenju s povrtnino se je potrebno zavedati, da le-ta vsebuje več proteinov in premalo vlaknin. Pogosto je obrnjeno tudi razmerje Ca:P (25). McArthur in Barrows (25) opozarjata pri naravnem hranjenju, kot je v divjini nabran plevel in trava, na možnost zastrupitve s strupenimi rastlinami, pesticidi in limacidi. Odrasle želve občasno jedo tudi polže (22, 25).

O že pripravljeni, suhi/peletirani krmi je malo je znanega. Literaturni podatki odsvetujejo uporabo tovrstne krme pri mladih živalih, pri katerih lahko povzroča hitro rast in selektivno krmljenje. V izogib selektivnemu krmljenju McArthur in Barrows svetujeta, da se želvam ponudi zmešana, že predhodno pripravljena krma. Mačja in pasja hrana, kruh in mleko, nazogastrične raztopine za sesalce, mlečni nadomestki, sir, sladka koruza, slanina so neprimerni za rastlinojede kornjače. Anoreksične kornjače se lahko hrani z običajno hrano v tekoči obliki: zeleno listna osnova 75 do 95 odstotkov in sesekljana zelenjava 5 do 15 odstotkov (25).



Slika 7: Prehrana grških kornjač (Slika: M. Stvarnik, 2010).

2.3.5 Ločevanje spola

Pri grških in mavrskih kornjačah je dobro izražen spolni dimorfizem. Dobro so vidne zunanje razlike med samcem in samico: dolžina repa, odprtina kloake na repu, velikost in oblika karapaksa in obliki plastrona (28, 29).

Odrasli samci so opazno manjši in lažji od odraslih samic (30). Imajo daljši rep in širšo bazo repa (28, 29). Samice imajo odprtino kloake bližje pri bazi repa, ki je kratek in čokat (30).

Samci imajo bolj vleknjen plastron. Razlikujejo se tudi analne ploščice plastrona, ki so drugačne velikosti in oblike (28). Pri odraslih samcih je konkaven, kar je pomembno pri anatomski prilagoditvi s samico ob parjenju. Samec se povzpne na samico od zadaj in takrat se konkavni samčev plastron popolnoma prilagaja konveksni krivini samičinega karapaksa. Sploščena oblika plastrona pri samicah omogoča hrambo in zgodnji razvoj intra-celomičnega razvoja jajc pred ovipozicijo (30, 31).

Samice *T.h.* imajo širši karapaks. Zadnje marginalne ploščice so manj nazobčane in nabrazdane kot pri samcih. Suprakavdalna ploščica je pri samcih rahlo zavihana navznoter, pri samicah pa je krajša in ravna (21, 24).



Slika 8: Spolni dimorfizem pri grških kornjačah (Slika: M. Stvarnik, 2010).



Slika 9: Spolni dimorfizem pri mavrskih kornjačah (Slika: M. Stvarnik, 2010).

2.3.6 Reprodukcija

Za vretenčarje sta značilna dva glavna mehanizma determinacije spola: genotipska, t.i. kromosomalna determinacija, in fenotipska determinacija spola (23).

Pri nekaterih vrstah kač, mnogih kuščarjih in želvah iz družine Kinosternidae je spol določen s pomočjo enega ali več genov na spolnem kromosomu glede na žensko (ZW/ZZ, redkeje ZZW/ZZZ ali ZWW/ZZZ in druge oblike) ali moško (XY/XX, redkeje XXY/XXX) heterogamijo, ki je opisana pri sklednicah. Mehanizem ZW/ZZ obstaja le pri kačah, samice so vedno heterogametne in torej določajo spol (32). Pri kuščarjih in želvah sta najdena oba mehanizma ZW/ZZ in XY/XX. Spol pri različnih vrstah kuščarjev lahko določajo tako samci kot samice, pri želvah – sklednicah pa spol določajo samo samci – heterogamija samcev. Pri genotipski t.i. kromosomalni spolni determinaciji so spolni kromosomi lahko zelo heteromorfni (npr. pri kačah iz družine gadov – Viperidae), najdemo pa tudi delno ali neheteromorfne kromosome (npr. pri kačah iz družine udavov – Boidae in pri želvah) (33, 34).

Pri oviparnih plazilcih je spolna determinacija gonad odvisna od temperature v času inkubacije jajc med kritičnim obdobjem embrionalnega razvoja. Pri teh vrstah se v termosenzitivnim obdobju pri določenih temperaturah razvijejo pretežno samci pri drugih temperaturah pretežno samice. Ločimo tri različne vzorce oziroma tipe (33, 34). Köhler (23) opisuje celo štiri vzorce pri plazilcih, medtem ko sta pri želvah prisotna le dva.

Prvi vzorec ali tip opazimo pri številnih vrstah želvah, tudi pri grški in mavrski želvi (Tabela 1). Zanj je značilno, da se pri nižji temperaturi inkubacije izvali več samcev in pri višji temperaturi več samic. Za drugi tip je značilno, da se pri nižji temperaturi izvali več samic pri višji temperaturi več samcev. Ta tip najdemo le pri nekaterih vrstah krokodilov, kuščarjev in pri tuatarah. Pri drugih vrstah krokodilov, kuščarjev in pri nekaterih želvah opažamo še tretji tip, kjer se samice razvijejo pri nižjem in višjem temperaturnem območju, samci pa v vmesnem temperaturnem območju (23, 33). Četrti vzorec oziroma tip najdemo pri nekaterih vrstah gekonov iz rodu *Tarentola*, kamor spada tudi pozidni gekon *Tarentola mauritanica*, kjer se pri nižjih temperaturah (22,5 do 26 °C) razvijejo samci, pri srednjih (27 do 30 °C) samice in pri višjih temperaturah (31 do 32 °C) se enakomerno razvijeta oba spola (23).

Köhler (23) navaja za *T.h.* inkubacijsko temperaturo pri kateri se razvijejo pretežno samci 25 do 30 °C in za *T.g.* 26 do 30 °C. Za razvoj samic pa navaja za *T.h.* inkubacijsko temperaturo 33 do 34 °C in za *T.g.* 31 do 33 °C. Izven teh temperaturnih območij število uspešnih izvalitev pada tako pri samcih, kot pri samicah.

Tabela 1: Vpliv temperature na spol želv pri grški želvi (35).

temp. inkubacije	**čas valitve**	**spol živali**
< 26,0 °C	neuspešno valjenje	neuspešno valjenje
26,0–29,5 °C	75–140 dni	samci
30,0–32,0 °C	65–80 dni	samci in samice
32,5–33,0 °C	60–75 dni	samice
> 34,0 °C	deformacije, pogin živali	deformacije, pogin živali

Pieau s sodelavci (34) je opravil poskuse pri želvah, kuščarjih in krokodilih z aplikacijo estrogena in aromataze (encimski kompleks aromataza, ki pretvarja androgene v estrogene). Opazovali so vpliv le teh na diferenciacijo ovarijev med termosenzitivnem obdobju in pomen pri vzdrževanju zgradbe jajčnikov po tem. Ugotovili so, da ima glavno vlogo encimski kompleks aromataza. Aktivnost aromataze je nizka pri temperaturi ugodni za razvoj samcev, medtem ko dramatično naraste aktivnost aromataze pri temperaturi, ugodni za razvoj samic.

2.3.6.1 Reprodukcija grške kornjače

Grške kornjače v ujetništvu spolno dozorijo pri starosti 6 do 10 let (19) in v naravi pri starosti med 12 in 15 let (21). Parijo se od konca marca do junija, v najbolj vročih dneh so manj aktivne. Prvi mladiči se izvalijo septembra. Konec oktobra postanejo dremave in metabolizem se izredno upočasni (21, 36, 37). V našem podnebju se prične izleganje jajc nekaj mesecev kasneje, ponavadi junija, julija ali celo avgusta (19).

V spolno aktivnem obdobju imajo po eno do dva, izjemoma tudi tri legla. Paritveno obnašanje *T.h.* je manj silovito od obnašanja ostalih mediteranskih kornjač, kot so na primer *T.g.* in *T.g.ibera*. Pri samcih *T.h.* ne prihaja do tako silovitega butanja v času parjenja, poslužujejo pa se predvsem grizenja nog in glave, kar lahko privede tudi do vidnih poškodb. Pogosto se opaža, kako samec počiva, lahko tudi več ur, na samičinem hrbtu in hkrati skoraj avtomatsko udarja po karapaksu samice s sprednjimi nogami. Dokler se samica popolnoma ne umiri, ni uspešne paritve. Takšno obnašanje ni bilo opaženo pri nobeni od drugih mediteranskih želv. Spolno druženje je močan akt pridružen s samčevimi visokotonskimi zvoki v času med koopulacijo. Samci na samičinem hrbtu spuščajo redne zvoke, ki zvenijo kot cviljenje ali tarnanje in so stereotipni za posameznika. Samica je sposobna po parjenju ohraniti spermo v jajcevodu tudi do štiri leta in tako lahko izleže oplojena jajca tudi brez paritve (21, 36, 37).

Samica *T.h.* odleže oplojena jajca v pesek ali zemljo. V naravi traja priprava gnezda povprečno ena do tri ure. V tem času samica na izbranem mestu skrbno izkoplje jamo s pomočjo zadnjih nog in v jamo izleže jajca, ki jih nato prekrije z zemljo ali peskom. Tudi to naredi z zadnjimi nogami. Tja odloži od 3 do 8 jajc (največ do 12 jajc) maksimalne dolžine 3 oziroma 4 cm, odvisno od podvrste. Jajca so podolgovato ovalne oblike, njihova lupina je že ob izvalitvi trda, kljub temu pa so posamezna jajca lahko krhka in lomljiva, predvsem zaradi pomanjkanja kalcija. V odvisnosti od temperature okolja se jajca izvalijo po 70 do 100 dneh. Samica za svoj naraščaj ne skrbi več; razvoj mladičev je odvisen od sonca, vlage in drugih dejavnikov okolja (21).

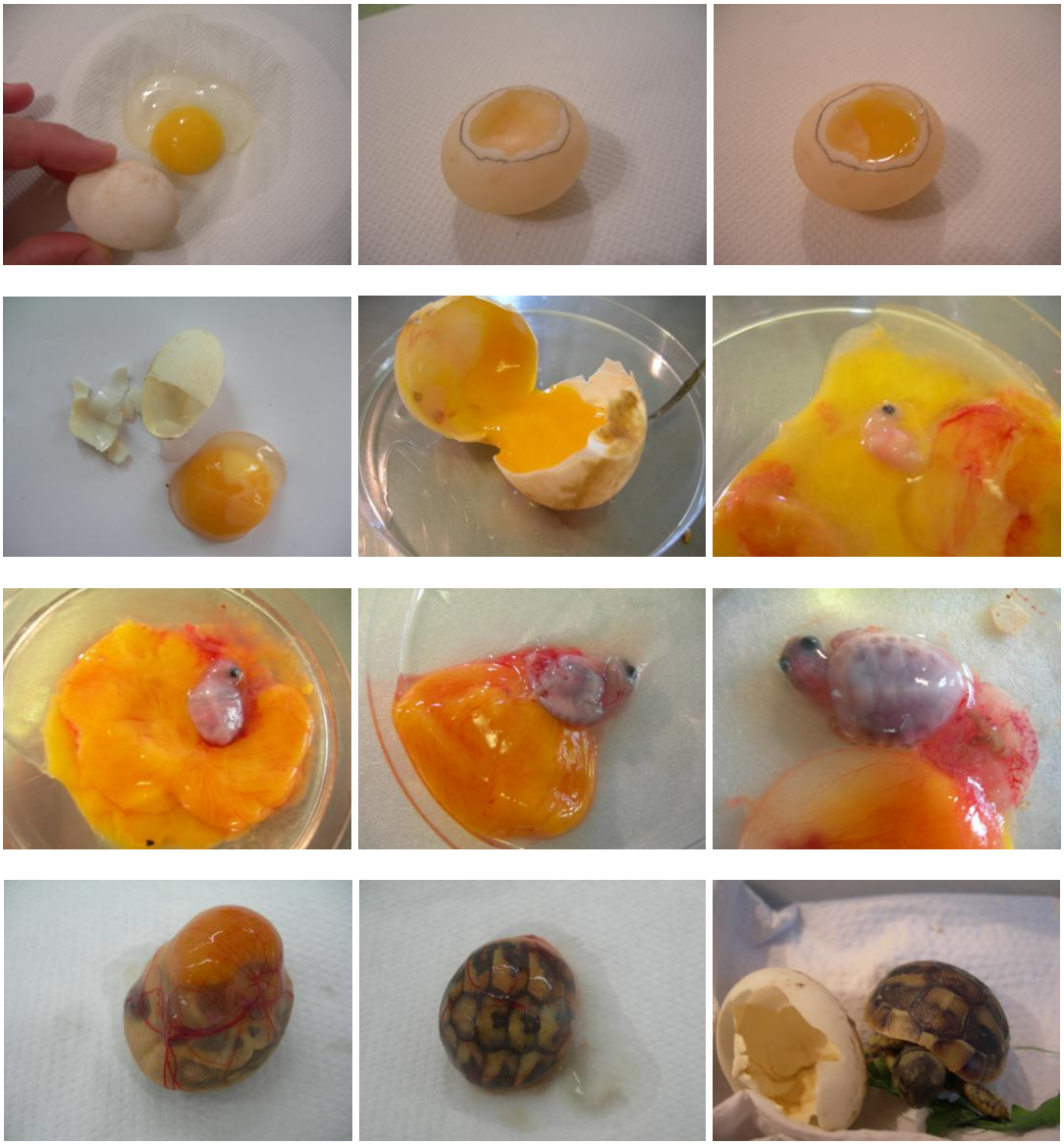
Med številom jajc na gnezdo in velikostjo jajc obstaja občutna razlika med posameznimi podvrstami. *T.h.hermanni* (Francija) izleže po 3 jajca, *T.h.*boettgeri pa ponavadi od 5 do 8, celo 12 jajc. Jajca *T.h.hermanni* so dolga povprečno 30 mm in široka 24 mm, jajca *T.h.boettgeri* pa so dolga povprečno 40 mm in široka 29 mm. Mladiči *T.h.*hermanni tehtajo od 9 do 10 g, medtem ko tehtajo mladiči *T.h.boettgeri* povprečno od 12 do 14 g (21). Samice obeh podvrst ponavadi ležejo več kot enkrat v sezoni, vendar pa se število jajc za vsako naslednje kločenje zmanjšuje (19).



Slika 10: Grška želva izlega jajca (Slika: Ž. Dular, 2010).



Slika 11: Izleganje grških želv v izvalilniku (Slika: A. Dovč, 2002).



Slika 12: Embrionalni razvoj želv – grška kornjača
(Slika: A. Dovč in O. Zorman 2006; 2009).



Slika 13: Patologija v reprodukciji želv – grška kornjača (Slika: A. Dovč, 2006; 2009).

2.3.6.2 Reprodukcija mavrske kornjače

Mavrske kornjače v ujetništvu spolno dozorijo pri starosti 5 do 7 let (7) in v naravi pri starosti med 12 in 15 let (21). Za *T.g.* obstaja veliko manj podatkov o naravnem obnašanju in razmnoževanju. Jajca so majhna in okroglasta, dolga 30 mm in široka 27 mm. Velikost izvaljenih mladičev je od 7 do 8 g, s povprečno dolžino 28 mm. Običajno mavrske kornajče znesejo od 4 do 5 jajc. V ujetništvu je priporočena inkubacija 30,5 do 31,5 °C (21).

Repna ostroga služi pri mavrski kornjači kot stimulacija kloakalnega predela pri samicah (21). Zaradi prekomerne agresivnosti in nemirnosti pri samcih in glede na anatomski položaj repne ostroge pri samicah lahko prihaja pri slednjih do razvlečene in raztrgane kloake (24).

Vinke in Vinke (38) podrobneje navajata nekatere razlike med afriškimi in evro-azijskimi vrstami mavrskih kornjač z osnovnimi reprodukcijskimi podatki o temperaturi in dolžini valjenja, vlažnosti ob valjenju in morebitnih anomalijah.

V spodnji tabeli so prikazane osnovne razlike v velikosti in številu gnezd, temperaturi in dolžini inkubacije med grško in mavrsko kornjačo.

Tabela 2: Razlike med grško in mavrsko kornjačo glede na število gnezd, velikost gnezda, temperaturo in dolžino inkubacije v ujetništvu (6).

vrsta	število jajc na gnezdo	gnezdo na sezono	temp. inkubacije (°C)	dolžina inkubacije v dneh
Testudo hermanni	3 do 12	2	30,5 do 31	56 do 72 (90)
Testudo graeca	1 do 24	1 do 3	25 do 31	97 do 200

2.3.7 Hibernacija

Hibernacija ali zimsko spanje je obdobje mirovanja, ko se ustavijo aktivnosti; zaznan je zmanjšan apetit, v veliki meri je zmanjšana presnova, zniža se frekvenca srčnega utripa in dihanje. Otrple živali izkoriščajo maščobne rezerve (39, 40).

Želve nastopijo s hibernacijo proti koncu oktobra, ki traja do marca ali aprila (22). Na začetek in konec hibernacije vplivajo številni zunanji (temperatura, dolžina dneva, klimatske razmere) in notranji dejavniki (hormoni, aminokisline, nevrotransmitorji) (39).

Hibernacija omogoča pravilno delovanje ščitnice, imunskega sistema in reprodukcijskega sistema. Najpomembnejše je, da hibernacija stimulira razmnoževalno aktivnost samcev in sinhronizira ovulacijo pri samicah. V poznem poletnem obdobju in na začetku jeseni se zmanjša število limfocitov in populacija imunih celic v vranični pulpi. Posledica je zmanjšana odpornost in sekundarna obolenja. Želve, ki ne hibernirajo, obolevajo pogosteje za jetrnimi boleznimi in imajo krajšo življenjsko dobo. Hibernacija vpliva tudi na vzdrževanje aktivnosti ščitnice in s tem posredno na starost živali. Želve, ki hibernirajo, živijo dalj časa (26, 40).

Nekatere vrste ob primernih pogojih (zlasti v ujetništvu) ne hibernirajo, druge vrste, na primer škatlarice (*Terrapene* sp.), v zgodnji jeseni prenehajo s prehranjevanjem ne glede na ugodne pogoje v okolici. V novejši literaturi zasledimo različna mnenja, ali je hibernacija sploh potrebna. Nekateri trdijo, da mlade želve do starosti treh do štirih let ne potrebujejo hibernacije. V vzrejnih pogojih je to odvisno od gojitelja in od stalnosti temperature danega okolja. V ameriški literaturi so za hibernacijo uvedli nov izraz to je brumacija. Pod tem pogojem pojmujejo plitko obliko hibernacije. Le-to priporočajo pri več zemeljskih in vodnih vrstah želv (26).



Slika 14: Pričetek hibernacijskega obdobja (zgoraj, levo spodaj); zorano področje, kjer se želve zakopljejo in hibernirajo čez zimo (desno spodaj) (Slika: A Dovč, 2004).

Pridobitev telesne mase v poletnem času je predpogoj za hibernacijo. Tako imenovano Jacksonovo razmerje primerja telesno maso (g) z dolžino karapaksa (mm). Je preprosta ter hitra metoda pomembna za oceno zdravstvenega stanja pri želvah. Meri se v ravni liniji, tako da se želvi pred kranialni in kavdalni del oklepa postavi navpični predmet ter izmeri razdalja med obema točkama. Običajno uporabljamo graf z Jacksonovim razmerjem. Dobljen rezultat se odčita na grafu (40, 41).

Le zdrave želve, ki so se dobro prehranjevale, lahko hibernirajo. Bolezen je jasen pokazatelj za odlog ali preprečitev hibernacije. Vsaj dva tedna pred hibernacijo je potreben tudi kliničen pregled ter pregled iztrebkov na prisotnost endoparazitov (26, 40). Potrebno jim je omogočiti dobro pripravo na čas hibernacije in s tem tudi boljšo možnost spomladanskega nadaljevanja aktivnega obdobja. McArthur in Barrows (25) predlagata stradanje tri do štiri tedne pred začetkom hibernacije.

2.3.8 Anatomske posebnosti želv

2.3.8.1 Oklep želv

Oklep je sestavljen iz hrbtnega dela – karapaksa in trebušnega dela – plastrona (8). Sestavljajo ga endohondralni elementi, na katere se navezuje mozaik dermalnih kosti, ki je prekrit z zunanjim epidermalnim slojem oziroma keratinoznimi ploščicami. Želve imajo 10 vretenc, ki skupaj z rebri oblikujejo karapaks. Deseto rebro je pogosto nerazpoznavno tako pri embriju kot pri odraslih želvah, vendar je prisotnost velikega desetega rebra pri zarodku normalna variacija. Prsna rebra vstopajo v dermis oklepa malo pred njihovim sklepom z vretencem. Lateralno se širijo znotraj karapaksnega dermisa in končujejo na periferiji (42).

V oklepu ponavadi najdemo 38 parnih in 12 ali 13 neparnih kosti (včasih je superpigealna kost razdeljena) karapaksa ter 8 parnih kosti (epiplastron) in eno neparno kost plastrona (entoplastron). Izjemoma se pojavijo variacije okoli vratu in repa, kjer nosilni skelet ni povsem združen s karapaksom (42).



Slika 15: Karapaks pri zvezdasti želvi – *Geochelone elegans* (Slika: A. Dovč, 2002).



Slika 16: Osrednja, neparna ploščica plastrona pri grški želvi (Slika: A. Dovč, 2009).

Entoplastron je osrednja kost, ki je pomembna pri oblikovanju ramenskega sklepa (42).

Epidermalen sloj oklepa je ponavadi sestavljen iz 38 ploščic karapaksa in 16 ploščic plastrona. Tudi tu lahko število variira, odvisno od rodu, kateremu želve pripadajo. Vsaka ploščica pokriva določeno območje kostnega mozaika. Vzorec žleba med sosednjima ploščicama in šivi oblikujejo minimalne prekrivajoče vzorce. Vzorec epidermalnega pokrova se razvije dosti pred osifikacijo kosti oklepa, zato ima spodaj ležeči dermis lahko pomembno vlogo pri oblikovanju epidermalnih ploščic (42).

Roževinaste ploščice karapaksa delimo na:

- vretenčne (vertebralne) – osrednja vrsta ploščic vzdolž hrbtenice;
- rebrne (kostalne/plevralne) – neparne ploščice med vretenčnimi in robnimi;
- robne (marginalne) – ploščice vzdolž roba karapaksa (ponavadi jih je 11 in so neparne);
- nadglavno (nuhalna, marginalna) – ploščica tik nad glavo;
- nadrepno (suprakaudalna) – ploščica nad repom (43).

Roževinaste ploščice plastrona delimo na:

- ramensko (humeralna) – ploščica za podbradkom;
- prsno (pektoralna);
- vratno (gularna, plastralna) – ploščica pod glavo;
- trebušno (abdominalna);
- stegnenično (femoralna);
- ingvinalno – majhna trikotna ploščica, ki leži kranialno od zadnjih nog;
- zadnjično (analno) – ploščica plastrona za repom (43).

Sočasno z rastjo želve raste celoten spodaj ležeči del ploščice, kakor tudi obrobje s proliferacijo keratina. Rast je ponavadi sezonska. Rastne obroče oziroma trakove (anule) lahko vidimo na vsaki ploščici. Pri novoizleglih želvah nastane t.i. "areola", ki se nahaja blizu centra ploščice. V vsakem obdobju intenzivne rasti nastajajo novi periferni obroči (42).

Rastni obroči okoli areole so pogosto uporabljeni kot indeks starosti živali, čeprav je to zanesljivo le pri mladih želvah in pri tistih ki žive na hladnejših območjih kjer je prisotna zimska hibernacija. Zelo stare želve imajo lahko popolnoma gladke ploščice kot posledica nenehne abrazije, pri drugih vrstah želv, na primer pri jastrebji želvi hlastavki – *Macrochelys temminckii*, pa se letni obroči ohranijo dvajset ali več let (44).



Slika 17: Določanje starosti želve po zažemkih na ploščici karapaksa pri vrsti *Geochelone radiata* (Slika: A. Dovč, 2008).

2.3.8.2 Koža

Koža je zgrajena iz povrhnjice in dermisa, ki se direktno prilega pokostnici. Ploščice predstavljajo nagubano povrhnjico. Oklep je pokrit s posebnimi ploščicami iz trde povrhnjice. Pretežna sestavina povrhnjice je večslojni β-keratin, ki pokriva spodaj ležeče stolpičaste epitelne celice. Interskalarni prostor ali šivi so iz α–keratina, ki je elastičen in voljen. Zunanji del dermisa oklepa vsebuje kolagenska vlakna, melanofore, žile in živce. Pod dermalnim veznim tkivom je dermalna kost. Pri želvah se nenehno odvija epidermalna rast in nadomeščanje z novo, notranjo povrhnjico (5, 45). V dermisu se nahaja celovit pigmentni sistem melanofor. Le-te vsebujejo melanin, eritroforein, ksantofore, ki vsebujejo reflektne platele iz gvanina, adenina, hipoksantina in urične kisline. Ureditev teh celic tako vertikalno kot horizontalno odloča o barvi in vzorcu želv (5). Posamezne želve lahko ločimo tudi na osnovi barve oklepa, saj je vsak vzorec posamično edinstven tako za vrsto kot za posameznika (10).

2.4 MIKROČIPIRANJE

S permanentno označitvijo živali je omogočena boljša sledljivost. Pred mikročipiranjem so uporabljali različne tehnike označevanja živali. Pri sesalcih so uporabljali oštevilčene ušesne ploščice, pri pticah barvne nožne obročke in pri ribah puščičaste ploščice, ki so omogočale sledenje vzorca ali selitev živali. Morske želve so pogosto označene z zunanjimi kovinskimi ploščicami, s pomočjo katerih so sledili pogostost gnezdenja in plodnost posameznih samic. Več kot 60 let so sladkovodne in kopenske želve označevali z zunanjimi ploščicami na robu oklepa. Na podlagi tega so uspešno ugotavljali dolgoživost želv. Nekateri znanstveniki so uporabljali označbe oklepa s pomočjo barve. Razvili so tudi različne tehnike za kače: hladno in vroče žigosanje, tetoviranje, barvanje repa klopotač (4).





Slika 18: Začasno označevanje želv (levo); Označevanje želv z obstojno barvo: z rdečo barvo so označeni samci in z rumeno samice (desno) (Slika: A. Dovč, 2006; 2009).

Zaradi možnosti izgube ploščic ali razbarvanja označb so razvili mikročipe. Uporaba mikročipa s pomočjo injektorja je danes najpogostejša tehnika za permanentno označevanje živali. Tehnika ima veliko prednosti; je lahko berljiva, zelo obstojna in ima majhen odstotek izgube ali nefunkcionalnosti (4, 46).

Hkrati s trajnostjo označbe so zagotovili možnost preverjanja in sledenja posamezne živali. Tako so lahko spremljali rast, selitve ob različnih obdobjih, sestavo populacije in drugo. Prednosti mikročipa so: natančna, permanentna, notranja označitev posameznika. Nima negativnih vplivov na posameznikovo rast, reprodukcijo, dovzetnost za plenilce, hitrost plavanja. Upoštevati je potrebno velikost živali, njeno zdravstveno stanje, možnost zavrnitve čipa kot tujek, migracijo čipa (4).

2.4.1 Označevanje živali prosto živečih vrst

Vsi imetniki sesalcev, plazilcev in ptic so v skladu s Pravilnikom o označevanju živali prosto živečih vrst v ujetništvu (47) dolžni na predpisan način označiti vse osebke, ki pripadajo vrstam, navedenim na seznamih, ki so priloge tega pravilnika.

Ustrezno označena žival je v skladu z določbami pravilnika tista, ki ima nameščeno trajno oznako v obliki zaprtega obročka, mikročipa ali odprtega obročka.

Vse osebke sesalcev in plazilcev ter tistih ptic, ki jih ni mogoče označiti z zaprtimi obročki, je potrebno označiti z mikročipom predpisanih standardov. Izjemoma se z odprtim obročkom označijo tudi osebki sesalcev in plazilcev.

Vsi osebki ptičev se praviloma označijo z zaprtimi obročki, katerih notranji premer je vrstno odvisen in določen v s pravilnikom. Če osebek pripada vrsti, ki ni navedena v prilogi, ga je potrebno označiti z mikročipom ali odprtim obročkom ali opisno.

V primeru, da označitev osebka ni mogoča z namestitvijo trajne oznake, se taka žival označi opisno, pri čemer se dokumentirajo vse zunanje značilnosti, po katerih je žival mogoče z gotovostjo prepoznati in ločiti od drugih osebkov. Zlasti je potrebno navesti velikost in dolžino živali, njegovo telesno maso, spol in starost, priporočljivo je tudi foto-dokumentiranje.

Oznake morajo po obliki in kvaliteti ustrezati naslednjim zahtevam: mikročip mora ustrezati standardoma ISO 11784:1996(E) in ISO 11785:1996(E); koda, ki je vgrajena v mikročip, mora biti trajno berljiva, nespremenljiva in sestavljena iz petnajst mestnega števila; posamezni mikročipi morajo biti do namestitve v žival sterilno pakirani.

V seznam mikročipiranih živali so vključene vse vrste živali iz skupin sesalcev, ptičev in plazilcev. Želve so vključene v Prilogi A Uredbe Sveta št. 338/97/ES o varstvu prosto živečih živalskih in rastlinskih vrst z zakonsko ureditvijo trgovine z njimi (14) in Uredbi Komisije (ES) št. 407/09 o spremembi Uredbe Sveta (ES) št. 338/97 (18) ter v Prilogi 1 Uredbe o zavarovanih prosto živečih živalskih vrstah (16).

Po pravilniku je potrebno je označiti tudi vse osebke, ki so vključeni v matično skupino živali pri dejavnosti gojitve živali prosto živečih vrst v ujetništvu. Seznam vrst vključuje vse vrste živali iz skupin sesalcev, ptičev in plazilcev, ki so določene v Prilogi B Uredbe Sveta (ES) 338/97 in Uredbi Komisije (ES) št. 407/09.

Za označitev osebkov vrst iz gornjih seznamov je odgovoren njihov imetnik, ki je dolžan označiti žival najkasneje v desetih delovnih dneh od pridobitve oziroma v petih delovnih dneh po končani karanteni, če je ta daljša od desetih delovnih dni, razen če drug predpis ne določa krajšega roka za označitev.

Izjeme, ko označitev živali ni potrebna, so:

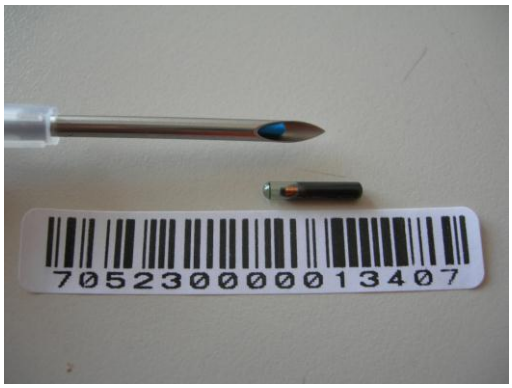
- živali, ki so bile označene s strani pristojnih organov v drugih državah, če sta način označitve in vrsta oznake enakovredni tistim, ki so predpisane s pravilnikom;
- mladiči želv s plastronom krajšim od 100 mm;
- živali, ki so lažje od 200 gramov ali še niso dosegle te telesne mase;
- živali, ki imajo dovoljenje ministrstva, da ostanejo neoznačene;
- živali, ki jih raziskovalci oziroma raziskovalne organizacije odvzamejo iz narave z namenom raziskovanja.

Živali smejo označevati doktorji veterinarske medicine z pridobljeno veterinarsko licenco, ki so vpisani v evidenco označevalcev živali prosto živečih vrst na podlagi odločbe Agencije Republike Slovenije za okolje (ARSO) (47).

2.4.1.1 Mikročipi

Mikročip je podoben injekciji. Je iz inertnega materiala in ne povzroča alergičnih reakcij v tkivu. Mikročip je majhen in prehaja skozi hipodemno iglo. Antimigracijski polimerni sloj na mikročipu zmanjšuje možnost migracije čipa. Ob stiku s telesno tekočino prevleka sproži nastanek tanke plasti veznega tkiva okoli mikročipa in s tem mirovanje le-tega (46).

Predpisane oznake na mikročipih morajo po obliki in kvaliteti ustrezati zahtevam standarda ISO 11784:1996(E) in ISO 11785:1996(E). Koda, ki je vgrajena v mikročip, mora biti trajno berljiva in nespremenljiva. Sestavlja jo petnajstmestno število v obliki 705XXYYYYYYYYY, pri čemer predstavljajo številka 705 oznako države v skladu z ISO standardom 3166, vrednost XX 991 minus koda proizvajalca, določena s standardom ICAR, in vrednost YYYYYYYYY posamezno številko živali (47).



Slika 19: Predpisana oznaka na mikročipu (Slika: A. Dovč, 2009).

2.4.2 Označevanje želv

V praksi se najpogosteje uporabljata mikročipiranje in pri mladih živalih individualna identifikacija želv s pomočjo fotografij.

Na podlagi fotografij karapaksa in plastrona oziroma na podlagi določenih ploščic karapaksa in karakterističnih potez ploščic plastrona se da uspešno določiti posameznika. Izbrane ploščice karapaksa so nadglavna in peta vretenčna ploščica. Vsako skrbno očiščeno želvo (da blatni madeži ne prekrijejo naravne obarvanosti) je potrebno dvakrat fotografirati. Fotografija karapaksa mora biti narejena v vertikalni poziciji, da sta vidni vratna in zadnja centralna ploščica. Druga fotografija mora prikazati plastron želve, zato želvo obrnemo na hrbet. Ozadje fotografij naj bo enobarvno s priloženim ravnilom ali sestavljeno iz 1 cm kvadratkov, na podlagi česar lahko tudi izmerimo dolžino živali (48). Fotografiranje živali je neinvazivna tehnika, zelo uporabna pri želvah, manjših od 10 cm (49).



Slika 20: Fotografiranje – način identifikacije želve (Slika: Ž. Dular, 2010).

Implantacija mikročipov pri želvah je varna in uspešna. Mednarodno dogovorjeno mesto aplikacije mikročipa pri kopenskih vrstah želv je leva zadnja noga, pri velikih vrstah se aplicira podkožno v tarzalno regijo (50). Pri vodnih želvah tudi v retroperitonealni prostor med vratom in sprednjo nogo. Najboljše mesto aplikacije je v področje štiriglave mišice. Čip se lahko namesti podkožno pri dovolj velikih živalih ali v mišičnino pri malih živalih (51). Želve se običajno mikročipira brez sedacije oziroma anestezije (50).

Pri kuščarjih je mesto aplikacije mikročipa v levo štiriglavo mišico ali podkožno na tem področju. Pri majhnih vrstah apliciramo mikročip podkožno na levo stran telesa. Kačam se mikročip aplicira na levo stran tilnika oziroma vratu. Podkožno apliciramo na mestu dvojne dolžine glave gledano od konice nosu. Mesto aplikacije mikročipov pri krokodilih je anteriorno nasproti nuhalnega področja (51).

2.5 BOLEZNI KOPENSKIH ŽELV

Pred postopkom mikročipiranja, ki lahko predstavlja za želvo stres, je potrebno vsako želvo klinično pregledati. Nekatera bolezenska stanja vplivajo na potek in izid mikročipiranja bolj, nekatera manj. Mikročipirajo se samo klinično zdrave želve, zato pa je potrebno poznati zdravstveno stanje reje in predhodno opraviti nekatere laboratorijske preiskave.

2.5.1 Klinični pregled

Ob kliničnem pregledu želvo stehtamo in opazujemo način dihanja, gibanje in odziv na okolico. Enkratno tehtanje ni merodajni znak bolezni, zato to opravimo vsakič, ko je žival na pregledu, ali naročimo stranki izvajanje redne kontrole. S palpacijo lahko zaznamo poškodbe, zlome in druge patološke spremembe na površini oklepa in koži ter spremembe v kloaki in v celomski votlini. Pregled notranjih organov opravimo preko bočne strani, ob izstopu zadnjih okončin. Pri pregledu smo posebno pozorni na glavo in ustno votlino. Ugotavljamo poškodbe, izcedke, spremembe kože oz. sluznice glave. Sledi pregled oklepa in kože na nogah. Ugotavljamo prisotnost ektoparazitov, ran, abscesov, izcedkov, ulceracij in oteklin. Kot pri drugih živalskih vrstah, se tudi pri želvah lahko poslužujemo avskultacije celomske votline. Po potrebi se uporablja rentgen in ultrazvok. Klinični pregled želv vključuje poleg splošnega pregleda še odvzem vzorcev krvi, iztrebkov in urina za nadaljnje laboratorijske preiskave: pregled na endoparazite, salmonele in druge patogene bakterije, viruse. Iztrebki in urin se pregledajo tudi organoleptično (52).

Uporaba rentgena pri želvah je najpogostejša za pregled skeleta, pljuč, prebavnega in urogenitalnega sistema. Na rentgenskem posnetku so dobro vidna morebitna kalcificirana jajca in uroliti, malo pa razberemo o dogajanjih na ledvicah, jetrih, srcu, ščitnici, trebušni slinavki ali vranici, razen v primeru kalcificiranosti ali ob povečanju le-teh (53).

Za želve je značilno, da jih je mogoče rentgenizirati brez sedacije. Ponavadi zadostuje postavitev želve na kaseto za dober posnetek. Nemirne živali se lahko fiksira s pomočjo lepilnega traku na kaseto ali s prosojnim (translucentnim) podstavkom, npr. škatlo, pri čemer moramo paziti na pojav artefaktov na rentgenski sliki (53). Uporabljajo se tri projekcije: dorzoventralna (prsni položaj); kraniokavdalna (od glave proti repu) in lateralna (stranska) (53).

Ultrazvok z dvoakustičnim oknom omogoča ogled srednje velikih želv (nad 700 g) z uporabo 3,5 do 5 MHz sonde. S pomočjo predstegnjeničnega (prefemoralnega) akustičnega okna lahko vidimo reproduktivno stanje zrele samice, velikost in homogenost jeter ter velikost in homogenost ledvic. S vratno-nadlahtnim (cervikobrahialnim) akustičnim oknom pa si lahko ogledamo srce, jetra, ščitnico in večje žile (53).

2.5.1.1 Odvzem kri

Celotna količina krvi pri plazilcih je ocenjena na 5 do 8 odstotkov telesne mase. Maksimalni volumen krvnega vzorca pri želvah je 3 ml/kg telesne mase (52, 53). Za hematološke preiskave zadostuje le 0,2 do 0,3 ml krvi (54).

Pri kopenskih želvah je mogoče jemati krvne vzorce za hematološke in biokemične preiskave na različne načine. To je odvisno od vrste, volumna potrebne krvi, velikosti in kondicije živali. Opisana mesta odvzema krvnih vzorcev pri želvah so jugularna vena, hrbtna in stranska repna vena, nadlaktna vena, postokcipitalni venozni pletež, stegnenični venozni pletež, orbitalni sinus, punkcija srca in ščipanje krempljev. Upoštevajoč druge avtorje, so boljša izbira dorzalna repna vena in nadlaktna vena, zlasti za rod *Testudo* (54). Hernandez Divers in sodelavci (62) so predstavili tudi priročnost subkarapaksnega venskega stičišča, kjer je mogoče odvzeti večjo količino krvi tako pri velikih kot malih želvah, pri čemer je glava lahko skrčena ali iztegnjena.

Na hematološke vrednosti vpliva mesto odvzema. Pri plazilcih se limfatične žile pogosto nahajajo ob krvnih žilah; pogosto se zmešajo kri in limfa pri punkciji perifernih žil. Limfa pogosto zgleda kot transparentna tekočina, ki vstopa v brizgo, tik preden se prikaže kri. V tem primeru je potrebno brizgo odstraniti in ponovno vzeti vzorec (54).

Avtorji omenjajo, da je tveganje kontaminacije krvnega vzorca z limfo zaradi bližine limfnih vozlov in krvnih žil velika pri nadlaktni veni in dorzalni repni veni (54, 55).

Tabela 3: Literaturni podatki o hematoloških parametrih pri želvah.

	Testudo graeca/ Testudo hermanni	***Testudo hermanni* podvrsta hermanni**
Referenca	(54)	(56)
Hematokrit (%)	28-34	24,44
Eritrociti (*10^{12}/L)	0,7-1,0	0,49
Hemoglobin (g/L)	0,91-1,13	0,614
MCV (fL)	384-944	514,8
MCHC (g/dl)	27-30	26,32
MCH (pg)	/	122,64
Levkociti (*10^{9}/L)	/	7,24
Heterofilci (%)	/	48,6
Limfociti (%)	/	22,5
Monociti (%)	/	3
Eozinofilci (%)	/	23,3
Bazofilci (%)	/	1

Tabela 4: Literaturni podatki o biokemičnih parametrih pri želvah.

	Testudo graeca	***Testudo hermanni***	***Testudo graeca/ Testudo hermanni***	***Testudo hermanni* podvrsta hermanni**
Reference	(57)	(57)	(58)	(58, 59)
Območje vrednosti	mediana (min-max)	mediana (min-max)	min-max	min-max
Hematokrit (%)	23 (17-35)	23 (16-35)	/	24-35
ALT (U/L)	1 (0,00-4,00)	1 (0,00-2,00)	/	/
AST (U/L)	23,0 (1-138)	16,5 (9-43)	18-222	19-103
GLDH (U/L)	1,2 (0,4-5,5)	0,7 (0,3-2)	/	/
LDH (U/L)	/	/	89-269	161-473
AP (U/L)	175 (54-1104)	237 (99-461)	61-211	196-425
CK (U/L)	81,0 (6-2023)	20,5 (5-488)	/	2,1-9,7
Sečna kislina (mmol/L)	0,056 (0,024-0,184)	0,215 (0,050-0,532)	0,035-0,244	/
Sečnina (mmol/L)	6,07 (1,43-11,78)	3,03 (1,07-12,85)	/	/
Holesterol (mmol/L)	3,62 (1,66-8,53)	2,72 (0,65-8,95)	/	/
Glukoza (mmol/L)	3,99 (0,72-12,99)	3,69 (2,49-5,77)	/	1,98-5,89
Celoten bilirubin (µmol/L)	0 (0,00-0,342)	0 (0,00-0,855)	/	/
Celokupne beljakovine (g/L)	35,4 (2,3-44,4)	36,1 (20,3-55,6)	13-38	31-54
Albumin (g/L)	16,7 (8,9-28,5)	14,9 (5,6-20,9)	5-18	/
CHE (U/L)	312 (106-1322)	237 (77-651)	/	/
Natrij (mmol/L)	133,0 (125,8-137,1)	130,7 (117,1-137,0)	/	130-144
Kalij (mmol/L)	3,54 (2,77-5,64)	4,73 (3,59-6,90)	/	4,5-5,01
Celotni kalcij (mmol/L)	3,05 (0,73-3,74)	3,57 (2,22-4,79)	2,0-2,9	/
Ioniziran kalcij (mmol/L)	1,37(0,82-1,78)	1,27(1,04-1,91)	/	1,09-1,4
Anorganski fosfat (mmol/L)	0,82(0,62-3,27)	0,72(0,01-1,17)	0,45-1,7	1,7-3,3
Klorid (mmol/L)	/	107,7 (66-134)	/	96-115

2.5.2 Prehrana in posthibernacijska anoreksija

Želve, ki so dehidrirane, in tiste pred izleganjem so občutljive za visokoproteinsko hrano. Krmljenje z živalskimi proteini vodi v dvig koncentracije sečne kisline in sečnine. Največkrat so posledica take prehrane poškodbe ledvic. Mehur skupaj z ledvicami uravnava regulacijo tekočin in elektrolitov. Urin v mehurju predstavlja rezervo tekočine v času suše oz. pomanjkanja vode. Lastnost sečnine je hiter prehod preko membrane mehurja v kri, medtem ko je sečna kislina v mehurju precipitirana v netopne urate. Zaradi te fiziološke lastnosti želve proti koncu hibernacije postanejo hiperuremične. Ob nepravilni prehrani kot so pasji briketi, piletirana hrana, se zaradi katabolizma beljakovin in s tem večjega nastajanja sečne kisline in/ali manjšega izločanja sečne kisline pojavi hiperurikemija, kar vodi v urikozo – nalaganje sečne kisline in uratnih soli v visceralna tkiva. Pri mladih želvah preveč proteinov v hrani vodi v prehitro rast, t.i. piramidalne luske, prezgodnjo zrelost ter hiperuremijo in nadalje v urikozo (21, 25).

Anoreksija pomeni zmanjšanje ali izguba apetita, ki se kaže kot neješčnost. Je simptom, ki je lahko pridružen mnogim infekcijskim in metabolnim boleznih ter pomanjkljivim pogojem vzreje. Izhaja lahko tudi iz spremenjenega, nefiziološkega obnašanja (60). Anoreksija je povezana s katerokoli akutno ali kronično boleznijo (61).

Posthibernacijska anoreksija je povezana z dehidracijo, povišano krvno sečnino in nizko koncentracijo krvne glukoze. Največkrat se kaže le z enim kliničnim znakom to je Jacksonovim razmerjem: nizko razmerje telesne mase nasproti dolžini želve. Pogosto se spremenjenemu Jacksonovemu razmerju pridružijo rinitis in nekrotičen stomatitis (62).

Poznamo več vzrokov nastanka posthibernacijske anoreksije. Sem sodijo predvsem: predolga hibernacija, levkopenija, nezadostna posthibernacijska oskrba, bolezen ali travma nastala med hibernacijo, neznane kronične bolezni (61).

Posthibernacijsko anoreksijo delimo na podlagi vzrokov na:

- komplicirano (patološki vzrok) in
- nekomplicirano (psihološki ali prostorski vzrok).

Patološki vzrok ima pridruženo kakšno bolezen ali pa je bolezen (nekrotični stomatitis, rinitis) sama vzrok tovrstne anoreksije. Velikokrat je vzrok v poškodbi oči zaradi mraza ali kronični izčrpanosti in slabi prehrani iz preteklih sezon. Pri psihološkem ali prostorskem vzroku pa največkrat takšne želve trpijo zaradi dehidracije, uremije, nizkega krvnega sladkorja ali kombinacije le-teh. Vse to je posledica neprimerne hibernacije, pretirano dolge in slabo pripravljene hibernacije. Po končani hibernaciji so za primerno stimulacijo apetita pomembni temperatura, svetloba in vlaga (63).

Kot posthibernacijsko anoreksijo navajajo neješčnost živali znotraj sprejemljivega prebujevalnega časa. Mnenja se delijo o tem, kdaj je primeren čas intervencije. Za boljšo prognozo je primerna čim prejšnja pomoč (61, 64).

2.5.3 Stres

Stres je stanje, ki se kaže kot osebni odziv posameznika na spremembe. V času stresa žival ni sposobna uravnati reakcije na spremembe. Ta dekompenzacija se kaže kot motnja zavesti, čustev in vedenja. Vse skupaj lahko vodi do negativne spremembe samega organizma (65). Akutni stres povzročajo nenadne spremembe, kot je lov, pregled živali (58). Kronični stres povzročajo raznovrstni dejavniki iz okolja, kot so neprimerna temperatura, vlaga, paraziti ali ujetništvo. Stres se kaže v povišanem izločanju kortikosterona in zmanjšanju spolnih steroidih hormonov (39).

Tako akutni kot kronični stres močno vplivata na reprodukcijo kopenskih želv. Veliko vplivov stresa je uravnavanih preko hormonov skorje nadledvične žleze, na katero vpliva adenokortikotropni hormon adenohipofize. Ob stimulaciji skorje se začno izločati različni kortikosteroidni hormoni (npr. kortikosteron), ki so vključeni pri odgovoru na stres. Skorja nadledvične žleze ob stresu izloča manjše količine progesterona in androgenov (39).

2.5.4 Toplotni udar

Do toplotnega udara pride po navadi zaradi direktne izpostavitve soncu (61). Posledično je opazno povišanje telesne temperature. V primeru, da želva najde hladnejše zavetje, se telesna temperatura zniža s pomočjo evaporacije preko kože in ustne votline. Želve ne kažejo kliničnih znakov vročinskega stresa do telesne temperature 41 °C, ko le obmirujejo. Pri telesni temperaturi nad 41 °C pričnejo sopsti, s čimer ohlajujejo telo. Urinirajo po nogah in dimeljskem področju, s čimer se ohlajujejo preko kože z evaporacijo. Pri temperaturi nad 41 °C se penijo okoli ust, kar predstavlja glavni način ohlajevanja. Aktivno širijo peno okoli glave in sprednjih nog. Ob naraščanju temperature postanejo razdražljive v poskušanju bega pred vročino. Evaporativno hlajenje je učinkovito pred dvigom telesne temperature približno tri ure. Želve uspešno vzdržujejo razliko 8,5 °C notranje telesno temperature tri ure, pri 51 °C zdrže razliko 10,5 °C eno uro in pol. V tem času skušajo poiskati hladnejši prostor. Mehur vsebuje rezervo vode v namen termoregulacije pri toplotnem udaru. Dehidrirana žival ali žival, ki izrabi vodne rezerve ne preživi (66).

2.5.5 Metabolna bolezen kosti

Najpogostejša prehranska bolezen je presnovna bolezen kosti in je glavni vzrok zgodnjega pogina (67). Presnovna bolezen kosti prizadene kopenske želve zaradi dolgotrajne pomanjkljive prehrane. Pomanjkanje kalcija in/ali vitamina D, nepravilno razmerje kalcij: fosfor, in/ali pomanjkljivo izpostavljanje UV žarkom. Redkeje je vzrok v moteni presnovi vitamina D zaradi bolezni ledvic, jeter, prebavil, ščitnice ali obščitnice. Presnovna bolezen kosti združuje širok spekter kliničnih sindromov, kot so prehranski sekundarni hiperparatireoidizem, osteoporoza, osteomalacija, rahitis, fibrozna osteodistrofija in hipokalcemija (61, 68, 69).

Presnovna bolezen kosti je najpogosteje vidna pri hitrorastočih kopenskih želvah. Odrasle živali, ki imajo že razvite kosti, so odpornejše na pojav presnovne bolezni kosti, ker so kosti velikokrat rezerva kalcija. Kosti vretenčarjev vsebujejo 99 odstotkov kalcija. Vretenčarji nenehno potrebujejo kalcij kot celularni ion, ki ima nevrocelularno vlogo. Ob padcu nivoja kalcija v zunajcelični tekočini se poveča nivo paratireoidnega hormona. Pri sesalcih paratireoidni hormon stimulira aktivnost osteoklastov, temu sledi sprostitev kalcija in fosforja iz kosti. Poveča se renalna ekskrecija fosforja in zmanjša renalna ekskrecija kalcija. Dodatno paratireoidni hormon stimulira sintezo 1,25-dihidrokalceferola, ki omogoča absorpcijo kalcija iz tankega črevesja. Sčasoma kosti, če količina kalcija iz hrane ne nadomesti zaloge v kosteh, oslabijo. Pojavljajo se zlomi in fibrozne zadebelitve kosti. V trenutku, ko kostne zaloge niso več sposobne vzdrževati homeostazo kalcija, začne žival hitro umirati (68).

Kalcitonin izvira iz ultimobrahialne žleze in je antagonist paratireoidnemu hormonu. Kalcitonin zavira resorpcijo kalcija iz kosti, ko je nivo plazemskega kalcija visok. Ima manj pomembno vlogo pri presnovi kalcija od paratireoidnega hormona (68).

Prehrana rastlinojedih živali pogosto vsebuje premalo kalcija in presežek fosforja. Večina sadja in solate vsebuje malo kalcija. Tako pri rastlinojedih vrstah živali pomanjkljiva prehrana vodi do presnovne bolezni kosti (68). Idealno razmerje kalcija in fosforja pri rastlinojedih želvah je pri rastočih 2:1, ali vsaj 1,25:1 za popolnoma odrasle želve. Glede na kemijsko sestavo prehrane prosto živečih želv kaže grobo razmerje njihove prehrane tri ali celo štiri dele kalcija nasproti enemu delu fosforja (21, 61, 67).

Pri kopenskih želvah je klinična slika presnovne bolezni kosti odvisna od tega, ali se razvije oklep pred pojavom bolezni. Če je žival mlada in še raste, se presnovna bolezen kosti kaže v vidnih nepravilnostih. Približno v enem letu mladič razvije trden oklep. Ob pojavu bolezni pa se oklep ne uspe kalcificirati, ostane mehek in se ob najmanjšem dotiku upogne (68). Želve krmljene pretežno z zeleno solato brez mineralnih dodatkov, kažejo nepravilnosti oklepa. Tudi ob nepravilni visoko proteinski prehrani z relativnim pomanjkanjem kalcija, bodo imele akutno mehek oklep, vidna bo piramidasta rast ploščic in izredno visok nivo krvne sečnine (61, 67).

Ob stalni rasti in sočasnemu pomanjkanju kalcija se pokaže več nepravilnosti oklepa. Karapaks se upogne ventralno, zlasti na sredini, ko apendikularne mišice kažejo tenzijo navzdol. Ploščice rastejo neenakomerno. Ob nadaljnji rasti oklep postane »premajhen« za želvo (61, 68). Tudi na lobanji se razvijejo nepravilnosti. V lateralnem profilu je lahko zgornja maksila upognjena navzdol in spominja na kljun papige (68). Pri odraslih se kaže v slabosti mišic, izpadu kloake, retenciji jajc, zlomih dolgih kosti, hiperparatireodizmu (61).



Slika 21: Deformacija zgornje čeljusti pri grški želvi – videz kljuna kot pri papigi (Slika: R. Lindtner-Knific, 2010).

2.5.6 Distocija

Distocija pomeni nezmožnost izleganja jajc. Je najbolj pogosta težava pri plazilcih. Na podlagi opazovanj so ugotovili, da se v ujetništvu pojavi pri približno 10 odstotkih plazilske populacije. Od tega je pri želvah 39 odstotna, pri kačah 42 odstotna in kuščarjih 18 odstotna pogostnost pojava distocije (61, 70).

Možni etiološki vzroki so:

- premalo prostora za gnezdenje (tekmovanje za gnezdo, agresija, pregosto naseljena obora, moteči agresivni samci, stres),
- neprimerno okolje (temperatura, vlaga, svetloba),
- fiziološke in morfološke napake, sistemske bolezni (nepravilna oblika jajc, neprehodnost poti, infekcije, endokrinopatije) (61, 70).

Distocija je posledica različnih dejavnikov, katere lahko delimo na obstruktivne in neobstuktivne. Obstuktivna distocija je posledica anatomskih nepravilnosti, ki onemogočajo prehod enega ali več jajc skozi ovidukt in kloako. Vzrok so lahko prevelika in/ali malformirana jajca ter nepravilnosti porodnih poti; zožitev jajcevodov, abscesi in cistični kalkuli, fibrinozne mase v jajcevodih, napačno oblikovana medenica. Dodatno je lahko obstruktivna distocija posledica napačne lege jajc ali frakture jajc (70).

Vzrok neobstruktivne distocije so slaba higiena, neprimerna mesta gnezdenja, neprimerna temperatura, neprimerna prehrana, dehidracija. Potencialni vzrok je lahko slaba kondicija samice, živali imajo namreč v ujetništvu pogosto slabo razvito mišičje; ovipozicija pa zahteva dodatno mišično zmogljivost (70). Retencije jajc pri želvah je skoraj nemogoče opaziti brez rentgena (71). Klinični znaki so depresija, utrujenost ali otečenost kloake (70).

2.5.7 Poškodbe oklepa

Površinske abscese in erozije keratinskih ploščic prepoznamo kot poškodbe ali razbarvanja ploščic (72). Pogosto so videne pri oslabelih ali poškodovanih želvah. Take poškodbe so največkrat posledica travmatskih poškodb (ugrizi, plenilci, kosilnice) ali same infekcije (73). Lezije so lahko točkaste ali razširjene. Razbarvanja so lahko bleda ali pa krvava. Del ali celotna ploščica lahko odstopi (72).

Včasih so abscesi globoki s značilnim vonjem. Spodaj ležeči sloji so vlažni ali krvavi. Nekateri abscesi prodrejo celotno debelino oklepa in segajo vse do celomske membrane (72). Pogosto so abscesi prekriti z rjavim ali zelenim eksudatom. Stare poškodbe lahko segajo v jedro nekrotične kosti. Pogosto je okuženo tudi globlje ležeče tkivo, čeprav na prvi pogled tega ne opazimo (73).

Zlomi oklepa so posledica travme, na primer ko je želva vržena, pohojena, povožena, pokošena ali pogrizena. Celitvena sposobnost oklepa je zelo dobra. Ob popolni zacelitvi ostane brazgotina dobro vidna. Posledica poškodb se pogosto kaže kot šok, notranje krvavitve, stisnjena pljuča (72-74).

2.5.8 Abscesi

Absces je definiran kot zaokroženo vnetje napolnjen z gnojem in odmrlimi celicami (30). Je eden najpogostejših dermatoloških težav pri ujetih kopenskih želvah. Največkrat so začetni vzrok za nastanek abscesa so travmatska poškodba, ugriz ali neprimeren življenjski prostor (75, 76). Temu se ponavadi pridružijo različne bakterije (anaerobni organizmi iz rodu *Peptostreptococcus* in aerobni iz rodov *Pseudomonas, Aeromonas, Serratia, Salmonella, Micrococcus, Erysipelothrix, Citrobacter freundii, Proteus, Staphylococcus, Streptococcus, Klebsiella, Arizona, Dermatophilus* ter *Morganella morganii, Escherichia coli*) in vnetje. Podkožni absces je opazen kot vozlič ali kot oteklina. Diferencialna diagnoza vključuje parazitarne vozliče, glivice, tumorje, hematome (58, 77).

Večkrat so po aplikaciji multivitaminskih raztopin pri želvah vidni abscesi. To je najverjetneje posledica dražečih sestavin preparatov ter premajhna čistoča mesta aplikacije (50).

Ob mikročipiranju kopenskih želv je potrebno zmanjšati nevarnost sepse. Ob nezadostni sterilnosti mesta aplikacije mikročipa lahko posledično nastane absces. Težava se pojavi zaradi neelastičnosti zunanjih slojev kože plazilcev. Iz tega razloga ostane mesto aplikacije odprto po odstranitvi igle, s tem je tudi večja možnost okužbe in izgube čipa (50).

2.5.9 Bakterijske bolezni

2.5.9.1 Infekcija z bakterijami iz rodu Salmonella

Znano je da so kopenske želve, tako prosto živeče kot v ujetništvu, rezervoar salmonel. Stres in slabi pogoji reje v ujetništvu dodatno pripomorejo k izločanju bakterij iz rodu *Salmonella*, največkrat brez vidnih kliničnih znakov. Tudi infekcija z ubikvitarnimi sevi salmonel je lahko potencialno kužna za ljudi. Želve imajo pri širjenju bolezni pomembno vlogo (78, 79). Ob eksperimentalni okužbi želv per os z izolatom *Salmonella enterica* subsp. I, II, III (*enterica, salamae, arizonae* in *diarizonae*) ni prišlo niti do očitnih bolezenskih znakov niti do kolonizacije v drugih organih razen prebavnega traka (80, 81).

V Franciji so opravili pregled 52 iztrebkov živali (iz živalskega vrta, iz zasebne oskrbe in iz zavetišča). Dokazali so prisotnost bakterij iz rodu *Salmonella* v 44 odstotkih, od tega le 30 odstotkov v domači reji, v reševalnem centru pa 67 odstotno okuženost; pri živalih iz živalskega vrta niso izolirali salmonel. Od tega so bili prisotni izolati *Salmonella enterica* subsp. *enterica* v 72 odstotkih in *Salmonella enterica* subspecies *salamae* v 28 odstotkih (78).

V Italiji so ob pregledu skupine kopenskih želv pri 79 odstotkih živali izolirali salmonele. Od tega je bilo 16 izolatov *Salmonella enterica*, iz podvrst I, nekaj tudi II in IIIb. Več kot 10 odstotkov je pripadalo serotipu *Abony* (subsp. *enterica*). Niso pa odkrili za človeka zelo patogen serotip – *Salmonella Enteritidis* (subsp. *enterica*). Pojavili so se drugi serotipi, ki so prav tako patogeni za človeka: *Salmonella Saintpaul, Salmonella Miami* in *Salmonella Mikawasima* (82).

V Španiji so pri mavrski kornjači v iztrebku ugotovili prisotnost podvrst *Salmonella* subsp. *enterica* in *Salmonella* subsp. *salamae*. Izolirani serotipi pri podvrsti *enterica* so bili Abony, Newport in Potsdam. Predvidevajo, da se med posamezniki okužba širi, zlasti pri samicah ob paritvi z različnimi samci (83).

Gram-negativne bakterije *Salmonella* spp. (fakultativni anaerobi, flagelati) so v večini patogene. Poznanih je preko 2550 serotipov znotraj vrste *Salmonella enterica*, medtem ko ima *Salmonella* bongori le 22 serotipov. Vsi serotipi *Salmonella enterica* so potencialno patogeni za ljudi in živali (84).

Salmonele se prenašajo na človeka preko blata in urina. Dokazano je da lahko penetrirajo v jajce pri živalih, okuženih med valitvijo. Okužba je mogoča z okuženo vodo in hrano (85).

Za salmonelo obolele živali se v primerjavi z zdravimi več sončijo in imajo naslednje značilnosti: shujšanost, lezije plastrona, ki povzročajo odlepljanje roževine ter razbarvan karapaks. Pri obdukciji so bila vidna značilna multifokalna področja epidermalne nekroze, področja koagulativne nekroze na jetrih, edem mukoze prebavnega trakta in edem dihalnih poti pljuč. Najpomembnejši je bil izolat podvrste *Salmonella* subsp. *arizonae* (85).

Salmonele ostanejo virulentne 89 dni v vodovodni vodi, 115 dni v bazenski vodi, 120 dni v travniški vodi, 280 dni v vrtni zemlji, 28 mesecev v ptičjemu blatu, 30 mesecev v kravjem blatu. Želve lahko pogosto postanejo prenašalci; prenaseljenost, krmljene z okuženo hrano (84).

Veliko plazilcev nosi salmonele kot del normalne flore. Okužene živali pogosto ne kažejo izrazitih kliničnih znakov. Na prvi pogled so mirnejši, lahko nenadno poginejo (84).

2.5.9.2 Infekcija z bakterijami iz rodu Pseudomonas

Gram negativne paličke iz rodu *Pseudomonas*, najpogosteje *Pseudomonas aeruginosa*, so del normalne flore ustne votline in prebavnega traka plazilcev. So pogojno patogeni. Živali obolijo za *Pseudomonas* zaradi nepravilne oskrbe, prenizke temperature in nepravilne prehrane (86). Prenos je direkten. Rezervoar bakterije so lahko želve ali samo okolje (87).

Infekcija se kaže v omejenih ali difuznih lezijah kože, lezijah v ustni votlini in jeziku – ulcerativni stomatitis, faringitis, pljučnici, septikemiji (85). Pri *T.g.* vidnimi znaki rinitisa so v mešani kulturi iz nosnih brisov izolirali *Pseudomonas fluorescens* pri zdravih in obolelih ter *Pseudomonas aeroginosa* iz nosnih brisov obolelih želv (88). V Sloveniji so prav tako na farmi potrdili infekcijo s *Pseudomonas* sp. (81, 89).

2.5.9.3 Infekcija z bakterijami iz rodu Staphylococcus

Gram pozitivni koki ponavadi niso patogeni za kopenske želve. So normalni prebivalci, največkrat na koži. Ponavadi so patogeni le koagulaza pozitivni stafilokoki. Avtorji ugotavljajo 95 odstotno korelacijo patogenosti. Zdravljenje je nujno za vse plazilce s kliničnimi znaki in imajo dokazane koagulaza-pozitivne stafilokoke izolirane iz rane (86).

2.5.9.4 Infekcija z mikoplazmami

Infekcije z mikoplazmami so pri želvah dokaj pogoste (90). Klinični znaki so anoreksija, nosni izcedek, vnete nozdrvi in hoane, dihanje z odprtimi usti, slišni šumi iz zgornjih dihal. Avtorji pri okužbi z mikoplazmo ugotavljajo tudi krajši čas hibernacije (91). Najpogosteje izolirana mikoplazma pri želvah je *Mycoplasma agassizii* (74). Tudi v Sloveniji so na farmi že potrdili infekcijo z mikoplazmami (89).

2.5.10 Virusne bolezni

2.5.10.1 Infekcije s herpesvirusi

Herpesvirusi so bili odkriti pri različnih vrstah kopenskih želv, med drugim tudi pri grški in mavrski kornjači ter drugih kopenskih vrstah želv (74, 92). Način prenosa v divjini še ni popolnoma jasen (93, 94). Na podlagi izkušenj pri nekaterih vrstah se virus izloča preko blata in na ta način prihaja do okužbe (95). Bolezen se lahko kaže v akutni, kronični ali latentni obliki. Klinično je skoraj vedno viden nosni in očesni izcedek ter vnetje zgornjih dihal (92, 94, 96).

Klinični znaki so konjuktivitis, stomatitis, rinitis in limfoproliferacija. Prisoten je še edem na ventralnem delu vratu, mukoza jezika, orofariksa in nazofariksa je prekrita z rumeno in difteroidno memebrano. Vidna je disfagija in hipersalivacija. Občasno so živali dispnoične (74, 92, 96, 97).

Pri prizadetih želvah je opažena regurgitacija, anoreksija in letargija. Pridružijo se lahko edemi, nekrotične lezije in abscesi v ustni votlini (26, 74, 92). Ob obdukciji vidimo nekrotizirajoče lezije ustne mukoze na področju glotisa, farinksa, na ustnem nebu in v notranjosti nosnic (92, 94). Lezije se razvijejo v respiratornem, oralno prebavnem traktu s pridruženimi kožnimi in okularnimi lezijami. Spremembe so vidne na organih, kot so jetra in vranica (96, 98).

2.5.10.2 Infekcije z iridovirusi

Za ta virus je dovzetna grška kornjača. Način okužbe ni znan. Klinično vidimo pogin kornjače brez predhodnih znakov bolezni. Ob obdukciji vidimo številna zelena siva mesta skozi celoten jetrni parenhim. Vranica je bila prepredena na prerezani površini z malimi, belimi žarišči (94).

V Švici so ob poginu 7 juvenilnih grških kornjač, katere so bile prizadete s sistemsko obliko bolezni, ob obdukciji opazili podobne patološke spremembe. Mukoza ustne votline, jezika, žrela, požiralnika, tankega in debelega črevesa in kloake je bila hiperemična, na več mestih ulcerirana in prekrita z rumenkastim fibronekrotičnim materialom. Na jetrih so bila vidna bela žarišča. Histološki pregled organov je pokazal multifokalne nekroze in heterofilne infiltracije. V epitelnih celicah prebavnega traku in posameznih hepatocitih so bile vidne inkluzije. Heterofilna infiltracija kaže na sekundarno bakterijsko infekcijo in posledično septikemijo. Iz jeter, vranice in pljuč so izolirali *Pasteurella testudines*, ki je pogojno patogena (99).

V ZDA so inkluzije iridovirusa izolirali v levkocitih (monocitih, azinofilcih in heterofilcih) pri škatlarici (*Terrapene carolina*), severno-ameriška vrsta – *Gopherus polyphemus* in ploska želva (*Geochelone platynota*) (100).

2.5.11 Glivične infekcije

Mikobakterijske infekcije se pojavljajo pri želvah. Zaradi možnosti prenosa je potrebna posebna pazljivost (58).

Glivice, ki jih izoliramo iz poškodb, so ponavadi oportunisti iz okolice ali del normalne flore kože ali prebavnega trakta želve. Najpogosteje so izolirane glivice iz rodu *Candida*, *Torulopsis*, *Rhodotorula* in *Trichosporon*. Pogostejše so glivične okužbe pri rastlinojedih vrstah želv. Najpogostejše so glivice iz rodu *Aspergillus*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Paecilomyces*, *Candida* in *Phycomycetes* (101).

Mikoze delimo na:

- površinske (npr. oralna ali enterična kandidiaza),
- podkožne (npr. zigomikoza) in
- sistemske (npr. aspergiloza, trihosporonoza) (101).

2.5.12 Infestacije s paraziti

Prosto živeči plazilci imajo pogosto parazite. Večinoma pa živita v naravnem okolju gostitelj in parazit v harmoniji, kar obema daje možnost preživetja. Kadar pride do porušenega razmerja med gostiteljem in parazitom, kar se v ujetništvu zgodi pogosteje, imajo parazitoze pomembno vlogo (95).

V ujetništvu so številni stresni dejavniki, ki zmanjšujejo odpornost organizma. Pregosta naseljenost živali, nepravilna in enolična prehrana in prisotnost drugih bolezni so najpogostejši stresni dejavniki. Mnogo parazitov, ki parazitirajo pri plazilcih, potrebujejo tudi vmesnega gostitelja, ki jih v rejah pogosto ni na voljo, zato se take infestacije same sanirajo. Po drugi strani imamo žal opravka tudi z živalmi, ki so odlovljene in prinesene direktno iz narave, kar za njih predstavlja dodaten stres (95, 102).

2.5.12.1 Infestacije z ektoparaziti

Na koži želv najdemo pršice in klope. Ponavadi parazitirajo na mehkih delih nog, na vratu in na repu (95, 102, 103). Velik problem predstavlja tudi miaza, ko se zaredijo ličinke muh v poškodovani koži želv (95). Na splošno predstavljajo ektoparaziti težavo, saj so poškodbe na površini živali idealno mesto za razvoj bakterij in drugih mikroorganizmov (102, 103).

Klopi so krvosesi, ki pa se le izjemoma pojavijo v zadostnem številu in povzroče resno izgubo krvi. Ponavadi se naselijo na mehka, dobro prekrvavljena mesta, lahko tudi v področju med karapaksom in plastronom. Na mestu vboda se pojavi dermatitis s pridruženo sekundarno bakterijsko infekcijo. Pogosto so klopi vektor različnih virusnih in protozoarnih obolenj (61, 95, 104).

Na področju Balkanskega polotoka so prisotne štiri vrste klopov iz skupine Ixodes. Pri genu *Testudo* je najpogostejši *Hyaloma aegyptum*, *Haemaphysalis sulcata* je bil najden pri grški in mavrski kornjači v Bolgariji, *Haemaphysalis inermis* je bil najden pri grški kornjači v Bolgariji in *Rhipicephalus sanguineus* je bil najden pri širokorobi kornjači v Grčiji (105).

Miaza je najpogostejša pri velikih kopenskih želvah. Pojavlja se okoli kloakalne regije ali na ranah. Miaza je največkrat infestacija tkiva z jajčeci ali larvo prve stopnje. Včasih muhe larve odložijo na poškodovana mesta, kjer so kri sesali klopi, redkeje tudi komarji, bolhe in pikajoče muhe (51, 90).

Najpogosteje opisujejo muhe – *Calliphora vicina* (belooka mutanta), ki v rane izlegajo rumenkasta jajčeca. Iz jajčec se razvijejo larve prve stopnje dolge do 2 mm. Slednje se zarijejo v kožo gostitelja takoj po izvalitvi. Sledi razvoj večjih larv druge stopnje velikosti do 1 cm. Z zadnji deli telesa prodrejo kožo in dihajo preko nastale odprtine (dihalna plošča). Smrdijo po amoniaku. Larve tretje stopnje so dolge preko 3 cm. Le-te zapustijo gostitelja in si poiščejo suha, skrita mesta, kjer se zabubijo (106). Poleg muhe belooke mutante (*Calliphora vicina*) avtorji opisujejo tudi larve *Lucilia sericata*. Domnevajo, da smrt lahko povzročijo toksini, katere izločajo poškodovane larve (107). Pri miazi lahko vidimo odprte poškodbe kože z majhnimi larvami ali le vozliče pod kožo. Največkrat opazimo odprte poškodbe kože kot erozivne, ulcerativne in nekrotične lezije. Poškodovano tkivo je vidno s prostim očesom (107).

2.5.12.2 Infestacije z endoparaziti

Endoparaziti naseljujejo prebavila, parenhim jeter, žolčevod, pljučih, na sluznici sapnika in požiralnika, v sečilih,v krvnih žilah, v telesnih votlinah. Predstavljeni so najpogostejši endoparaziti pri želvah.

PRAŽIVALI

Praživali ali protozoa so večinoma enocelični mikroorganizmi. So heterotrofni mikroorganizmi. Hranijo se s trdno ali tekočo hrano z endoosmozo ali skozi citostomo. Produkte izločijo z ekskretornimi vakuolami (108). V neugodnih razmerah preidejo iz aktivne vegetativne oblike (trofozoit) v mirujočo cistično obliko (108, 109).

Znanih je okoli 20.000 vrst praživali. Veliko se jih je prilagodilo na parazitski način življenja (108, 109). So endoparaziti, ki parazitirajo epicelularno ali intracelularno. V organizem pridejo kot vegetativne oblike ali v obliki ciste. Živali se lahko okužijo z neposrednim stikom ali pa z okuženo vodo ali hrano (108).

INVAZIJA S KOKCIDIJAMI

Pri plazilcih najdemo kokcidije iz naslednjih rodov *Eimeria, Isospora, Caryospora*. So pogojno patogeni, saj se primarno pojavijo v črevesju, lahko pa prizadenejo tudi epitelij žolčevoda. Življenjski krog je direkten, tako da se ob zaužitju sporulirane oociste sprostijo sporozoiti v prebavni trak. Sporozoiti se namnožijo in dozorijo znotraj epitelnih celic. Ko šizont dozori, celica poči in sprostijo se merozoiti, ki invadirajo drugo epitelno celico. Merozoiti dozorijo tudi do gametocitov znotraj epitelne celice in ob združitvi mikro in makrogamete nastanejo zigote, ki se obdajo z ovojnico in nastanejo oocite, katere so skrite v iztrebku. Celularna destrukcija epitelnih celic črevesja, žolčnih vodov ali ledvic lahko povzroči fibrozo, ulceracijo ali celo septikemijo. Okužba ledvic se lahko konča s potovanjem merozoitov iz črevesja retrogradno do kloake. Klinična slika je lahko komaj opazna, vendar vključuje anoreksijo in drisko. V težjih primerih se kažejo prebavne motnje, kot so regurgitacija, dehidracija in hemoragični enteritis (61, 95).

INVAZIJE Z *BALANTIDIUM* SP.

Protozoji iz rodu *Balantidium* imajo ovalno ali eliptično telo. Imajo mikro in makronukleus in migetalke so po vsem telesu. Vegetativna oblika, ugotovljena pri želvah, je velika več kot 100 μm. Cista je okrogla ali rahlo ovalna in meri do 40 μm. Pogosto jih izolirajo iz blata pri želvah, ugotovili so jih tudi pri grški in mavrski kornjači. Pojavljata se *Balantidium coli* in *Balantidium testudinis*. Njihova patogenost še ni povsem raziskana. Povzročajo blažji kolitis (61, 95, 102, 110). Tudi v Sloveniji so na farmi že potrdili invadiranost z *Balantidium* sp. (111).

INVAZIJE Z AMEBAMI

Entamoeba invadens lahko najdemo pri vseh plazilcih. Najbolj patogen je pri kačah. Za kopenske želve je slabo patogen, vendar ga širijo preko blata. Zaradi direktnega prenosa, se odsvetuje skupna reja kač (61, 95). Klinično se kaže z anoreksijo, hujšanjem, krvjo v fecesu, povečano žejo in letargijo. Pri sekciji vidimo lezije na področju debelega črevesja z ulceracijami in stanjšane stene tankega črevesja ter adhezije jeter in ledvic. Preko krvi se razširijo po celotnem organizmu in povzročajo nekrozo prizadetih organov in posledično smrt (61, 104).

INVAZIJE S KRVNIMI ZAJEDAVCI IN BIČKARJI

Plasmodium sp., *Haemoproteus* sp. in *Trypanosoma* sp. so krvni paraziti. Raziskave kažejo, da so v večini primerih nepatogeni, čeprav so bile opažene blage anemije (95).

Bičkarji iz rodu *Trichomonas, Gardia, Leptomonas* se nahajajo v prebavnem in urogenitalnem traku (95). *Hexamita* sp. najdemo v ledvicah in jetrih, redkeje v prebavnem traktu. *Hexamita parva* povzroča nefritis in posledično smrt. Obolele živali so anoreksične, letargične, izločajo mukozno blata in urin (61, 104).

INVAZIJE Z VALJASTIMI ČRVI

Gliste ali nematodi spadajo med valjaste črve. Pri plazilcih je poznanih več kot 500 vrst, ki jih najdemo v želodcu, tankemu in debelemu črevesju. Larve migrirajo tudi v požiralnik, pljuča. Posledica migracij so lezije naštetih organov (112). Mnoge živijo prosto v naravi, druge parazitirajo na rastlinah, v živalih in človeku. Velike so od 1 mm do več centimetrov. Telo je belkaste barve. Imajo obliko cevi s sprednjo oralno in zadnjo analno odprtino. Pri glistah sta spola ločena. Samci so manjši od samic (113).

Družina askaridov in rod *Oxyuris* so najpogostejši želvji notranji zajedavci (102). Oksiuridi so srednje veliki nematodi, rumenkasto bele barve. Samice so večje od samcev, imajo dolg, koničast, zašiljen rep. Jajčeca so podolgovato ovalna in asimetrična. Vmesnega gostitelja ni. Po invaziji ni migracije (114). Naseljujejo gastrointestinalni trakt (112). Tudi v Sloveniji so na farmi že potrdili invadiranost z *Oxiuridae* in *Ascaridae* (111).

Literatura navaja, da so kopenske želve 100-odstotno invadirane z oksiuridi in 50-odstotno z askaridi. Najpogostejši vrsti pri želvah sta *Tachygonetria sp*. in *Atractis dactyluris*. Zajedavci so veliki 1,5 do 8 mm (61, 102, 110).

Oksiuridi so slabo patogeni, vendar pogosto prisotni v večjem številu pri živalih starejših od enega leta, medtem ko jih pri mlajših jih ne najdemo. Najpogostejše opisane vrste oksiuridov pri želvah so: *Alaeuris numidica, Mehdiella microstoma, Mehdiella unicinata, Tachygonetria palearcticus, Tachygonetria conica in Tachygonetria longicollis* (115).

Askaridi so relativno veliki nematodi, dolgi do 10 centimetrov (104), okrogli, obarvani sivkasto-roza, podobni špagetom. Jajčeca so okrogle ali ovalne oblike in debelostena. Invazijska oblika je jajčece z ličinko (112, 113). Pri kopenskih želvah so najpogosteje predstavniki iz rodu *Sulcascaris*. Obolele živali so anoreksične, regurgitirajo in hujšajo. V želodcu in črevesju vidimo ulceracije in tanjšanje želodčne stene (104).

Pri želvah najpogosteje izolirajo askaride vrste *Angusticaecum holopterum*, ki merijo 8 do 12,5 cm (102, 110). Pri živalih starejših od enega leta so odkrili larve in odrasle oblike *Atractis dactyluris* ter jajčeca in odrasle oblike *Angusticaecum holopterum* (115).

Capillaria spp se nahajajo v črevesju, so manj patogeni (104).



Slika 22: Invadiranost mavrske kornjače z askaridi (Slika: A. Dovč, 2009).

INVAZIJE S TRAKULJAMI

Trakulje se pri rastlinojedih vrstah želv pojavljajo zelo redko, pogostejše so pri mesojedih vrstah želv, zlasti pri vodnih. Trakulje zelo redko povzročijo klinično zaznavno bolezen. Klinična manifestacija je odvisna od števila odraslih trakulj v gostitelju (102). Ponavadi odrasle trakulje naseljujejo prebavila gostitelja, kjer povzročajo vnetje ali celo zaporo črevesja. Vse trakulje plazilcev potrebujejo vmesnega gostitelja (112, 113).

INVAZIJE Z JEŽERILCI

Ježerilci potrebujejo vsaj enega vmesnega gostitelja, zato jih v rejah najdemo redkeje (104). Odrasle oblike ježerilcev iz družine Spirorchiidae najdemo v krvnem sistemu (95). Jajčeca potujejo iz žil preko tkiva in preko črevesje zapustijo gostitelja. S prehodom povzroče travmatske poškodbe tkiva, hkrati stimulirajo razvoj granulomatozne kapsule okoli jajčec (104).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 FARMA ŽELV V SLOVENIJI

V Sloveniji imamo eno samo veliko farmo želv, na kateri gojijo 65 različnih vrst plazilcev. Le-ta izvozi v tujino več kot 95 odstotkov želv, zato jih redko zasledimo na slovenskem tržišču. V preteklih letih je bilo kar 79 odstotkov želv izvoženih v države Evropske unije; in sicer v Veliko Britanijo, Nemčijo, Italijo, Španijo, Švedsko in Finsko. Dvanajst odstotkov se jih je izvozilo v ZDA in devet odstotkov na Japonsko. Imamo eno največjih farm želv znotraj celotne EU. Tako velike farme imajo le še v Franciji (S.O.P.T.O.M) in v Italiji (Carapax). Farma v Zapogah je namenjena izključno gojitvi želv v ljubiteljske namene, medtem ko države na vzhodu številne vrste želv gojijo tudi za prehrano (A. Ž. Dular – osebna komunikacija).



Slika 23: Farma želv v Zapogah (Slika: A. Dovč, 2005; 2006).

V nalogi smo si za ciljno skupino izbrali grško in mavrsko kornjačo, zato v nadaljevanju opisujemo samo ti dve vrsti. Velikost matične reje obeh vrst je stalna. Matična reja grških kornjač obsega 6365 osebkov; to je 4920 spolno zrelih samic in 1445 spolno zrelih samcev. Matična skupina mavrskih kornjač pa obsega 1268 osebkov; to je 955 spolno zrelih samic in 313 spolno zrelih samcev. Skupno število obsega torej 7633 odraslih osebkov. Letno ima gojitelj tudi do 15.000 na novo izvaljenih želv, od tega pretežno grške kornjače.

Gojitelj ima v svoji matični skupini najstarejše grške želve iz leta 1982, ki pripadajo prvi generaciji potomcev in najmlajše iz leta 1994, ki pripadajo drugi ali nadaljnjim generacijam živali gojenih v ujetništvu. Velikost matične reje je stalna. Razmerje samcev in samic je približno 1:4. Prvih 200 samic in 50 samcev, takrat starih med sedem in osem let, je pridobil leta 1982 iz reje v Makedoniji. Posamezne skupine želv goji v zunanjih oborah, ki ne presegajo 500 živali na skupino.

Najstarejše mavrske želve, ki pripadajo matični skupini, so iz leta 1983 in so prva generacija potomcev. Najmlajše so iz leta 1994 in pripadajo drugi ali nadaljnjim generacijam živali, gojenih v ujetništvu. Razmerje samcev in samic je približno 1:3. Prvih 230 samic in 85 samcev je gojitelj nabavil 1983 iz reje v Makedoniji, torej so bile že vzgojene v ujetništvu. Takrat so bile stare sedem let.

3.1.1 Osnovni pogoji reje kornjač

Od pomladi (april, maj), do jeseni (oktober, november) so grške kornjače v zunanjih ogradah. Na površini 6000 m^2 so posamezne obore v velikosti od 250 do 500 m^2 in dodatne obore v velikosti 1116 m^2 za mladiče. V posameznih oborah je 70 do 750 odraslih želv. Valilniki in vzgoja mladičev do približno tretjega leta starosti so nastanjeni v zaprti zgradbi.

Od pomladi do jeseni so v zunanjih oborah tudi mavrske kornjače, katerih skupna površina namenjena gojitvi znaša 1295 m^2, posamezne obore so v velikosti od 100 do 300 m^2. V posameznih oborah je 70 do 150 odraslih želv. Valilniki in vzgoja mladičev so v zaprti zgradbi kot pri *T.h.*



Slika 24: Vzgoja mladičev v notranjih prostorih (Slika: A. Dovč, 2003).

Posamezne obore so ograjene z žičnato ograjo, ki sega 100 cm nad tlemi in 20 cm v globino. Za preprečitev pobega živali je ograda zaščitena še z valovitkami, ki so visoke 30 cm in segajo 10 cm nad površino tal. Velikost odprtin v žičnati ograji je 5 x 5 cm oziroma v diagonalnem premeru 7 cm. Celotna farma je zavarovana še z eno skupno ograjo. Zunanje obore se pregledujejo trikrat dnevno.

Valilniki na farmi so zaprtega sistema, vendar ločeni od prostorov za vzrejo mladih živali. Podmladek se nahaja na isti lokaciji v notranjih zaprtih prostorih, kjer so nameščeni terariji velikosti 160 x 60 x 20 cm. V posameznem terariju je 30 do 100 želv, odvisno od starosti in velikosti živali. Prostori so prirejeni za gojitev kopenskih želv, so prostorni, dovolj visoki in opremljeni z osnovno potrebnimi inštrumenti: UV žarnica, min-max termometer, merilec vlage. Gojitelj o meritvah redno vodi evidenco. Mlade želve velikosti približno 8 cm dolžine oklepa se premeščajo iz notranjih terarijev v zunanje obore, ki so dodatno opremljene še z žičnato ograjo z velikostjo odprtin 1 x 1 cm.

Prehrana želv na farmi je usklajena z normativi in standardi Odredbe o bivalnih razmerah in oskrbi živali prosto živečih vrst v ujetništvu (Uradni list RS, št. 90/01). Želve se hranijo z rastlinsko hrano: nabrano in pokošeno travo, zelenjavo (solata, paradižnik, korenje, zelje), sezonskim sadjem (jabolka, breskve, jagode). Ob tako raznovrstni prehrani se ne izvaja dodatna vitaminizacija. Želve občasno kopajo ali pa jih rosijo.

Vse obore, valilniki in pogoji gojenja ter prehrane ustrezajo določilom iz opravljenih presoj tveganja za naravo, ki je bila narejena za vsako posamezno vrsto želv (3, 15, 114). Opravljene presoje se navezujejo na Pravilnik o izvedbi presoje tveganja za naravo in pridobitvi pooblastila (Uradni list RS, št. 43/02) (116). Na osnovi tega pravilnika so določeni pogoji in način izvedbe presoje tveganja za naravo pred naselitvijo ali doselitvijo tujerodnih prosto živečih rastlin in živali v naravo ali gojitvijo tujerodnih prosto živečih živali.

Pravilnik o izvedbi presoje tveganja za naravo in pridobitvi pooblastila določa tudi pogoje, ki jih mora izpolnjevati pravna ali fizična oseba za pridobitev pooblastila za izvedbo presoje tveganja za naravo in način pridobitve pooblastila. Presoja tveganja se izvede za vsak primer vnosa ali gojitve posebej. Pri tem se presoja izvaja za vsako taksonomsko kategorijo, tudi nižjo od vrste. Pravilnik ne velja za vnos ali gojitev živali spremenjenih z uporabo genske tehnologije. Enaka določila se smiselno uporabljajo tudi za rastline (1).

3.2 OBSEG NALOGE IN ČASOVNI OKVIR

Naloga se je izvajala v letih od pomladi 2005 do poletja 2010. V prvem delu naloge smo proučevali mikročipiranje pri dveh različnih vrstah želv, in sicer pri grški in mavrski kornjači. Pri izbrani skupini smo skozi šestletno obdobje sledili prisotnost mikročipov. Gre za skupino 133 grških kornjač (100 samic in 33 samcev, izvaljenih 1974 in 1975), kjer smo pri 32 želvah v drugem delu naloge sledili tudi nihanju serumskega kalcija in anorganskega fosfata skozi aktivno sezono.

3.2.1 Mikročipiranje

Živali iz seznama, ki je priloga Pravilnika o označevanju živali prosto živečih vrst v ujetništvu (47), lahko označijo pooblaščene osebe, ki imajo strokovni naziv najmanj doktor veterinarske medicine, veterinarsko licenco in so na podlagi odločbe ARSO vpisani v evidenco označevalcev živali prosto živečih vrst (47). Seznam trenutno pooblaščenih označevalcev – veterinarjev je šestnajst (2). Na osnovi tega pravilnika smo pridobili uradno dovoljenje za mikročipiranje tujerodnih prosto živečih rastlin in živali (odločba št: 35701-87/2004 in 35601-9/2008).

V pomladanskih in poletnih mesecih 2005, 2006, 2007 in 2008 smo mikročipirali 7633 želv matične reje in 1267 želv, ki so bile namenjene prodaji. Skupaj smo mikročipirali 8900 želv. Želve namenjene za prodajo so nam služile samo kot primerjava z matično rejo za: starost oziroma velikost želv, spol, pogoji mikročipiranja (predhodno lovljenje in priprava želv na mikročipiranje, temperatura okolice). Pregleden seznam je podan v Tabeli 5. Ker smo želv za prodajo takoj po mikročipiranju oddali, smo lahko pri njih sledili le pogostost krvavitev, občasno smo dobili tudi povratne informacije glede izpadov mikročipov.

Tabela 5: Število mikročipiranih kornjač.

Vrsta	Samice	Samci	Skupaj
Testudo hermanni			
Matična reja	4920	1445	6365
Mladiči	576	515	1.091
Skupaj	5496	1.960	7456
Testudo graeca			
Matična reja	955	313	1268
Mladiči	116	60	176
Skupaj	1071	373	1444
Skupaj ob vrsti	6.567	2.333	8.900

Pred vsakim mikročipiranjem smo opravili splošni klinični pregled skupine. Vsako želvo smo pred aplikacijo pregledali, da bi opazili morebitne poškodbe, zlome in druge patološke spremembe na površini oklepa. Posebno smo bili pozorni na območje glave in ustne votline ter kloake, kjer smo ugotavljali morebitne poškodbe, izcedke (nosne, ustne), spremembe kože oz. sluznice. Ugotavljali smo prisotnost parazitov, ran, abscesov, izcedkov, in oteklin. V primeru splošne slabe ocene zdravstvenega stanja skupine želv v posamezni obori, mikročipiranja nismo opravili, dokler nismo izvedli zdravljenja. Prav tako smo v primeru, da smo ugotovili posamezne bolne živali, le-te izločili in jih mikročipirali naknadno.

Ob mikročipiranju smo ugotavljali morebitne razlike glede na:

- spol želve;
- starost oziroma velikost;
- vrsto želv (grška in mavrska kornjača);
- letni čas (sezonski vpliv in vpliv temperature okolice);
- zdravstveno stanje;
- po posameznih oborah tudi morebitne izgube mikročipov skozi večletno obdobje.

Ugotavljali smo možne zaplete (krvavitve, velikost poškodbe ob aplikaciji, celjenje rane, vnetne spremembe, nastanek abscesa, miaza, migracija mikročipa, izguba mikročipa) v času aplikacije mikročipa in tudi kasneje, po daljšem časovnem obdobju. Pomemben dejavnik uspešnega mikročipiranja je tehnična izvedba aplikacije mikročipiranja, ki smo jo obravnavali posebej.

Glede na določila pravilnika o označevanju živali prosto živečih vrst v ujetništvu (47) lahko označevalec uporablja le oznake, ki mu jih dobavi pooblaščeni dobavitelj, vpisan v evidenco pri ARSO. Aplicirali smo edine na slovenskem trgu obstoječe mikročipe, ki jih dobavlja MM Surgical d.o.o.

Velikost teh mikročipov je 11,5 mm x 2,12 mm, teže 0,09 g. Mikročipi po obliki in kvaliteti ustrezajo zahtevam standarda ISO 11784:1996(E) in ISO 11785:1996(E). Koda, ki je vgrajena v mikročip, je trajno berljiva in nespremenljiva. Sestavlja jo petnajstmestno število v obliki 705XXYYYYYYYYYY, pri čemer predstavlja številka 705 oznako države v skladu z ISO standardom 3166, vrednost XX 991 minus koda proizvajalca, določena s standardom ICAR, in vrednost YYYYYYYYYY posamezno številko (47).

Pred vsako aplikacijo smo opravili klinični pregled celotne skupine in posamezne živali: pregled glave, vidnih sluznic, oči, oklepa, okončin. Sledila je fiksacija želve. Pomočnik je z desno roko držal želvo za oklep, z levo roko je pridržal levo nogo želve v iztegnjeni legi. Privzdignili smo kožo in aplicirali čip s pomočjo injektorja vzporedno s stegnenico.

Za kontrolo pravilne aplikacije mikročipov smo uporabljali visoko zmogljivi ročni čitalnik ARE-H5 Trovan®. Čitalnik bere podatkovno vsebino različnih transponderskih sistemov, shranjuje podatke v svoj pomnilnik in jih kasneje lahko prenaša v osebni računalnik. Vsebuje pomnilnik za 2047 podatkovnih zapisov (kod). Podatki pomnilnika ostanejo shranjeni tudi po izklopu čitalnika in ob menjavi baterije. Ima možnost zaznamka časa in dneva odčitavanja. Optimalna bralna razdalja, merjena med ročnim čitalnikom in transponderjem, je med 10 in 40 cm. Razdalja je odvisna od položaja transponderja glede na čitalnik, naklona med anteno in transponderjem, velikosti in tipa transponderja in okolja (temperatura, elektromagnetna interferenca, prisotnost kovin) (117).



Slika 25: Čitalec in mikročipi (Slika: A. Dovč, 2007).

Po končani aplikaciji smo podatke vnašali v spletno aplikacijo »Register označenih živali«, ki jo vodijo na ARSO. Po pravilniku o označevanju živali prosto živečih vrst v ujetništvu (47) je označevalec dolžan označitev takoj vpisati v evidenco. Če zaradi tehničnih problemov to ni mogoče, pa najkasneje v petih delovnih dneh po označitvi ali jih pismeno seznani o problemih.

Evidenca vsebuje podatke o:

- označitvi (vrsta živali, podeljena oznaka, opis značilnosti živali, kjer je to potrebno, datum označitve, datum vpisa v evidenco, označevalec, številka potrdila o označitvi);
- ponovni označitvi (razlog ponovne označitve, številka dovoljenja za ponovno označitev, podeljena ponovna oznaka, datum ponovne označitve, datum vpisa v evidenco, označevalec);
- označevalcu (ime in priimek, naslov, datum in številka odločbe o vpisu v evidenco);
- dobaviteljih in dobavi oznak (ime in priimek fizične osebe, naziv pravne osebe, naslov, datum in številka odločbe za vpis v evidenco, oznake dobavljene označevalcem in gojiteljem) (47).

Ministrstvo za okolje in prostor – ARSO - objavlja podatke o dobaviteljih in označevalcih, njihovih vpisih in izbrisih iz evidence ter prenehanju dela dobavitelja ali označevalca na spletnih straneh ARSO (2).

3.2.2 Proučevanje mikročipiranja in biokemijskih parametrov pri izbrani skupini želv

Zaradi natančnejšega proučevanja vpliva letnega časa na biokemijske parametre (kalcij in anorganski fosfat) smo v letu 2008 pri 32 naključno izbranih želvah opravili dodatne preiskave. Izbrali smo oboro s 133 grškimi želvami, od tega 100 samic in 33 samcev, izvaljenih v letih 1974 in 1975, ki smo jih mikročipirali oktobra 2005. V tej skupini je bilo prvotno 140 želv. Ker pa je bilo ob prvem odvzemu krvi 7 samcem še zakopanih, smo le-te izključili iz nadaljnjih preiskav. Upoštevani so le pri skupnem številu mikročipiranih želv. Vseh sedem samcev smo tudi fizično prestavili v sosednjo oboro.

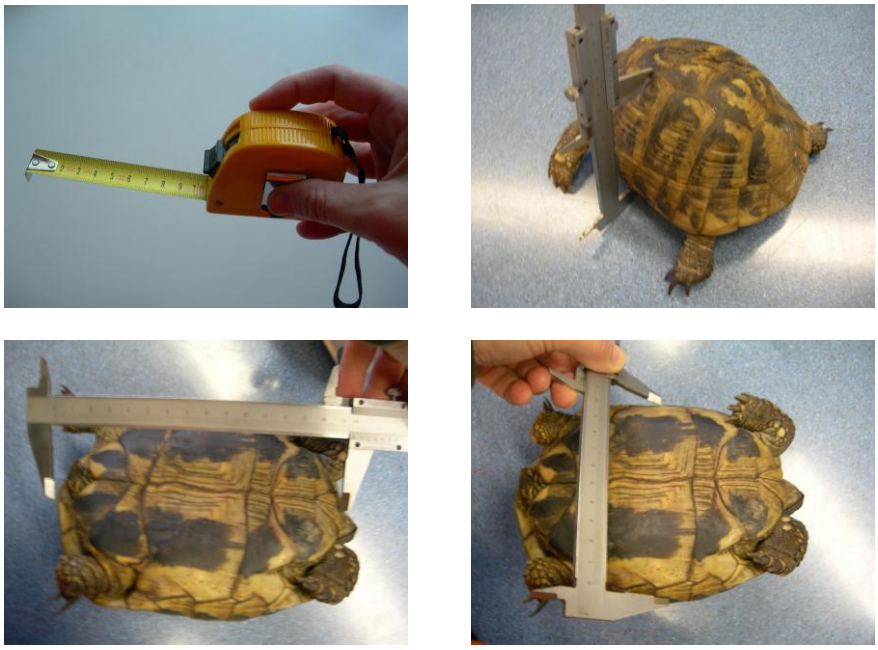
Naš namen je bil ugotoviti:

- pomen metabolizma kalcija in anorganskega fosfata v času po hibernaciji in na višku aktivne sezone;
- vpliv spolne aktivnosti (valilna sezona);
- vpliv prehrane na kondicijo želv ter na metabolizem kalcija in anorganskega fosfata.

Opazovali smo tudi vpliv mikročipiranja na zdravstveno stanje želve in obratno ter morebitne izgube mikročipov skozi večletno obdobje.

Šestnajstim samicam in šestnajstim samcem znotraj te skupine smo v letu 2008 štirikrat odvzeli kri, in sicer takoj po hibernaciji, pred izleganjem, po izleganju jajc in pred ponovno hibernacijo. Spremljali smo spremembe serumskega kalcija in anorganskega fosfata skozi aktivno sezono.

Pred vsakim odvzemom krvi smo posamezno želvo stehtali z elektronsko tehtnico in jo klinično pregledali. Opravili smo natančen pregled glave, vidnih sluznic, oči, oklepa, okončin. S kljunastim merilom smo izmerili tudi velikost plastrona in višino karapaksa. Ti podatki se lahko (neobvezno) vnašajo v spletno aplikacijo »Register označenih živali«, niso pa posebej prikazani v nalogi.



Slika 26: Dodatna oprema, potrebna pri označevanju (Slika: A. Dovč, 2005).

Kri smo jemali iz kavdalne repne vene – *vena coccygeal dorsalis*, ki leži dorzalno na hrbtenici. Iglo premera 0,6 x 40 mm smo nastavili pod repno ploščico oklepa, na srednjo linijo repa. Previdno smo prebodli kožo pod kotom 60 do 70° kranio-ventralno proti repnemu delu hrbtenice. Vzpostavili smo rahel negativni pritisk na brizgo, medtem ko je igla napredovala proti žili. V primeru stika igle z vretencem pred vstopom krvi smo počasi povlekli brizgo nazaj in rahlo spremenili smer vboda, dokler ni pritekla kri v brizgo (54). Količina odvzete krvi je bila najmanj 0,5 ml. Kri smo shranjevali v mikroepruvete BD Microtainer®SST™ Tubes (proizvajalec BD Diagnostics, NJ, ZDA). Eritrociti plazilcev imajo namreč jedro in tako lahko hitreje pride do hemolize. Kri smo v roku dveh ur po odvzemu krvi centrifugirali, nato smo jo hranili v hladilniku največ do 36 ur. Analize so bile opravljene na biokemijskem analizatorju RX Daytona (proizvajalec Randox Laboratories Ltd., Crumlin, Co. Antrium, Velika Britanija) na Veterinarski fakulteti v Ljubljani, Kliniki za prežvekovalce in ambulatorno kliniko (50). V okviru biokemijskih preiskav smo določali koncentracijo kalcija in anorganskega fosfata.

Odvzem krvi iz zadnje noge smo opustili zaradi nemirnosti živali, velike možnosti zlomov kosti zadnje noge in močnega oživčenja tega področja.

V okviru rednega monitoringa smo opravili tudi patoanatomske, bakteriološke in parazitološke preiskave. Rezultati preiskav so predstavljeni v nalogi.

V mesecu avgustu 2008 smo iz obore vzeli tudi svež vzorec travinja in določili vsebnost suhe snovi, vlage, surovih beljakovin, surovih maščob, surove vlaknine, pepela, kalcija in anorganskega fosfata.

3.2.3 Statistična obdelava podatkov

Za statistično obdelavo podatkov smo uporabili osebni računalnik (Excel) in statistični programski paket SigmaPlot za okolje Windows, verzija 11 (proizvajalec GMBH, Nemčija). S Shapiro-Wilk testom smo ugotavljali normalnost porazdelitve dobljenih rezultatov (telesna masa, koncentracija kalcija in koncentracija anorganskega fosfata) znotraj posameznih skupin (samci in samice) pri vsaki meritvi. V primeru normalne porazdelitve, smo rezultate med samci in samicami primerjali s parametričnim *t* testom (Studentov *t*-test). V primeru nenormalne porazdelitve pa smo uporabili Mann-Whitneyev *U* test (neparametrični analog neparnega *t* testa). Za vse merjene parametre smo izračunali povprečno in srednjo vrednost (mediana) ter standardni odklon. Rezultate smo opredelili kot statistično značilne pri $P<0,05$.

4 REZULTATI

4.1 MIKROČIPIRANJE

Na farmi smo označevali 8.900 grških in mavrskih kornjač od pomladi leta 2005 do jeseni 2008.

Ob mikročipiranju smo proučevali morebitne razlike glede na:

- spol želve;
- starost oziroma velikost;
- vrsto želv (grška in mavrska kornjača);
- letni čas (sezonski vpliv in vpliv temperature okolice);
- zdravstveno stanje;
- po posameznih oborah tudi morebitne izgube mikročipov skozi večletno obdobje.

4.1.1 Način aplikacije mikročipa

Pomočnik je z desno roko držal želvo za oklep, z levo roko je pridržal levo nogo želve v iztegnjeni legi. Privzdignili smo kožo in aplicirali čip s pomočjo injektorja vzporedno s stegnenico.



Slika 27: Pravilen prijem in mesto aplikacije ob mikročipiranju (Slika: A. Dovč, 2007).

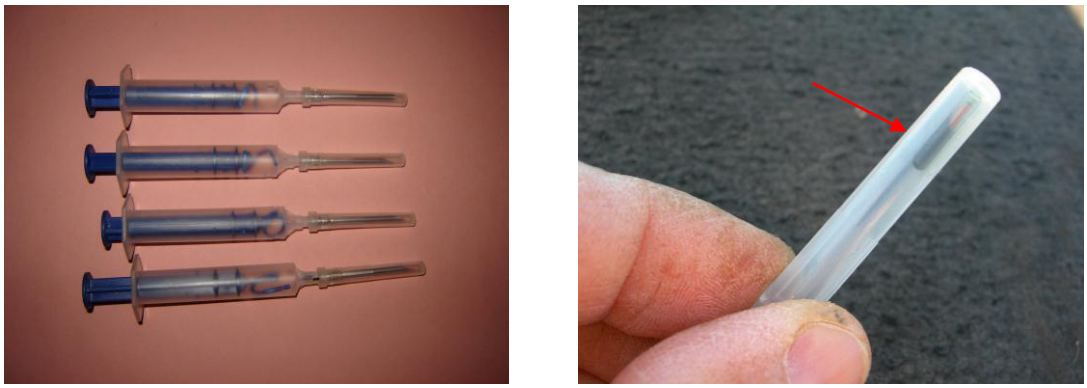


Slika 28: Nepravilen prijem in mesto aplikacije ob mikročipiranju (Slika: A. Dovč, 2007).

4.1.2 Zapleti ob aplikaciji mikročipa

4.1.2.1 Tehnološke in tehnične težave in napake

Ob sami aplikaciji smo naleteli na težave z aplikatorji mikročipov. Ob aplikaciji so se štirje aplikativni plastični deli zvili (Slika 29), ugotovili smo en zlepljen mikročip, ki ga nismo mogli aplicirati, ker je ob pritisku razpadel in en neberljiv mikročip. Pri aplikaciji 8.900 mikročipov je bilo tovrstnih napak šest, kar predstavlja 0,067 odstotno napako. Razmeroma redko, v 8 primerih, smo ugotavljali tudi mikročipe, ki so ostali zalepljeni v plastičnem pokrovu igle injektorja (Slika 30).



Slika 29: Napake aplikatorjev za mikročipiranje (Slika: M. Stvarnik, 2009).

4.1.2.2 Krvavitve ob aplikaciji

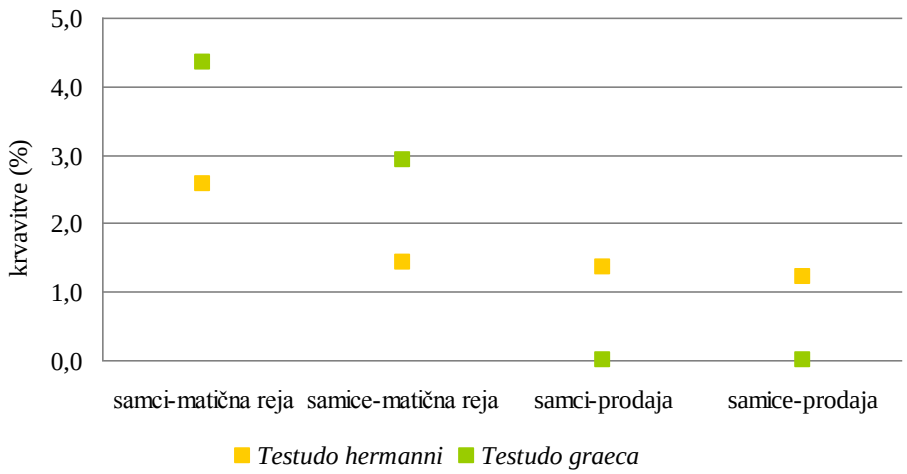
V nadaljevanju prikazujemo odstotek krvavitev, ki smo jih ugotavljali po izvedeni aplikaciji mikročipa pri matične reje grških in mavrskih kornjač, ter odstotek krvavitev, ki smo jih ugotavljali po aplikaciji mikročipa pri želvah za prodajo. Odstotek krvavitev je prikazan v Tabelah 6 in 7 ter Grafikonu 1.

Tabela 6: Prikaz krvavitev ob mikročipiranju matične reje.

Vrsta želve	Samci %	Samice %	Skupaj %
Testudo hermanni	2,56	1,43	1,70
Testudo graeca	4,35	2,91	3,36
Skupaj	2,63	1,47	1,75

Tabela 7: Prikaz krvavitev ob mikročipiranju želv za prodajo.

Vrsta želve	Samci %	Samice %	Skupaj %
Testudo hermanni	1,36	1,22	1,28
Testudo graeca	0,00	0,00	0,00
Skupaj	1,22	1,01	1,28

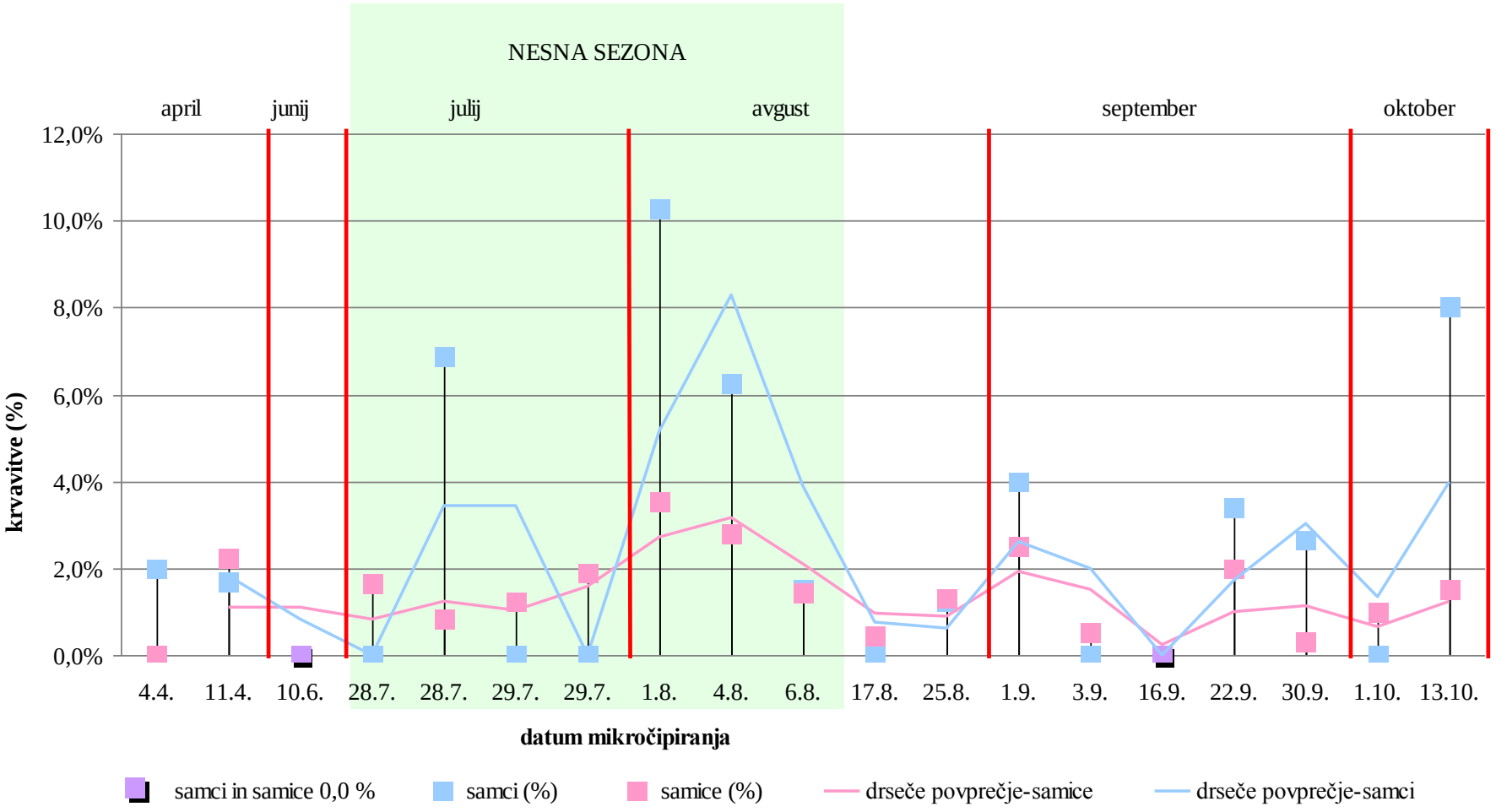


Grafikon 1: Prikaz krvavitev ob mikročipiranju matične reje in želv za prodajo.

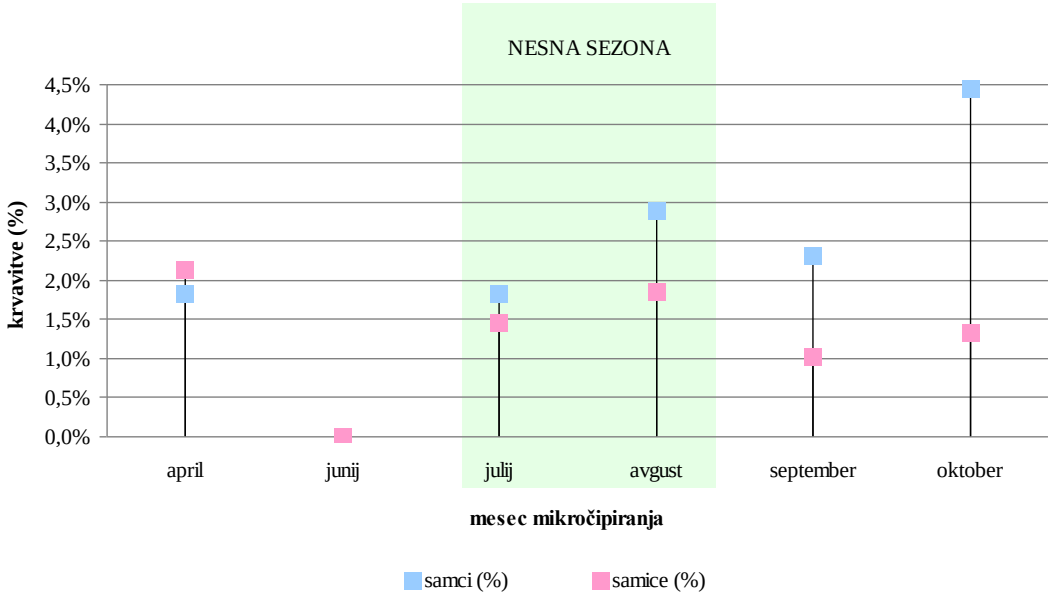
Pri grški in mavrski kornjači matične reje samci ob aplikaciji mikročipa bolj krvavijo kot samice (Tabela 6 in Grafikon 1). Pri grški kornjači krvavijo samci pri aplikaciji v 2,56 odstotkih, pri mavrski kornjači pa v 4,35 odstotkih. Primerjava krvavitev med vrstama kaže, da samci mavrske kornjače bolj krvavijo kot samci grške kornjače; v povprečju kar za 1,79 odstotka bolj pogosto. Samice mavrske kornjače krvavijo v 1,48 odstotka bolj pogosto kot samice grške kornjače.

Pri mikročipiranju želv za prodajo je krvavitev znatno manj, kljub temu da so želve običajno manjše. Pri grški kornjači samci pri aplikaciji bolj krvavijo kot samice (Tabela 7, Grafikon 1). Pri mavrskih kornjačah nismo zaznali vidnih krvavitev pri aplikaciji.

V Grafikonu 2 in 3 prikazujemo odstotke krvavitev glede na letni čas.



Grafikon 2: Krvavitve želv matične reje ob mikročipiranju prikazane po dnevih v letih 2005 do 2008.



Grafikon 3: Krvavitve želv matične reje ob mikročipiranju prikazane po mesecih v letih 2005 do 2008.

Grafikon 2 prikazuje, da je v času takoj po izleganju jajc (konec julija, začetek avgusta) največja pojavnost krvavitev. Samci so najbolj krvaveli v začetku avgusta, to je v 10,29 odstotkih. Tudi samice so najbolj krvavele v času takoj po izleganju jajc, to je v 3,35 odstotkih. Ponovno je prišlo do povečanega odstotka krvavitev v oktobru, ko so se nekatere želve že pripravljale na hibernacijo in so se zakopavale v podlago.

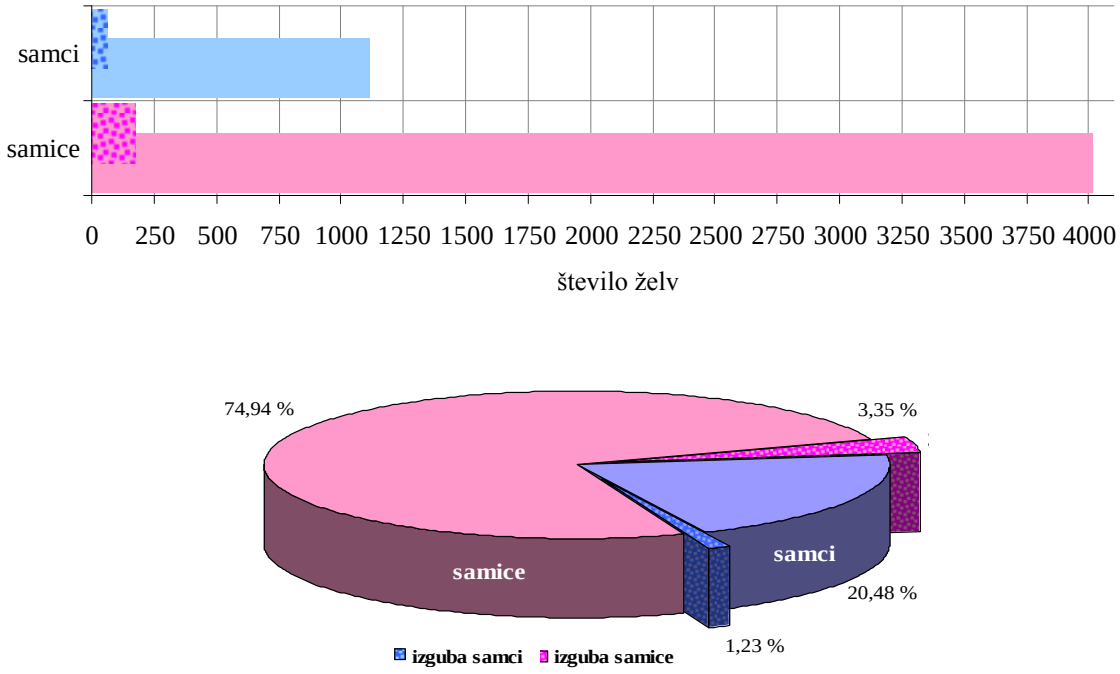
Če pogledamo še Grafikon 3, ki daje mesečni vpogled, so rezultati podobni. V povprečju dobimo najvišje odstotke v mesecu avgustu.

4.1.3 Izguba mikročipov v različnih obdobjih kontrole pri grških kornjačah

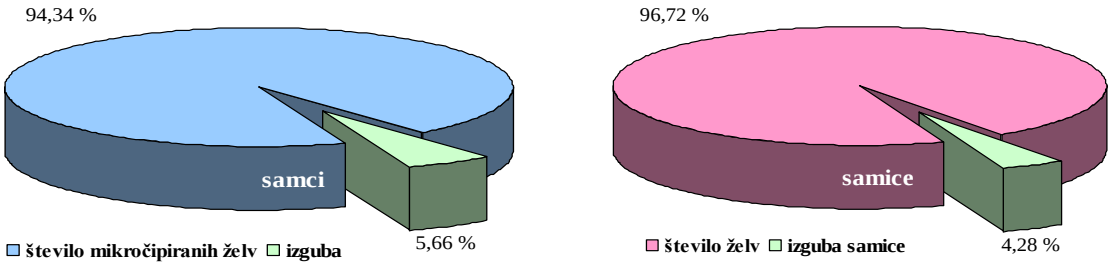
V kontrolnem pregledu v letu 2010 smo zajeli 5128 želv matične reje vrste *Testudo hermanni* ki smo jih mikročipirali v preteklih letih. Podatki izgub mikročipov so prikazani ločeno za samce in samice (Tabela 8 in Grafikon 4).

Tabela 8: Izguba mikročipov matična reja *Testudo hermanni*.

	Število želv	Izguba	%
Samci	1113	63	5,66
Samice	4015	172	4,28
Skupaj	5128	235	4,58



Grafikon 4: Razmerje med številom mikročipiranih želv in številom izgubljenih mikročipov.



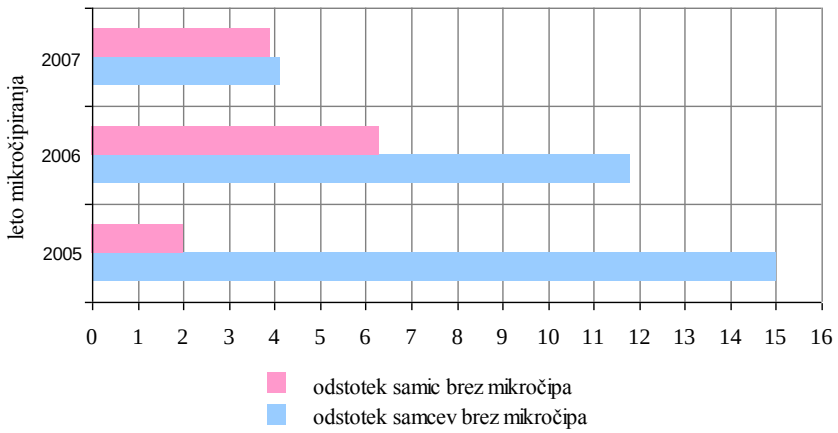
Grafikon 5: Razmerje med številom mikročipiranih želv in številom izgubljenih mikročipov ločeno po spolu.

Ugotovili smo, da je 235 živali brez mikročipa, kar predstavlja 4,58-odstotno izgubo mikročipov. Pri 1113 mikročipiranih samcih smo ob kontrolnem pregledu v letu 2010 našli 63 neoznačenih želv, kar znaša 5,66 odstotno izgubo mikročipov. Pri 4015 mikročipiranih samicah smo ob kontrolnem pregledu v letu 2010 našli neoznačenih 172 želv, kar znaša 4,28-odstotno izgubo mikročipov.

V nadaljevanju prikazujemo izgube po posameznih letih. Ugotavljali smo izgube v daljšem časovnem obdobju; po enem letu, dveh in več letih, narašča odstotek izgube mikročipov.

Tabela 9: Prikazane izgube mikročipov v matični reji *Testudo hermanni* po posameznih letih, ločeno za samce, samice in neodvisno od spola.

Leto	Želve (število)	Izguba (število)	Izguba (%)
2005	40	6	15,00
2006	170	20	11,77
2007	903	37	4,09
Skupaj samci	1113	63	5,66
2005	100	2	2,00
2006	730	46	6,30
2007	3185	124	3,89
Skupaj samice	4015	172	4,28
2005	140	8	5,71
2006	900	66	7,33
2007	4088	161	3,94
Skupaj	5128	235	4,58



Grafikon 6: Prikaz izgube mikročipov v odstotkih pri samcih in samicah po posameznih letih.

V letu 2005 smo mikročipirali 140 grških kornjač matične reje, od tega 40 samcev in 100 samic. Po petih letih smo pri samcih ugotovili izgubo 6 mikročipov, kar predstavlja 15,00-odstotno izgubo. Pri samicah smo ugotovili izgubo 2 mikročipov, kar predstavlja 2,00-odstotno izgubo. Skupaj je prišlo do izgube 8 mikročipov, to je 5,71-odstotna izguba.

V letu 2006 smo mikročipirali 900 grških kornjač matične reje, od tega 170 samcev in 730 samic. Po štirih letih smo pri samcih smo ugotovili izgubo 20 mikročipov, kar predstavlja 11,77-odstotno izgubo. Pri samicah smo ugotovili izgubo 46 mikročipov, kar predstavlja 6,30-odstotno izgubo. Skupaj je prišlo do izgube 66 mikročipov, to je 7,33-odstotna izguba.

V letu 2007 smo mikročipirali 4088 grških kornjač matične reje, od tega 903 samcev in 3185 samic. Po treh letih smo pri samcih smo ugotovili izgubo 37 mikročipov, kar predstavlja 4,09-odstotno izgubo. Pri samicah smo ugotovili izgubo 124 mikročipov, kar predstavlja 3,89-odstotno izgubo. Skupaj je prišlo do izgube 161 mikročipov, to je 3,94-odstotna izguba.

Skupaj smo mikročipirali 5128 grških kornjač matične reje, od tega 1113 samcev in 4015 samic. Ugotovili smo izgubo 235 mikročipov, kar predstavlja 4,58-odstotno skupno izgubo, od tega 5,66-odstotna izguba pri samcih in 4,28-odstotna pri samicah.

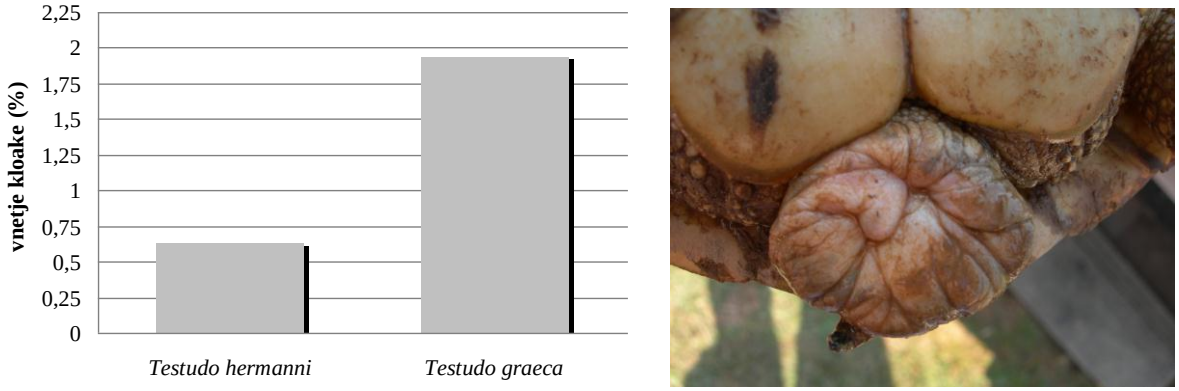
Ugotovili smo, da z vsakim nadaljnjim letom narašča odstotek izgube mikročipov. Izjema so le samice, ki smo jih mikročipirali leta 2005. Pri njih je odstotek v tem letu nižji kot naslednja leta, kjer potem zopet linearno pada.

4.1.4 Pregled zdravstvena stanja grških in mavrskih kornjač

4.1.4.1 Zdravstvenega stanje grških in mavrskih kornjač v času aplikacije mikročipa

Spomladi kmalu po končani hibernaciji aprila 2006, smo ob mikročipiranju imeli tri zlome stegnenice, na kar smo prenehali z označevanje. Iz tega smo zaključili, da je čas mikročipiranje zgodaj spomladi zelo neugoden.

Takoj po koncu valilne sezone smo med mikročipiranjem grških in mavrskih kornjač ugotavljali pri samicah pogostost vnetja kloake. Ugotovili smo, da so bila vnetja pri samicah mavrske kornjače pogostejša (1,94 %) kot pri samicah grške kornjače (0,63 %), kar je prikazano na Grafikonu 7.



Grafikon 7: Vnetje kloake pri samicah matične reje (A. Dovč, 2007).

Zdravstveno stanje grških in mavrskih kornjačah v času aplikacije mikročipa je prikazano v slikah pod zaporednimi številkami od 30 do 36. Na slikah pod zaporednimi številkami od 30 do 33 ni omejitev, da takšne želve ne bi mikročipirali, medtem ko gre na Sliki 34 in 35 za akutno obliko infekcije, kjer je potrebno predhodno zdravljenje. V takih primerih se lahko odločimo, da ne mikročipiramo nobene želve v skupini in predhodno zdravimo vse želve. Prav tako nismo mikročipirali želv, ki so jih poškodovale sive vrane (*Corvus cornix*) oziroma tistih, kjer smo našli svežo poškodbo. V preteklih letih smo vsako sezono ugotavljali tudi posamezne želve, ki so jih oskrbovalci pokosili ob košnji (Slika 36). Način košnje je sedaj prilagojen in tovrstnih poškodb v letu 2009 in 2010 nismo več sledili.



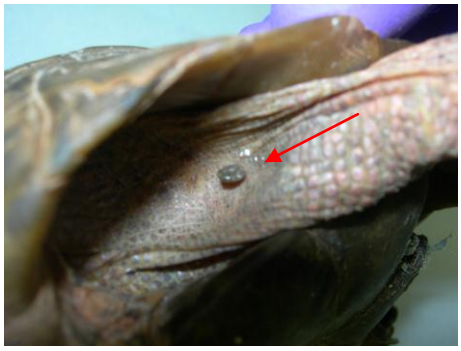
Slika 30: Stara poškodba spodnje čeljusti (Slika: A. Dovč, 2006).



Slika 31: Slepa grška kornjača (levo); grška kornjača brez levega gležnja (desno) (Slika: A. Dovč, 2007).



Slika 32: Stare poškodbe pri grški kornjači – viden kostni del karapaksa; levo hrbtenični del, desno rebra (Slika: A. Dovč, 2007).



Slika 33: Prisotnost klopa pri mavrski kornjači (Slika: A. Dovč, 2009).



Slika 34: Infekcija oči in zgornjih dihal pri grški kornjači – potrjena infekcija z mikoplazmami (Slika: A. Dovč, 2008).



Slika 35: Sveža poškodba noge (levo); prolapsus penisa (sredina); – potrjena infekcija s *Pseudomonas* sp. (Slika: A. Dovč, 2006).



Slika 36: Poškodba nastala zaradi košenja (Slika: A. Dovč, 2006).

Želve na farmi živijo na prostem v ogradah, zato so bile lahek plen sivih vran. Vrane kljuvajo oklep, dokler ga ne prebijejo in se tako dokopljejo do mehkih delov znotraj celomske votline. Pri posameznih želvah smo vsako leto v aktivni sezoni opažali tovrstne poškodbe (Slika 37). V teh primerih smo želve zdravili. Ker je zdravljenje zelo dolgotrajno, smo take želve mikročipirali šele naslednje leto, v velikih primerih pa je prišlo tudi do sepse in pogina želve. Kasneje je gojitelj dostop vranam preprečil z mrežami (Slika 38). Letno smo v letih 2005 do 2007 ugotavljali tudi 15 do 20 primerov težjih poškodb zaradi kljuvanja sivih vran v aktivni sezoni. Sedaj gojitelj beleži do dve poškodbi spomladi in nato jeseni. Ob nesenju prav tako opaža povečano zanimanje sivih vran, da bi prišle do jajc, ki pa se sproti pobirajo.



Slika 37: Poškodba karapaksa, ki jo naredijo sive vrane (Slika: M. Stvarnik, 2008).



Slika 38: Napeljane mreže proti vranam (Slika: A. Dovč, 2008).

Kot zaplet smo na poškodbah, ki so jo naredile vrane, relativno pogosto ugotavljali tudi miazo. Le to smo sledili tudi na mestih aplikacije mikročipa (Slika 39).

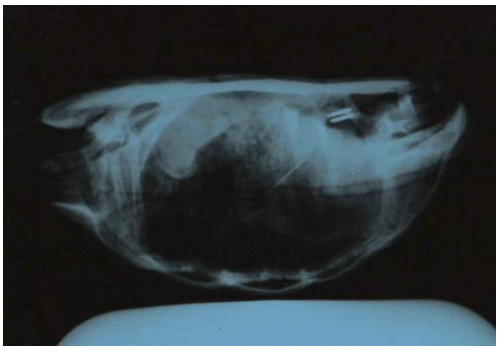


Slika 39: Zaplet po aplikaciji mikročipa – miaza (Slika: A. Dovč, 2008).

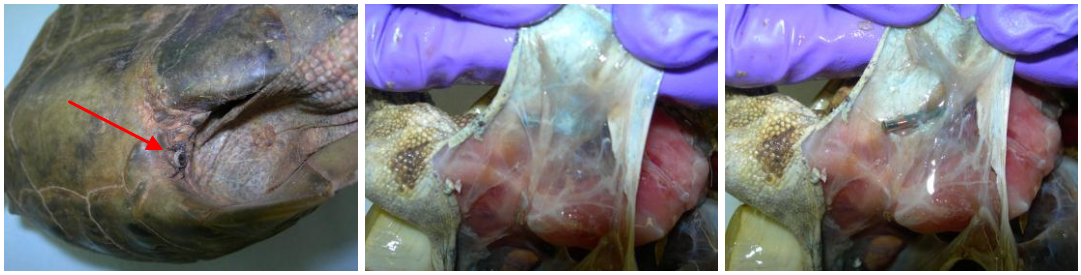
4.1.4.2 Patologija vezana na mikročipiranje

Nadzorovali smo potek celitve rane, ki je nastala na mestu aplikaciji mikročipa in možne zaplete. Ob izvajanju zdravstvenega nadzora so bile opravljene bakteriološke, parazitološke in patoanatomske preiskave želv. Najpogosteje potrjene so okužbe z bakterijami iz rodu *Salmonella*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Mycoplasma* in infestacije s paraziti. Pri patoanatomskem pregledu smo pregledali tudi prisotnost morebitnih reakcij na vstavljen mikročip: migracije, druge patološke spremembe. Ti podatki v nalogi niso sistematično obdelani.

Manjšo skupino želv iz obore smo ob odvzemu kri tudi rentgenizirali. Naš cilj je bil opazovati lego mikročipa oziroma možno migracijo le tega. Na Sliki 40 prikazujemo napako podvojevanja mikročipa, ki se lahko pripeti ob nepozornosti označevalca oziroma brez predhodne kontrole s čitalcem.



Slika 40: Rentgenska slika grške želve z dvema mikročipoma (Slika: A. Dovč, 2006).



Slika 41: Migracija mikročipa vidna ob patoanatomski preiskavi; mavrska kornjača (levo), grška kornjača (sredina, desno) (Slika: A. Dovč, 2006; 2007).

Pri mavrski kornjači je mikročip migriral po celi dolžini reber do sprednje okončine, kjer se je izločil. Oblikovala se je fistula. Kasneje je prišlo do pogina želve zaradi sepse. Ob patoanatomski preiskavi mikročipa nismo več zasledili. Pri grški kornjači smo našli mikročip v podkožnem vezivu, tik nad plastronom. Delno je bila poškodovana tudi stena mehurja, vendar je bila poškodba stara. Želvo smo mikročipirali 8 mesecev pred poginom. Vzrok pogina v tem primeru ni bila aplikacija mikročipa, ampak flegmona na sprednji nogi, ki je tudi v tem primeru prerasla v sepso kljub zdravljenju.

4.2 PROUČEVANJE MIKROČIPIRANJA IN BIOKEMIJSKIH PARAMETROV PRI IZBRANI SKUPINI ŽELV

4.2.1 Kontrola mikročipiranja skozi večletno obdobje

Izbrano oboro 133 grških kornjač (letnik 1974 in 1975) smo mikročipirali oktobra 2005. Vsako leto smo pri tej skupni sledili izpad mikročipov. Prav tako smo opravili pri njih vsako leto natančnejši klinični pregled, jih sledili skozi celo aktivno sezono, v letu 2005 je bil opravljen tudi pregled na endoparazite. Dvaintridesetim želvam iz te skupine smo v letu 2008 periodično jemali kri za ugotavljanje koncentracije kalcija in anorganskega fosfata v serumu. Nalogo smo izvedli zaradi zlomov kosti, ki smo jih občasno opazili ob mikročipiranju v zgodnjem spomladanskem obdobju takoj po hibernaciji. To skupino smo izbrali naključno. Predstavljala nam je povprečni vzorec oziroma model za razjasnitev vzrokov zlomov v tem obdobju. Prav tako nas je zanimalo nihanje kalcija in anorganskega fosfata skozi celo aktivno sezono.

Tabela 10: Izguba mikročipov matična reja *Testudo hermanni* po letih.

Število želv	Samci (33)	Samice (100)	Skupaj (133)	Samci (%)	Samice (%)	Skupaj (%)
Izguba 2005	1	1	2	3,03	1,00	1,50
Izguba 2006	2	0	2	6,06	0,00	1,50
Izguba 2007	1	0	1	3,03	0,00	0,75
Izguba 2008	1	0	1	3,03	0,00	0,75
Izguba 2009	0	1	1	0,00	1,00	0,75
Izguba 2010	1	0	1	3,03	0,00	0,75
Skupaj izguba	6	2	8	18,18	2,00	6,02

V prvem letu, takoj po mikročipiranju, sta mikročip izgubila en samec (3,03 odstotke) in ena samica (1,00 odstotek), skupaj 1,50 odstotkov. V letu 2006 sta mikročip izgubila dva samca (6,06 odstotkov) in nobena samica. V letu 2007 je izgubil le en samec (3,03 odstotna izguba). V letu 2008 je mikročip izgubil en samec (3,03 odstotna izguba) in v letu 2009 ena samica (1,00-odstotna izguba). V letu 2010 je mikročip izgubil en samec (0,75-odstotna izguba). V šestih letih je mikročip od triintridesetih samcev izgubilo šest (18,18-odstotkov), od sto samic pa le dve (2,00-odstotka). Od skupine 133 želv jih je mikročip izgubilo osem (6,02 odstotkov).

V kontrolo zdravstvenega statusa smo vključili tudi parazitološke preiskave. Pri pregledu na endoparazite (pregled blata s flotacijsko in sedimentacijsko metodo) smo v letu 2005 pri *Testudo hermanni* najpogosteje našli vrsto *Oxyuridae* (96,6-odstotna invadiranost), vrsto *Strongylidae* (48,3-odstotna invadiranost) in *Balantidium* sp. (79,3-odstotna invadiranost). V manjšem številu smo našli vrsto *Strongyloides* sp. (17,2-odstotna invadiranost) ter *Ascaridae* (3,4-odstotna invadiranost).

4.2.2 Ugotavljanje nihanja biokemijskih parametrov

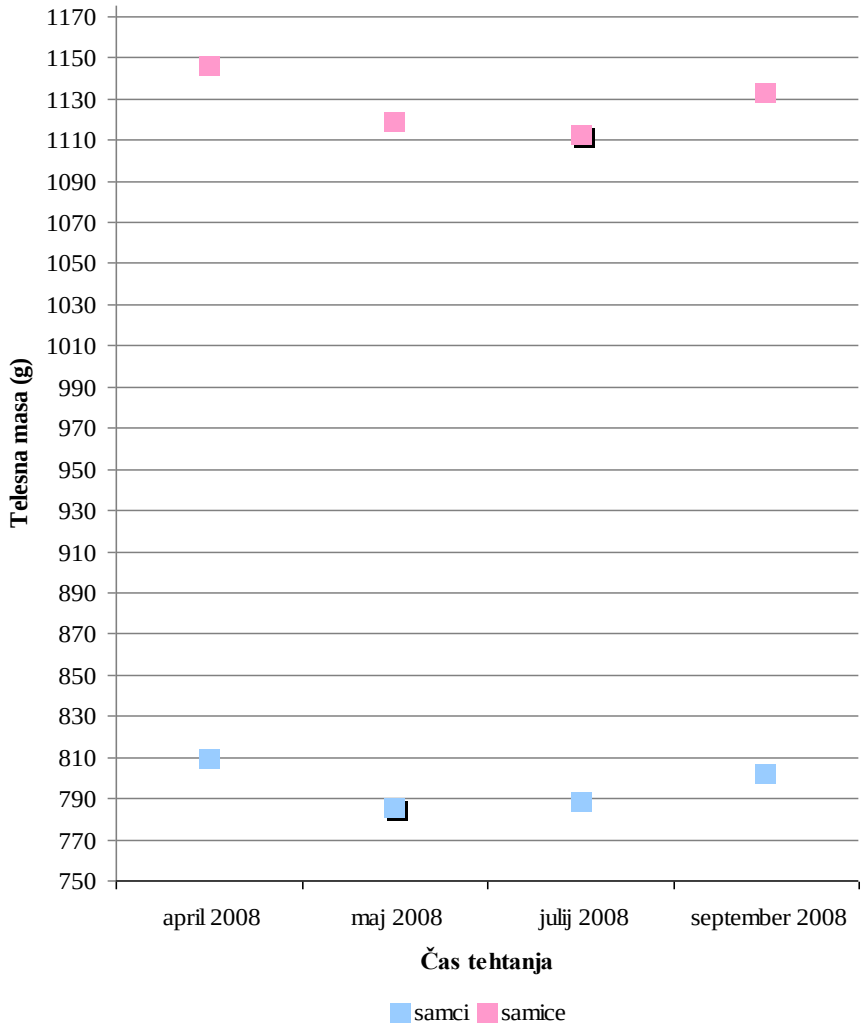
V nalogi smo proučevali skupino dvaintridesetih zdravih grških kornjač; 16 samcev in 16 samic. S pomočjo čitalca mikročipa smo vsakič poiskali iste živali iz izbrane obore, v kateri je skupno 133 želv, ki smo jih mikročipirali oktobra 2005.

Vseh 32 želv smo spomladi 2008 stehtali in opravili klinični pregled (Tabela 11 in Grafikon 8). Kri smo jemali iz repne vene – *vena coccygeal dorsalis*. Kri smo v letu 2008 jemali v periodičnih presledkih: takoj po hibernaciji, pred izleganjem, po izleganju jajc in pred ponovno hibernacijo. Opravili smo primerjavo biokemijskih podatkov za kalcij in anorganski fosfat.

Želve smo najprej stehtali. Prvo tehtanje smo opravili konec meseca aprila, teden dni po končani hibernaciji celotne skupine, ko so vse želve postale aktivne in so se začele zanimati za okolico. Drugo tehtanje smo izvedli konec meseca maja, tretje tehtanje v sredini julija in zadnje konec septembra.

Tabela 11: Tehtanje pred odvzemom krvi.

Leto 2008	april	maj	julij	september	april	maj	julij	september
Telesna masa (g)	samci				samice			
	1018	1012	1066	1011	1035	977	1034	1087
	915	847	866	900	1079	983	941	995
	852	837	809	828	1271	1260	1241	1206
	633	615	635	626	1122	1165	1079	1116
	810	775	808	849	1352	1340	1363	1347
	796	792	795	837	915	885	892	885
	630	629	641	629	1190	1228	1151	1207
	1441	1430	1128	1107	1093	1020	1061	1005
	997	938	998	1039	1394	1420	1375	1384
	700	671	702	702	1100	1026	1099	1133
	840	805	849	880	1039	993	931	955
	569	540	577	591	1073	963	983	1050
	858	849	886	902	1190	1098	1174	1254
	569	593	606	620	919	915	971	970
	780	790	777	802	1298	1299	1265	1291
	541	447	479	501	1271	1331	1226	1240
Razpon	541-1441	447-1430	479-1128	501-1107	915-1394	885-1420	892-1375	885-1384
Povprečje	809	786	789	802	1146	1119	1112	1133
Mediana	803	791	801,5	832,5	1111	1062	1089	1124,5
Standardni odklon	224,77	227,97	179,43	175,47	142,86	172,20	152,19	149,47



Grafikon 8: Nihanje povprečja telesne mase pri samcih in samicah (senčena točka je najnižja vrednost).

Iz Tabele 11 in Grafikona 8 je razvidno, da so samci lažji od samic iste starosti. Pri vseh meritvah smo ugotovili statistično značilno večjo težo pri samicah v primerjavi s samci. V našem primeru so samci po hibernaciji lažji v povprečju za 337 g, nato se razlika zmanjša na 333 g v mesecu maju, v času po izleganju jajc, torej v mesecu juliju na 323 g. Konec septembra, pred hibernacijo, se je razlika zopet povečala v korist samic, in sicer v povprečju na 331 g.

V jesenskem času je najmanjši samec tehtal 501 g in največji 1107 g. Najlažja samica je jeseni tehtala 885 g in najtežja 1384 g. Pomemben podatek, ki je razviden iz Tabele 8 je, da so tako najlažje kot tudi najtežje želve iste na začetku in koncu sezone. Viden je bil sicer padec telesne mase pri obeh spolih v poletnih mesecih (maj in julij) in ponoven porast v septembru. Podatki veljajo za povprečje, kot tudi za posamezne živali.

Telesna masa jeseni pri sedmih samcih (43,75 %) in enajstih samicah (62,75 %) še ni dosegla telesne mase ob začetku sezone. V oktobru meritev žal nismo opravili. Kljub lahnemu padcu v telesni masi tudi tu nismo ugotovili značilnih statističnih sprememb.

Samci so med prvim in drugim merjenjem v povprečju izgubili 23 g na želvo. To telesno maso so praktično pridobili približno pred začetkom naslednje hibernacije (tabela 12). Enakomerno so pridobivali na telesni masi. Pri najtežjem samcu (označen rdeče) smo opazili močno zmanjšanje telesne mase – za 343 g. Pri njem smo opazili apatijo in drisko, ki smo jo uspešno zdravili. Ravno ta samec je imel največji vpliv na razliko v povprečni telesni masi. Pri zadnjem tehtanju skupine so samci pred hibernacijo še vedno zaostajali za 7 gramov v primerjavi s spomladansko povprečno telesno maso. To kaže na to, da so samci do hibernacije s pravilno prehrano uspešno nadomestili spomladansko izgubo.

Samice so med prvim in drugim merjenjem hibernaciji izgubile v povprečju 27 g na želvo. Rahlo izgubo telesne mase smo zaznali tudi v juliju: dodatna izguba v povprečju 7 g. Rezultati so pričakovani, glede na to, da so samice v tem obdobju izlegale jajca. Do septembra so samice pričele pridobivati na telesni masi. V primerjavi s prvo izmerjeno telesno maso so imele samice septembra za 13 g nižjo telesno maso.

Tabela 12: Povprečne vrednosti telesne mase samcev in samic v aprilu in septembru in povprečna razlika med začetkom in koncem sezone pri samcih in samicah.

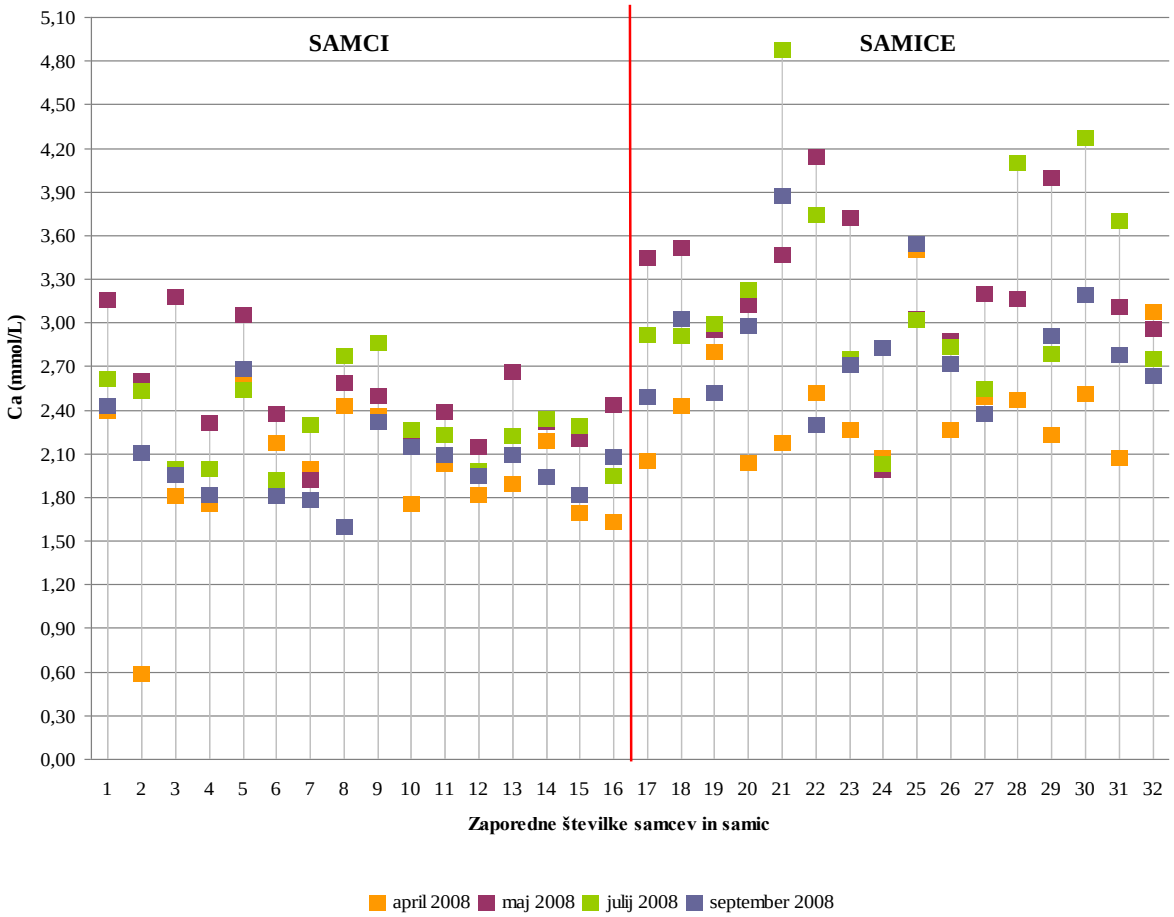
	Povprečje (g)
Samci spomladi (g)	809
Samci jeseni (g)	802
Razlika samci (%)	- 0,87
Samice spomladi (g)	1146
Samice jeseni (g)	1133
Razlika samice (%)	- 1,13
Samci in samice spomladi SKUPAJ (g)	978
Samci in samice jeseni SKUPAJ (g)	968
Razlika SKUPAJ (%)	- 1,02

V Tabelah 13 do 18 in Grafikonih 9 do 16 prikazujemo vrednosti kalcija in anorganskega fosfata in njuno medsebojno razmerje pri samcih in samicah v različnem časovnem obdobju od aprila do septembra.

Ugotavljanje nihanja kalcija

Tabela 13: Izmerjene vrednosti kalcija.

Zap. številka	april	maj	julij	september	Zap. številka	april	maj	julij	september
samci	kalcij (mmol/L)	kalcij (mmol/L)	kalcij (mmol/L)	kalcij (mmol/L)	samice	kalcij (mmol/L)	kalcij (mmol/L)	kalcij (mmol/L)	kalcij (mmol/L)
1	2,40	3,16	2,61	2,43	17	2,05	3,45	2,92	2,49
2	0,59	2,60	2,53	2,11	18	2,43	3,52	2,91	3,03
3	1,81	3,18	2,00	1,96	19	2,80	2,95	2,99	2,52
4	1,76	2,31	2,00	1,82	20	2,04	3,13	3,23	2,98
5	2,60	3,05	2,54	2,69	21	2,17	3,47	4,88	3,87
6	2,17	2,37	1,92	1,81	22	2,52	4,14	3,74	2,30
7	2,00	1,92	2,30	1,78	23	2,26	3,72	2,75	2,71
8	2,43	2,59	2,77	1,60	24	2,07	1,99	2,03	2,83
9	2,36	2,50	2,86	2,32	25	3,50	3,03	3,02	3,54
10	1,76	2,23	2,26	2,15	26	2,26	2,88	2,84	2,72
11	2,03	2,39	2,23	2,09	27	2,49	3,20	2,55	2,37
12	1,82	2,15	1,98	1,95	28	2,47	3,17	4,10	/
13	1,89	2,66	2,22	2,09	29	2,23	4,00	2,79	2,91
14	2,19	2,32	2,34	1,94	30	2,51	3,19	4,27	3,19
15	1,69	2,21	2,29	1,82	31	2,07	3,11	3,70	2,78
16	1,63	2,44	1,95	2,08	32	3,08	2,96	2,75	2,64
Mediana	1,95	2,42	2,28	2,02	Mediana	2,35	3,18	2,96	2,78



Grafikon 9: Nihanje vrednosti kalcija pri posameznih samcih in samicah.

Tabela 14: **V**rednosti kalcija pri samcih in samicah.

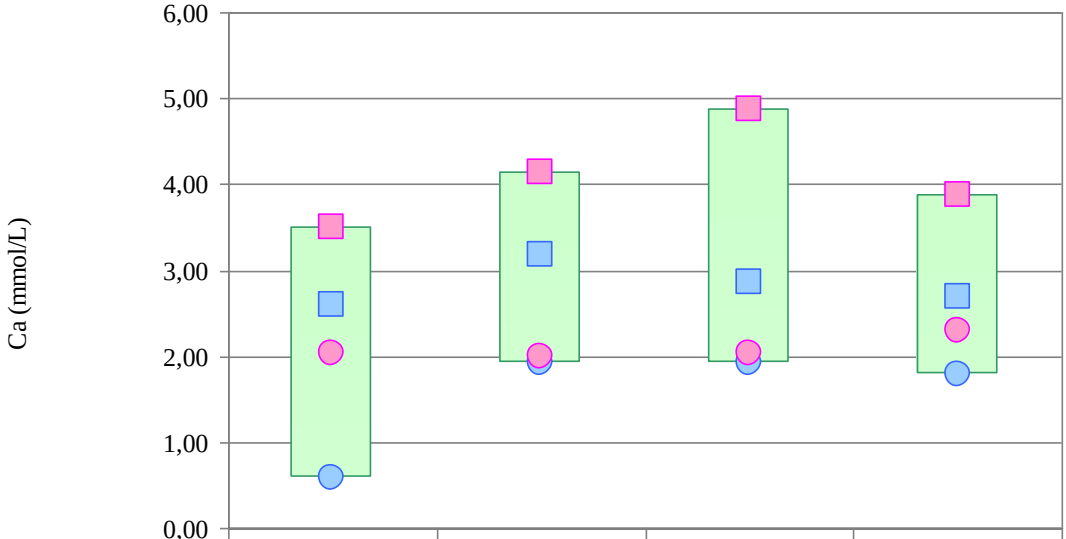
Vrednost Ca (mmol/L)	**april 2008**	**maj 2008**	**julij 2008**	**september 2008**
samci				
MIN	0,59	1,92	1,92	1,78
MAX	2,60	3,18	2,86	2,69
Razlika	2,01	1,26	0,94	0,91
Povprečna vrednost	1,95	2,51	2,30	2,04
Mediana	1,95	2,42	2,28	2,02
Standardni odklon	0,47	0,36	0,29	0,27
samice				
MIN	2,04	1,99	2,03	2,30
MAX	3,50	4,14	4,88	3,87
Razlika	1,46	2,15	2,85	1,57
Povprečna vrednost	2,43	3,24	3,22	2,86
Mediana	2,35	3,18	2,96	2,78
Standardni odklon	0,40	0,50	0,73	0,43
samci in samice				
Vrednost P	P = 0,002	P ≤ 0,001	P ≤ 0,001	P = 0,097

V vseh mesecih, razen v septembru, smo pri samicah, v primerjavi s samci, ugotovili, statistično značilno višje vrednosti serumskega kalcija (Tabela 14).

Razlika v vrednosti kalcija med posameznimi samci je največja v mesecu aprilu in zanaša 2,01 mmol/L. Sledi postopno zmanjševanje razlike med minimalno in maksimalno vrednostjo pri posameznih zaporednih testiranjih opravljenih od maja do septembra.

Za razliko od samcev je razlika v vrednosti kalcija med posameznimi samicami v mesecu aprilu najmanjša in zanaša 0,69 mmol/L. Največjo razliko v vrednosti kalcija med posameznimi samicami smo ugotovili v mesecu juliju in znaša 2,85 mmol/L. Septembra sledi ponovno znižanje razlike v vrednosti kalcija med minimalno in maksimalno vrednostjo.

Dejanske vrednosti kalcija med samci in samicami so primerljive, kar prikazujemo v grafikonu 10. Pri samcih in samicah so povprečne vrednosti najnižje v aprilu. Najvišje povprečne vrednosti pa ugotavljamo pri samcih v maju in pri samicah septembru (glej Tabelo 17).



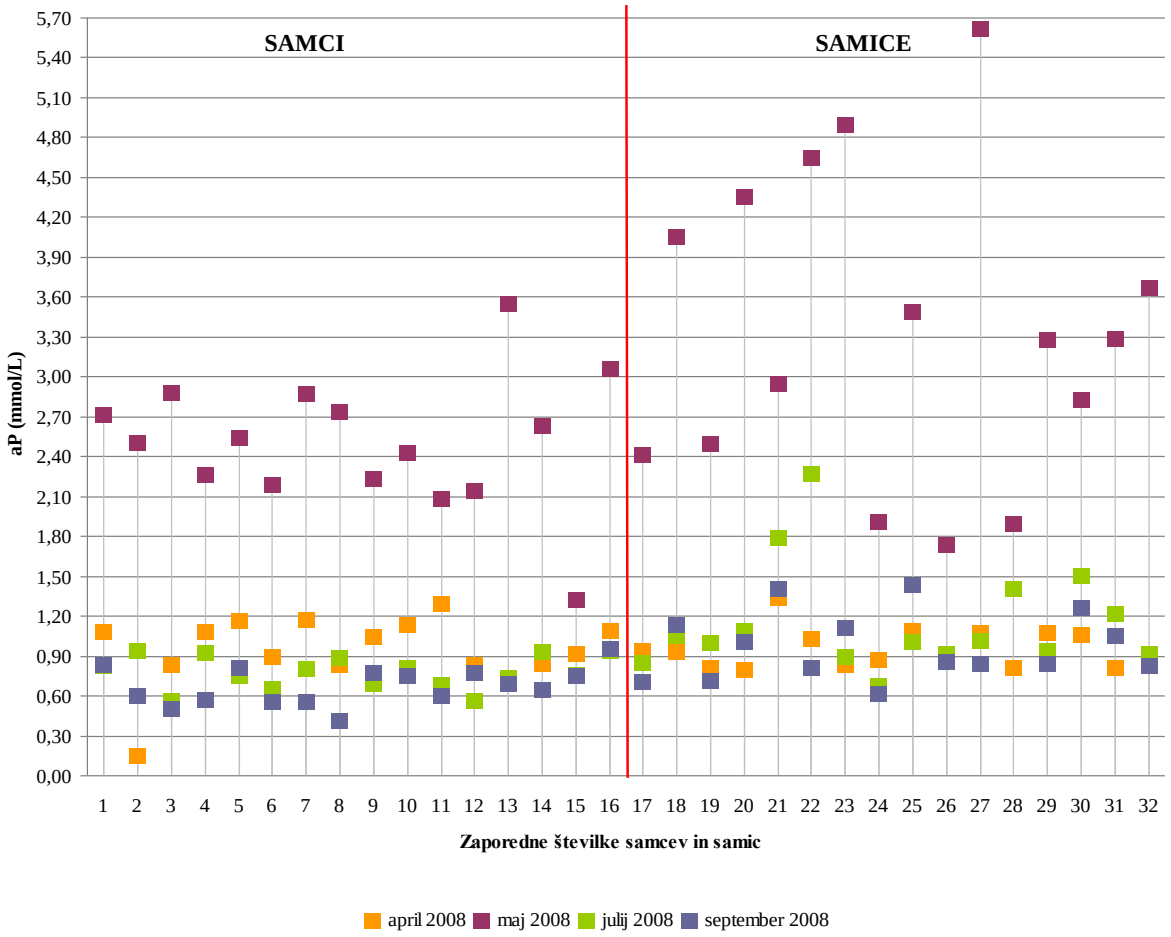
	april 2008	maj 2008	julij 2008	september 2008
minimalna vrednost samci	0,59	1,92	1,92	1,78
maksimalna vrednost samci	2,60	3,18	2,86	2,69
minimalna vrednost samice	2,04	1,99	2,03	2,30
maksimalna vrednost samice	3,50	4,14	4,88	3,87

Grafikon 10: Nihanje vrednosti kalcija pri samcih in samicah.

4.2.2.1 Ugotavljanje nihanja anorganskega fosfata

Tabela 15: Izmerjene vrednosti anorganskega fosfata.

Zap. št.	april	maj	julij	september	Zap. št.	april	maj	julij	September
samci	aP (mmol/L)	aP (mmol/L)	aP (mmol/L)	aP (mmol/L)	samice	aP (mmol/L)	aP (mmol/L)	aP (mmol/L)	aP (mmol/L)
1	1,08	2,72	0,82	0,83	17	0,94	2,41	0,85	0,70
2	0,15	2,50	0,94	0,60	18	0,93	4,06	1,05	1,14
3	0,83	2,88	0,56	0,50	19	0,81	2,49	1,00	0,71
4	1,08	2,26	0,92	0,57	20	0,79	4,35	1,09	1,01
5	1,16	2,54	0,75	0,81	21	1,34	2,95	1,79	1,40
6	0,90	2,19	0,66	0,55	22	1,03	4,65	2,27	0,81
7	1,17	2,87	0,80	0,55	23	0,83	4,90	0,90	1,11
8	0,83	2,73	0,89	0,42	24	0,87	1,91	0,67	0,62
9	1,04	2,24	0,69	0,78	25	1,09	3,49	1,01	1,43
10	1,14	2,43	0,81	0,75	26	0,89	1,74	0,91	0,86
11	1,29	2,08	0,68	0,60	27	1,07	5,62	1,02	0,84
12	0,83	2,14	0,56	0,78	28	0,81	1,89	1,40	/
13	0,74	3,55	0,74	0,69	29	1,07	3,28	0,94	0,84
14	0,84	2,63	0,93	0,65	30	1,06	2,83	1,51	1,27
15	0,91	1,32	0,76	0,75	31	0,81	3,29	1,22	1,05
16	1,09	3,06	0,94	0,95	32	0,90	3,67	0,91	0,82
Mediana	0,98	2,52	0,78	0,67	Mediana	0,55	3,88	1,60	0,81



Grafikon 11: Nihanje vrednosti anorganskega fosfata pri posameznih samcih in samicah.

Tabela 16: Vrednosti anorganskega fosfata pri samcih in samicah.

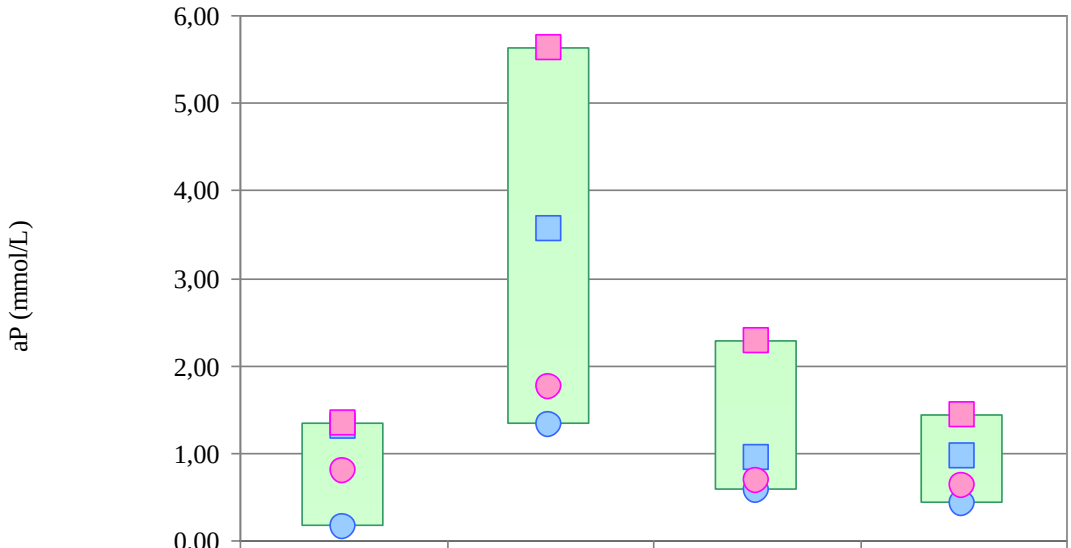
Vrednost aP (mmol/L)	april 2008	maj 2008	julij 2008	september 2008
samci				
MIN	0,15	1,32	0,56	0,42
MAX	1,29	3,55	0,94	0,95
Razlika	1,14	2,23	0,38	0,53
Povprečna vrednost	0,94	2,51	0,78	0,67
Mediana	0,98	2,52	0,78	0,67
Standardni odklon	0,26	0,50	0,13	0,14
samice				
MIN	0,79	1,74	0,67	0,62
MAX	1,34	5,62	2,27	1,43
Razlika	0,55	3,88	1,60	0,81
Povprečna vrednost	0,95	3,35	1,16	0,97
Mediana	0,92	3,29	1,02	0,86
Standardni odklon	0,15	1,15	0,41	0,25
Vrednost P	P=0,473	P=0,040	P≤0,001	P=0,166

V mesecu maju in juliju smo ugotovili statistično značilno višje vrednosti serumskega anorganskega fosfata pri samicah v primerjavi s samci (Tabela 16).

Razlika v vrednosti anorganskega fosfata med posameznimi samci je največja v mesecu maju in zanaša 2,23 mmol/L. Najmanjša razlika je bila ugotovljena v mesecu septembru.

Razlika v vrednosti anorganskega fosfata je pri samicah največja v mesecu maju in zanaša 3,88 mmol/L. Najmanjša razlika je bila ugotovljena v mesecu aprilu.

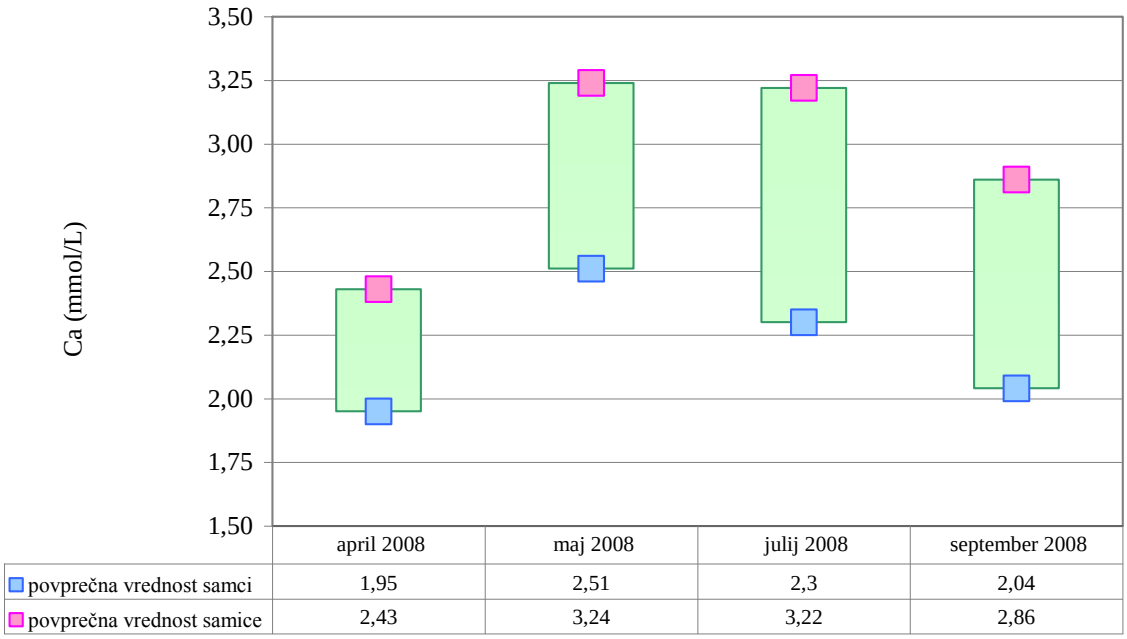
Dejanske vrednosti anorganskega fosfata med samci in samicami so primerljive, kar prikazujemo v Grafikonu 12. Pri samcih so povprečne vrednosti najnižje v septembru in pri samicah v aprilu in septembru. Najvišje povprečne vrednosti ugotavljamo pri samcih in samicah v maju.



	april 2008	maj 2008	julij 2008	september 2008
minimalna vrednost samci	0,15	1,32	0,56	0,42
maksimalna vrednost samci	1,29	3,55	0,94	0,95
minimalna vrednost samice	0,79	1,74	0,67	0,62
maksimalna vrednost samice	1,34	5,62	2,27	1,43

Grafikon 12: Nihanje vrednosti anorganskega fosfata pri samcih in samicah.

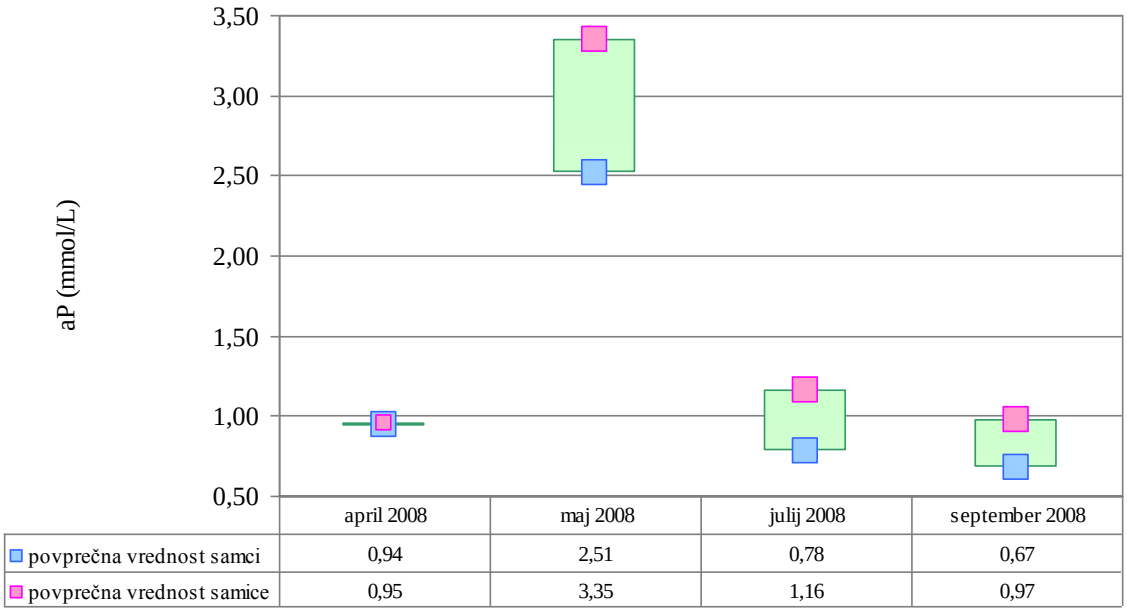
4.2.2.2 Primerjava vrednosti kalcija in anorganskega fosfata



	april 2008	maj 2008	julij 2008	september 2008
povprečna vrednost samci	1,95	2,51	2,3	2,04
povprečna vrednost samice	2,43	3,24	3,22	2,86

Grafikon 13: Primerjava nihanja povprečne vrednosti kalcija med spoloma.

Na podlagi rezultatov ugotavljamo nizke vrednosti kalcija po hibernaciji, ki sta pri obeh spolih približno enaka. Konec meseca maja, ko postajajo želve spolno in presnovno aktivne je viden močan dvig pri obeh spolih. Pri samicah je vsebnost kalcija v krvi višja za 0,73 mmol/L. Po končani valitveni sezoni vrednost ponovno pade. Pri samcih je vrednost za 0,35 mmol/L višja od vrednosti dobljene v mesecu aprilu, pri samicah pa ostaja višja za 0,79 mmol/L. Konec septembra so ob pripravah na hibernacijo vrednosti padle pri samcih še za dodatnih 0,26 mmol/L, pri samicah pa za 0,36 mmol/L v primerjavi s pomladansko vrednostjo.



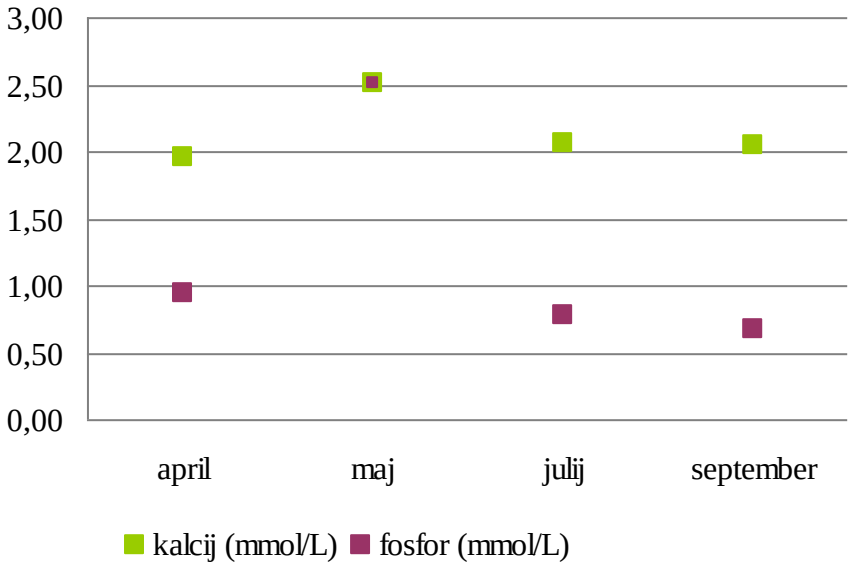
Grafikon 14: Primerjava nihanja povprečne vrednosti anorganskega fosfata med spoloma.

Na podlagi rezultatov ugotavljamo nizke vrednosti anorganskega fosfata po hibernaciji, ki sta pri obeh spolih približno enaka. Konec meseca maja, ko postajajo želve spolno in presnovno aktivne, je viden močan dvig pri obeh spolih. Pri samicah je vsebnost anorganskega fosfata v krvi višja za 0,84 mmol/L. Po končani valitveni sezoni vrednost ponovno pade. Pri samcih v juliju pade za 0,16 mmol/L pod vrednost, dobljeno v mesecu aprilu, pri samicah pa ostaja višja za 0,21 mmol/L. Konec septembra so ob pripravah na hibernacijo vrednosti padle pri samcih še za dodatnih 0,11 mmol/L, pri samicah pa je vrednost primerljiva s pomladansko vrednostjo.

Tabela 17: Povprečne vrednosti kalcija in anorganskega fosfata ter razmerje le teh pri samcih.

Povprečje samci	**april**	**maj**	**julij**	**september**
Kalcij (mmol/L)	1,95	2,51	2,06	2,04
Anorg. fosfat (mmol/L)	0,94	2,51	0,78	0,67
Razmerje (Ca:aP)	**2,1:1**	**1:1**	**2,6:1**	**3:1**

V spomladanskem času je razmerje Ca:aP pri samcih 2,1:1. Konec maja je bilo razmerje 1:1. Po valilni sezoni v juliju pa se je razmerje povečalo na 2,6:1. V septembru je razmerje naraslo na 3:1.

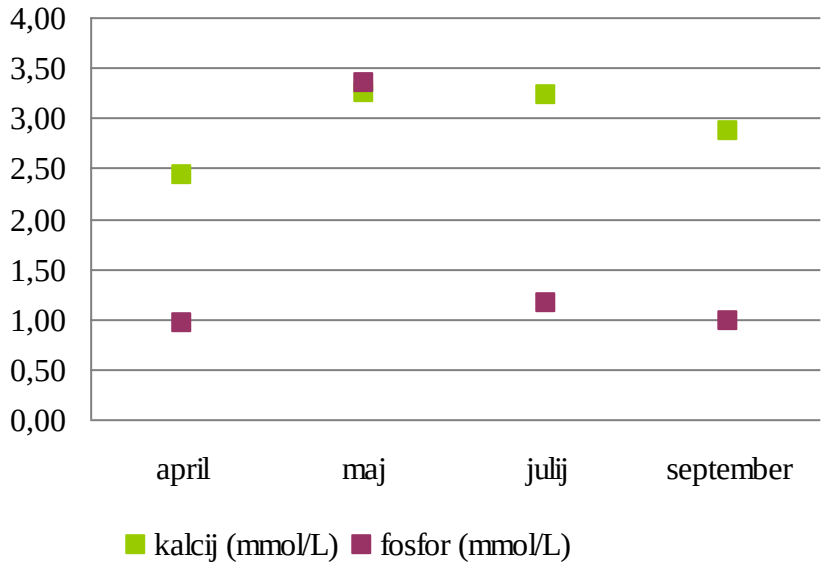


Grafikon 15: Primerjava razmerja kalcija in anorganskega fosfata – samci.

Tabela 18: Povprečne vrednosti kalcija in anorganskega fosfata ter razmerje le teh pri samicah.

Povprečje samice	**april**	**maj**	**julij**	**september**
Kalcij (mmol/L)	2,43	3,24	3,22	2,86
Anorg. fosfat (mmol/L)	0,95	3,35	1,16	0,97
Razmerje (Ca:aP)	**2,6:1**	**0,97:1**	**2,8:1**	**2,95:1**

Pri samicah je v spomladanskem času razmerje 2,6:1, kar je za 0,2 v korist kalcija. Konec maja smo dobili razmerje 0,97:1, kar je za 0,03 slabše razmerje v primerjavi s samci. Po valilni sezoni v juliju se je razmerje povečalo na 2,8:1. V septembru pa je razmerje naraslo skoraj na 3:1, kar je podobno kot pri samcih. Pri želvah je pomembno pravilno razmerje med kalcijem in anorganskim fosfatom (vsaj v razmerju 1,5:1 ali 2:1). V naravi opazimo razmerje Ca:aP vsaj 4:1.



Grafikon 16: Primerjava razmerja kalcija in anorganskega fosfata – samice.

V letu 2008 smo vzeli vzorec rastlin iz obore. Omenjene rastline želvam predstavljajo osnovni obrok hrane v kolikor ni dodatnega krmljenja. Sestava rastlin bila naslednja (Slika 42):

- angleška ljulka (*Lolium perenne*),
- nekaj navadne pasje trave (*Dactylis glomerata*),
- navadna latovka (*Poa trivialis*),
- bela detelja (*Trifolium repens*),
- navadni rman (*Achillea millefolium*),
- navadna marjetica (*Bellis perennis*),
- navadni regrad (*Taraxacum officinale*).

Rezultati opravljenih preiskav omenjenih rastlin so prikazani v Tabeli 19.

Tabela 19: Analiza krme.

Določitev (enota)	Rezultat (%)
Suha snov	88,33
Vlaga	11,67
Surove beljakovine	19,4
Surove maščoba	2,5
Surove vlaknine	17,7
Pepel	11,1
Fosfor	0,29
Kalcij	0,5

Rezultati analize krme v mesecu kažejo na ustrezno razmerje med kalcijem in anorganskim fosfatom (1,7:1) kar pomeni, da ni potrebno dodajanje mineralnih dodatkov.



Slika 42: Najpogostejše rastline v obori, ki pogosto služijo tudi kot vir obroka za želve (Slika: A. Dovč, 2008).

5 RAZPRAVA

V letih od pomladi 2005 do jeseni 2010 smo na farmi opravili mikročipiranje 8.900 želv. Sledili smo uspeh pri matični reji grških in mavrskih kornjač, ki so ves čas naseljene znotraj farme in predstavljajo stalno skupino živali, ki so namenjene zgolj za razplod. Izkušnje, ki smo jih dobili pri izvajanju označevanja, so pomembna osnova tudi za druge vrste plazilcev in hkrati pomemben doprinos k tovrstni problematiki. Do sedaj v svetovni literaturi še ni bilo objavljenih rezultatov na področju mikročipiranja pri tako velikem številu želv. Na podlagi tuje literature lahko povzamemo podatke o proučevanju manjše skupine, do največ 31 kopenskih želv (118). Naloga povzema rezultate in izkušnje mikročipiranja grških in mavrskih kornjač v Sloveniji.

Pred vsakim kliničnim pregledom, ki ga opravimo pri želvah, pomemben del predstavlja tudi anamneza. Lastnik lahko s svojimi podatki velikokrat pripomore k jasnejši sliki stanja živali. Ob pregledu opazujemo bivalni prostor, obnašanje živali, aktivnost, izgled iztrebkov, apetit, morebitne spremembe oz. poškodbe, šepanje, zmožnost požiranja, prisotnost morebitnih težav z dihanjem ali prisotnost nevroloških znakov in splošno oslabelost. Prav tako so za uspešno mikročipiranje pomembni tudi podatki o poteku in času hibernacije, nesnosti: pričetek aktivne sezone, mesec valjenja, število gnezd in število jajc na gnezdo. Zelo pomembne podatke lahko razberemo tudi iz »hlevske knjige«: predhodna zdravljenja, opravljeni posegi in laboratorijska testiranja, rezultati patoanatomskih preiskav. Podatki o sekciji poginulih živali prispevajo k natančnejši sliki zdravstvenega stanja celotne skupine živali. Šele na osnovi vseh teh podatkov se lahko odločimo za skupinsko mikročipiranje in določimo najprimernejši čas posega.

Pri plazilcih v ujetništvu je stres pomemben dejavnik. Pogosto je posledica prenaseljenosti, nepravilne oskrbe, slabe prehrane in drugih dejavnikov. Stres oslabi imunski sistem živali, zaradi česar so dovzetnejše za številne bakterijske, virusne, glivične in parazitarne bolezni (95). Mikročipiranje lahko za želve predstavlja dodaten stres, še posebno, če ne poznamo reje in posameznih parametrov, ki smo jih opisali zgoraj.

V okviru naloge smo ugotovili, da je najprimernejši čas nekaj tednov po zaključeni hibernaciji oziroma po končanem izleganju jajc. Aplicirali smo v nadkolensko gubo v podkožje leve noge. Ugotovili smo, da je zelo pomemben način aplikacije mikročipa. Za najboljši način se nam je izkazal vbod igle v kranialni smeri. Ob aplikaciji mikročipa smo opazili, da pri grški kot pri mavrski kornjači samci bolj krvavijo kot samice. V naši nalogi smo ugotovili, da pri živalih, ki so večje od 100 mm nismo imeli težav z aplikacijo mikročipa. Pri mikročipiranju je potrebno upoštevati tudi temperaturo zraka oziroma letni čas ter izpostavljenosti direktnemu soncu. Izvajanje mikročipiranja v sončnih poletnih dneh lahko privede do toplotnega udara.

Kri smo jemali iz kavdalne repne vene. Pri odvzemu krvi smo ugotovili, da je jemanje krvi veliko lažje pri samcih kot pri samicah. Ugotovili smo, da vrednost kalcija v krvi najbolj naraste pri obeh spolih konec meseca maja. Podoben trend naraščanja in padanja je viden pri anorganskem fosfatu, le razlika med spoloma je manj očitna.

5.1 OGROŽENE ŽIVALSKE VRSTE IN STATUS ŽELV

Konvencija o mednarodni trgovini z ogroženimi prosto živečimi živalskimi in rastlinskimi vrstami ali CITES, ki jo je Slovenija ratificirala 23. aprila 2000, skuša doseči, da trgovina z živalskimi in rastlinskimi vrstami ne ogroža njihovega preživetja. Ureja in nadzira mednarodno trgovino s preko 30.000 z ogroženimi prosto živečimi vrstami živali in rastlin. Zahteva usklajeno delovanje služb s področja varstva narave, carine, policije in inšpekcij tako doma, kakor na mednarodni ravni. V delo se uspešno vključuje tudi veterinarska služba.

Vse vrste želv iz družine Testudinidae so od leta 1977 uvrščene na dodatke konvencije CITES. V Dodatku I je navedenih osem vrst; ostale, vključno z grško kornjačo in mavrsko kornjačo, so navedene v Dodatku II. Izvedbeni predpis za izvajanje konvencije CITES v Evropski uniji (EU) je Uredba Sveta (ES) št. 338/97 (14) o varstvu prosto živečih živalskih in rastlinskih vrst z zakonsko ureditvijo trgovine z njimi ter Uredba Komisije (ES) št. 407/09 (18). Na podlagi teh so sprejete uredbe komisije, ki v nekaterih primerih predpisuje celo strožje ukrepe kot sama konvencija CITES. Tako so v Prilogo A Uredbe Sveta (ES) št. 407/09 poleg vrst iz CITES Dodatka I vključene še štiri vrste iz Dodatka II, med njimi tudi grška in mavrska kornjača (119).

V Sloveniji trenutno EU predpise s tega področja povzema Uredba o ravnanjih in načinu varstva pri trgovini z živalskimi in rastlinskimi vrstami. Grška in mavrska kornjača sta navedeni v Prilogi 1 omenjene uredbe, ki vsebinsko povzema Prilogo A Uredbe Sveta (ES) št. 338/97 (14) in Uredba Komisije (ES) št. 407/09 o spremembi Uredbe Sveta (18, 119).

Grška in mavrska kornjača sta skupaj z širokorobo kornjačo (*Testudo marginata*), ki je prav tako kopenska vrsta želve, navedeni tudi v IUCN 2000 rdečem seznamu ogroženih vrst (119).

Izvedbeni predpis za izvajanje Bernske konvencije v okviru Evropske Skupnosti je habitatna direktiva. Grška, mavrska in širokoroba kornjača so navedene v prilogi IV habitatne direktive. Zakonsko varstvo za te evropsko pomembne vrste je v Sloveniji zagotovljeno z Uredbo o zavarovanih prosto živečih živalskih vrstah (16, 119).

Republika Slovenija je v skladu z Zakonom o ohranjanju narave in na njegovi podlagi sprejetimi predpisi dolžna zagotavljati tudi varstvo mednarodno varovanih vrst (na podlagi ratificiranih mednarodnih pogodb), ki se zagotavlja z varstvom njihovih habitatov in z varstvenimi režimi za zavarovane vrste. Pravilnik o izvedbi presoje tveganja za naravo in pridobitvi pooblastila (116), katerega osnova je podana v 28. členu Zakona o ohranjanju narave (120), med drugim določa tudi pogoje in način izvedbe presoje tveganja za naravo pri gojitvi tujerodnih prosto živečih živali. Eden od pogojev za pozitivno presojo je tudi obvezno označevanje živali, ki so na seznamu omenjenih zakonskih in podzakonskih aktov. Najpomembnejši med njimi je Pravilnik o označevanju živali prosto živečih vrst v ujetništvu (47).

5.2 OBVEZNO OZNAČEVANJE GRŠKIH IN MAVRSKIH KORNJAČ

V skladu s predpisi mora gojitelj želve ustrezno označiti in sicer vse osebke matične skupine z mikročipi predpisanega standarda. Izjemoma lahko ostanejo neoznačene želve, ki se jih zaradi zdravstvenega ali drugega posebnega stanja ali vedenja ne da varno označiti. Natančnejša navodila o načinu označevanja oziroma mikročipiranja, ki je eno od trajnega označevanja živali, od leta 2004 ureja Pravilnik o označevanju živali prosto živečih vrst v ujetništvu (47). Od junija 2005 se v »Register označenih živali« vpisuje vsako trajno označevanje živali (mikročipi, zaprti obročki), prav tako se vodi tudi banka genetskega materiala za nekatere skupine živali, ki po CITES konvenciji sodijo v skupino I. Na osnovi Uredbe komisije (ES) (121) morajo biti vrste, ki so v Prilogi A te uredbe, mikročipirane, hkrati pa ob tem ne smemo vplivati na dobrobit živali. Pogoji veljajo tudi za grško in mavrsko kornjačo s katerimi se trguje. Zato smo v letu 2005 začeli z označevanjem želv na farmi, saj je to ena največjih izvoznih farm v Evropi.

Po izvedbi mikročipiranja je potrebno podatke vnesti v spletno aplikacijo »Register označenih živali«, ki ga nadzoruje Ministrstvo za okolje in prostor, ARSO. Potrebni podatki, ki jih mora registrirani označevalec vnesti v bazo, so natančneje opisani v literaturnih podatkih (poglavje 2.4.1). V obrazcu je neobvezno polje, v katerega označevalec lahko vpiše specifične lastnosti osebka in priloži slike, po katerih se posamezno žival nedvomno spozna. Prav tako so neobvezna polja tudi telesna masa, velikost in starost živali. V nadaljevanju prikazujemo nekaj takih primerov slik (Slika 43 in 44).



Slika 43: Grške želve: albino primerek – zgornja leva slika; specifično obarvan karapaks – zgornja desna slika; drugačna razporeditev ploščic na karapaksu – spodaj levo; drugačna razporeditev ploščic na karapaksu in specifično obarvan karapaks – spodaj desno (Slika: A. Dovč, 2003; 2007; 2009).



Slika 44: Poškodbe karapaksa (Slika: A. Dovč, 2007).

5.3 GOJENJE ŽELV V UJETNIŠTVU

S pravilno zgrajenim bivalnim prostorom omogočimo živali nemoteno bivanje in preživetje, uspešno parjenje in valitev. Odredba o bivalnih razmerah in oskrbi živali prosto živečih vrst v ujetništvu (Ur. list RS 90/2001) določa normative za primer skupinskega ljubiteljskega zadrževanja osebkov mavrskih kornjač ali grških kornjač v ujetništvu.

Na farmski vzreji gojitelji jajca sproti pobirajo in jih vlagajo v valilnike. Pri pobiranju so izredno previdni, saj vsaka nepravilna ali groba manipulacija z jajci (natrta jajca, nepravilno obrnjena jajca s topim delom navzdol ali izsušena jajca) znižuje izvalilnost. Mladiči se izvalijo med 68 in 80 dnem inkubacije, ob upoštevanju temperature 30,5 do 31,5 °C in 75 do 80 % relativni vlagi (21).

V naših podnebnih razmerah se iz jajc, odloženih v naravo, mladiči ne izvalijo. Poznavanje naravnega načina valjenja pa je izredno pomemben v procesu vzreje in valjenja jajc v valilnikih. Na odstotek izvalitve v veliki meri vpliva način pobiranja jajc in njihova manipulacija. Pomembna je vsaka sprememba v legi jajca. Zaradi nepravilne lege lahko hitro nastopi staza krvnega žilja in posledičnega odmiranja zarodka. Pri preprečevanju distocije je pomembno tudi, da želve ne motimo pri valjenju, kar deloma otežuje označevanje posameznih legel.

McArthur in Barrows (25) navajata nekaj osnovnih priporočil: spodbujati je potrebno naravno hranjenje, kot je v divjini nabran plevel in trava. Pazljivost je potrebna tudi pri strupenih rastlinah. V izogib selektivnemu krmljenju je priporočeno ponuditi zmešano, že prehodno pripravljeno krmo. Primešajo se lahko tudi kalcij, jod, vitamin D_3 in vitamin A. Vedno se ponudi dnevno sveže pripravljena hrana. Priporočljivo je predhodno umivanje hrane, ker je velikokrat škropljena s pesticidi in limacidi. Avtorja odsvetujeta tudi krmljenje rabarbare zaradi visoke vsebnosti oksalne kisline.

Na farmi imajo želve na voljo travo, ki raste znotraj obor, dnevno dobivajo svežo sezonsko sadje in zelenjavo. Vitaminsko dopolnjujejo v času večjega stresa in kot podporno terapijo obolelim želvam.

Hrana, ki vsebuje veliko sladkorja, vzpodbudi rast bakterij, glivic in protozojev, zato mora biti uporaba sadja premišljena. V črevesju pride do pospešene peristaltike, ki vzpodbudi proliferacijo črevesnih zajedavcev, zlasti flagelatov, in tako pripelje do kolike. To se pogosto zgodi tudi po antibiotični terapiji (6). V izogib temu rejec ne poklada sladkega sadja, kot so recimo hruške in banane.

Med izvajanjem mikročipiranja smo želve v posameznih oborah tudi tehtali. V aktivni sezoni smo v mesecu aprilu izmerili najnižjo telesno maso samcev za razliko od samic, ki so najlažje v avgustu. Slednje je rezultat reprodukcijskega ciklusa, saj v mesecu juliju samice izlegajo jajca. Konec meseca septembra opažamo pri obeh spolih pridobivanje na telesni masi, ko postanejo jesenske vrednosti približno enakovredne spomladanskim.

5.4 MIKROČIPIRANJE NA FARMI

Živalim, ki so permanentno označene, lažje in zanesljiv način sledimo. Prvi načini označevanja so bili s pomočjo žigosanja, tetoviranja, barvanja, lepljenja kovinskih ploščic na robu oklepa (Slika 45). Na podlagi teh označb so sledili vedenjskim ali selitvenim vzorcem živali (4).



Slika 45: Prvoten način trajnega označevanja želv (Slika: A. Dovč, 2004).

V zgoraj opisanih primerih je pogosto prišlo do izgube ploščic ali razbarvanja označb, zato so znanstveniki razvili mikročipe. Danes je uporaba mikročipa s pomočjo injektorja najpogostejša tehnika za permanentno označevanje živali. Prednosti so, da je lahko berljiva, zelo obstojna in ima majhen odstotek izgube ali nefunkcionalnosti (4, 46). S tem je omogočena tudi možnost preverjanja in sledenja posamezne živali. Lahko tudi spremljamo selitve ob različnih obdobjih, sestavo populacije in drugo. Prednosti mikročipa so: nima negativnih vplivov na posameznikovo rast, reprodukcijo, dovzetnost za plenilce, hitrost gibanja (plavanje, letenje). Za branje številke mikročipa živali ni potrebno ujeti, saj imajo čitalci zadosten domet. Med negativnimi lastnostmi naj omenimo, da so omejitve glede velikosti živali, njeno zdravstveno stanje, obstaja možnost zavrnitve čipa kot tujka, čip po aplikaciji lahko migrira po telesu (4).

V naši raziskavi smo glede dometa čitalca ugotovili pomanjkljivost, saj sama razdalja od posamezne živali ne sme presegati razdalje 20 centimetrov, da zazna prisotnost mikročipa. Čitalci z daljšim dometom bi omogočili tudi iskanje slabotnih ali poginjenih želv v zemlji po končani hibernaciji, kar pa sedaj s trenutno dostopnimi čitalci ni možno (117).

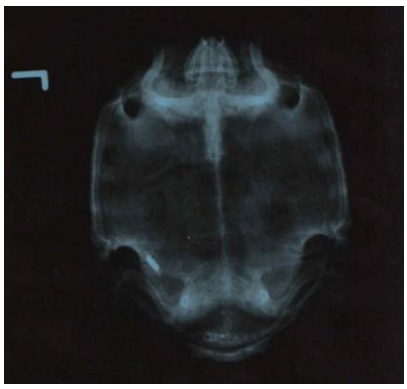
Kljub nekaterim pomanjkljivostim pomeni mikročipiranje velik napredek v identifikaciji živali, omogoča natančno, permanentno, notranjo označitev posameznika, identifikacijo posameznika v veliki skupini živali, preprosto evidenco, dokaz lastništva, večjo možnost vrnitve izgubljene želve lastniku, preprečevanje tatvin ter prodajo preko interneta (4).

Znanstveniki razvijajo vedno nove možnosti neagresivnega načina trajnega označevanja. Pri pticah na primer oftalmološko pregledujejo z ročno digitalno foto lučko (Dioptrix Hawk Eye^{TM}) anteriorni del očesa: korneo, filtracijski kot, iris in lečo. Ob dodatku posebnih leč je viden tudi posteriorni del očesa. Očesni fundus je za posameznika specifičen (122). To odpira v prihodnosti tudi možnost preproste identifikacije posameznika pri želvah. Prednost je v neinvazivnosti metode, ki pa je za enkrat še zelo draga. Sam poseg je tudi bolj zahteven in zahteva daljši čas, kar pa lahko predstavlja dodaten stres za živali. Pri želvah tovrstnih raziskav še niso izvedli.

V letu 2005 smo na farmi mikročipirali 140 grških kornjač matične reje, od tega 40 samcev in 100 samic. V letu 2006 smo mikročipirali 900 grških kornjač matične reje, od tega 170 samcev in 730 samic. V letu 2007 smo mikročipirali 4088 grških kornjač matične reje, od tega 903 samcev in 3185 samic. Skupaj smo mikročipirali 5128 grških kornjač matične reje, od tega 1113 samcev in 4015 samic.

Aplicirali smo v nadkolensko gubo v podkožje leve noge. Ugotovili smo, da je zelo pomemben način aplikacije mikročipa. Za najboljši način se nam je izkazal vbod igle v kranialni smeri, ki poteka vzporedno s stegnenico ob njenem ventralnem delu. Z aplikacijo pod večjim kotom glede na stegnenico, se poveča možnost poškodbe pokostnice, z iglo lahko poškodujemo mišico, zadenemo v žile in povzročimo večje krvavitve, obstaja tudi večja možnost poškodbe živcev. Če apliciramo preglobоko, to je proti celomski votlini, hitro zaidemo v votlino in celo v mehur. Pri tem je možnost migracije velika, želva lahko iz mehurja izloči mikročip iz telesa. prisotnost mikročipa najlažje dokažemo z RTG slikanjem. Poskusno smo pri manjši skupini želv takoj po mikročipiranju slikali želve, da bi potrdili pravilnost postopka. Z gotovostjo smo ugotovili le prisotnost mikročipa pri želvi (Slika 46). Prav tako smo pri patoanatomskih preiskavah ob rutinske pregledu opazovali tudi položaj mikročipa in eventuelne migracije (Slika 47).





Slika 46: Rentgeniziranje želv na terenu (Slika: M. Stvarnik, 2009; A. Dovč, 2007).



Slika 47: Lokacija mikročipa pri raztelesbi (Slika: M. Stvarnik, 2009).

Ob aplikaciji mikročipa smo opazili, da pri grški kot pri mavrski kornjači samci bolj krvavijo kot samice. Samci grških kornjač krvavijo v 1,13 odstotkih pogosteje kot samice, samci mavrskih kornjač pa v 1,44 odstotkih pogosteje kot samice. Temu je najverjetnejši vzrok, da so samci bolj nemirni, imajo močnejše noge, kažejo po naravi večjo borbenost. Primerjava krvavitev med vrstama kaže, da samci mavrske kornjače za 1,79 odstotkov bolj krvavijo od samcev mavrske kornjače. Pri samicah krvavijo mavrske kornjače za 1,48 odstotkov bolj od samic grške kornjače.

Vzroke pogostejših krvavitev pri samcih pripisujemo večji borbenosti in nemirnosti samcev ob sami aplikaciji, saj jih postavimo v neprimeren položaj – to je na hrbet, kar samcem ne ustreza in želijo nemudoma zavzeti drug položaj, kar nakazujejo z vztrajnim gibanjem in brcanjem vseh okončin in glave. Na pogostost krvavitev vpliva tudi vrsta želve, starost, letni čas oziroma trenutna temperatura v času mikročipiranja. Drugi vzrok za pogostejše krvavitve je tudi spolni dimorfizem, saj vemo, da so samci iste starosti občutno manjši kot samice.

Na Sliki 48 prikazujemo krvavite po aplikaciji in na Sliki 49 način ustavljanja krvavitev, ki se izvaja na farmi. S čisto papirnato brisačo ali tamponi se zapolni področje nadkolenske gube. Želva sama povleče nogo v oklep in si tako sama komprimira področje stegna. Krvavitve se ponavadi same ustavijo po nekaj minutah, uporabljene tampone kasneje poberemo po obori.



Slika 48: Krvavitve ob aplikaciji mikročipa (Slika: A. Dovč, 2005; 2007).



Slika 49: Zaustavljanje krvavitev (Slika: A. Dovč, 2005, 2007).

Benyr s sodelavci (123) je primerjal velikost mikročipov z dimenzijo humerusa in tibije, ki sta največji kosti noge ter so podobne tudi v trdnosti s povezavo aplikacije mikročipa. Humerus in tibija sta približno enake dolžine in preseka kot mikročip 12 mm x 2 mm za posameznike, katerih dolžina plastrona je 60 mm. Posledično lahko takšen vsadek prizadene nezrelo želvo takšne velikosti. Pri odrasli živali meri takšen mikročip približno 21 do 40 odstotkov dolžine in 27 do 60 odstotkov širine humerusa in tibije. Velika verjetnost je, da bo takšen vsadek imel škodljiv vpliv na dobrobit celo odrasle želve.

V Pravilniku o označevanju živali prosto živečih vrst v ujetništvu (47) je zapisana spodnja dovoljena meja, kjer je še dovoljeno mikročipiranje želv 10 cm oziroma minimalna telesna masa želve mora biti vsaj 200 g.

Na podlagi naših izkušenj pri tej velikosti želv in večjih po aplikaciji nismo opazili težav s stegnenico ob aplikaciji v zadnjo levo nogo. Sama kost je ponavadi večja od mikročipa, največkrat se mikročip integrira v vezivu in ne moti gibljivosti okončine. Ob sekciji poginjene želve se lepo vidi inertnost mikročipa (Slika 47).

Buhlmann in Tuberville (3) sta sedmim majhnim želvam rdečevratkam (*Trachemys scripta elegans*), dolžine plastrona 86 do 131 mm, aplicirali mikročipe na področju ingvinalne regije, na tri različna mesta: anteriorno in paralelno ob mostu oklepa, anteriorno in navpično proti hrbtenici, posteriorno in paralelno z robom karapaksa. Prišla sta do spoznanja, da ob pravilni aplikaciji mikročipa, male želve nimajo težav. Ne priporočata aplikacije novo izleglim želvam. Predvidevata, da mikročip ni migriral, verjetno je ostal ujet v celomične membrane in mezenterij (3).

V naši nalogi smo ugotovili, da pri živalih, ki so večje od 100 mm nismo imeli težav z aplikacijo mikročipa. Pri manjših živalih, velikosti 70 do 80 mm, ki so se občasno pojavile v skupini želv namenjenih prodaji, je aplikacija težja. Ob tem je verjetnost same aplikacije mikročipa v mehur ali trebušno votlino zelo velika. Tudi možnost krvavitev je večja, saj zaradi velikosti igle aplikatorja povzročimo večje lokalne poškodbe na mestu vboda.

Pri mikročipiranju je potrebno upoštevati tudi temperaturo zraka oziroma letni čas ter izpostavljenosti direktnemu soncu. Izvajanje mikročipiranja v sončnih poletnih dneh lahko privede do toplotnega udara. V začetku smo pred mikročipiranjem vse želve iz posamezne obore polovili v lesene hiške ali velike plastične posode (Slika 50 A do H). Tu so živali v gneči pogosto kazale znake stresa v obliki bele pene okoli ust.

Želve, ki padejo v šok, je težko rešiti, ker hitro kolabirajo. Pri posameznih želvah smo ugotavljali tudi poškodbe (Slika 50 E). V nadaljevanju smo zaradi tega spremenili način lovljenja (Slika 51). Želve smo lovili sproti. Po končani označitvi smo jih spustili v ograjen, senčen prostor znotraj obore. Pomembno je po končanem posegu želve postaviti v senco, tako da niso izpostavljene direktnemu soncu (Slika 52). Z ograjenim prostorom preprečimo tavanje. Opazili smo, da so po tovrstnem manipuliranju želve postale zmedene in so tavale brez orientacije, niso našle sence. To lahko pripelje do tavanja po soncu in šoka, ter končnega kolabiranja in pogina.



Slika 50: Sortiranje želv pred izvedbo mikročipiranja
(Slika: A. Dovč, 2006; 2007).



Slika 51: Pravilen način sortiranja želv pred izvedbo mikročipiranja
(Slika: A. Dovč, 2010).



Slika 52: Napeljane mreže prti vranam in proti sončni pripeki (Slika: A. Dovč, 2007).

Zgodaj spomladi, dva do tri tedne po končani hibernaciji, je mikročipiranje tvegano. Živali so v tem času imunsko občutljivejše, vsak stres lahko vodi do sekundarnih infekcij. Možni so zlomi stegnenic zaradi slabše oskrbljenosti želv s kalcijem in pomanjkanja sončnih žarkov v času hibernacije ter zmanjšanega metabolizma v tem obdobju.

V času valitvene sezone lahko stres vodi v moten proces valjenja in izleganja ter distocij pri samicah. V tem času je tudi večja možnost toplotnega udara in kolapsa, saj želve zaradi velike vročine ne moremo dolgo časa izpostavljati direktnim sončnim žarkom.

V času pred razmnoževalno sezono želv nismo označevali zaradi možnosti potenciranja distocij, kar je pogosto navedeno v literaturi. V nalogi nismo sistematično sledili pato-anatomskim spremembam, zato distocij nismo mogli dokazati. Zavedali smo se, da je označevanje velik stres, zato živali nismo izpostavljali.

Pri kontroli matične reje smo ugotovili, da z vsakim nadaljnjim letom narašča odstotek izgube mikročipov. Izjema so le samice, ki smo jih mikročipirali leta 2005. Pri njih je odstotek v tem letu nižji kot naslednja leta, kjer potem zopet linearno pada. Razlog za to si razlagamo, da smo v naslednjih letih mikročipirali veliko število želv, tudi v obdobju aktivne sezone valjenja, ko so bile želve bolj izpostavljene stresu, še posebno samice.

Želve, ki so bile namenjene za prodajo so nam služile za primerjavo z matično rejo za naslednje parametre: starost oziroma velikost želv, spol, pogoji mikročipiranja (predhodno lovljenje in priprava želv na mikročipiranje, temperatura okolice). Rezultati mikročipiranja pri skupini želv, ki smo jih mikročipirali za prodajo, so bili bolj ugodni. Možen razlog za boljše rezultate lahko pripisujemo tudi dejstvu, da smo pričeli mikročipirati v letu 2005, sčasoma smo pridobili znanje in ugotovili najprimernejše tehnike izvedbe mikročipiranja. Posledično so verjetno dobri rezultati vidni pri mikročipiranju mavrskih želv, namenjenih za prodajo. Pri mikročipiranju 176 kornjač nismo namreč ugotovili niti ene krvavitve. Želve za prodajo so bile mlajše kot želve v matični reji, iz tega razloga so bile tudi lažje in manjše, kljub temu pa smo ugotovili manjši odstotek krvavitev. Pri tem lahko sklepamo, da ima velik vpliv na krvavitev stres živali oziroma predhodno vznemirjanje želv med lovljenjem pred samim mikročipiranjem, ki smo ga izvajali samo pri matičnih skupinah želv. Prav tako so bili pogoji v notranjih prostorih, kjer smo mikročipirali želve za prodajo, veliko bolj konstantni, brez sončne pripeke in drugih stresnih dejavnikov.

5.4.1 Pregled zdravstvenega stanja grških in mavrskih kornjač

Ob mikročipiranju obore oktobra 2007 smo ob kliničnem pregledu ugotovili, da imajo želve slab mišični tonus, prav tako pa smo ugotavljali, da so lažje, kot bi pričakovali glede na velikost in obdobje (poletje), ko so želve na višku svoje aktivnosti. Mikročipiranja pri tej skupini nismo izvedli. Od 758 živali je 9 želv poginilo (1,19 %). Rezultati laboratorijskih preiskav so bili pozitivni na *Pseudomonas* sp. in *Salmonella enterica* subsp. enterica (81, 89). Celotno oboro smo lahko sistemsko zdravili šele spomladi, saj so se takrat skoraj vse želve v nekaj dneh zakopale v zemljo. Na farmi so v tem obdobju potrdili tudi infekcijo z mikoplazmami (89).

Takoj po koncu valilne sezone smo med mikročipiranjem grških in mavrskih kornjač ugotavljali pri samicah vnetja kloake. Ugotovili smo, da so bila vnetja pri samicah mavrske kornjače pogostejša (1,94 %) kot pri samicah grške kornjače (0,63 %). Točnega razloga pojavnostjo nismo našli. Verjetno je razlog v samem času mikročipiranja; to je da smo večino mavrskih kornjač mikročipirali v poletnem času, medtem ko smo grške kornjače mikročipirali tudi spomladi in jeseni. Sama skupina mikročipiranih živali je manjša in lahko sama pojavnost slučajna. Nadalje smo ugotovili tudi, da vneta kloaka nima vpliva na uspešnost mikročipiranja in obratno, da se zaradi mikročipiranja ne povečuje odstotek vnetij, ki bi bil lahko posledica dodatnega stresa. V obdobju po valjenju lahko nemoteno mikročipiramo samce in samice.

Koža ima pomembno vlogo pri izgubi tekočin. Koža pri želvah je manj elastična in s tem so povezane različne možne posledice (izguba čipa, slabo celjenje mesta vstavitve mikročipa, okužbe mesta vstavitve mikročipa, miaze) (50).

Znano je, da se pojavijo abscesi pri želvah po aplikaciji multivitaminskih raztopin. To je najverjetneje posledica dražečih sestavin preparatov ter premajhna pozornost higiene mesta aplikacije. Tudi ob nezadostni sterilnosti mesta aplikacije mikročipa je lahko vzrok abscesa. Težava se pojavi zaradi neelastičnosti zunanjih slojev kože plazilcev. Iz tega razloga ostane mesto aplikacije odprto po odstranitvi igle, s tem je tudi večja možnost okužbe in izgube čipa (50).

Redrobe in sod (51) navajajo, da mora biti mesto aplikacije tik pred izvajanjem razkuženo. Po vsaditvi mikročipa sledi lepljenje s tkivnim lepilom. Ob pojavu krvavitve na mesto krvavitve izvedejo pritisk in jim nudijo tekočinsko terapijo. Priporočajo je 24-urno opazovanje živali.

V naši raziskavi smo le v posameznih primerih mesto aplikacije očistili oziroma po potrebi tudi razkužili, večinoma je bilo področje v stegneničnem predelu oziroma nadkolenska guba, kjer apliciramo mikročip, čista. Čeprav so priporočila različna, smo se odločili za podkožno aplikacijo mikročipa, ker je pri označevanju tako velike skupine živali težko nadzorovati krvavitve, ki lahko nastanejo ob aplikaciji mikročipa v mišice.

Na Sliki 53 (A do D) prikazujemo primere mikročipiranja želv v deževnem obdobju. V tem času bi pričakovali številne sekundarne infekcije na mestu vboda, ki pa jih v praksi nismo beležili, vsaj ne v povečanem odstotku. Delo je vsekakor bolj težavno in naporno. Na Sliki 53 (Č in D) lahko nazorno vidimo, da je področje nadkolenske gube relativno čisto tudi takrat, ko so po drugih delih oklepa in po nogah umazane. Ob uporabi razkužila stanja ne bi izboljšali, ker bi področje samo zmočili in bi umazanja skupaj z razkužilom zalila rano. V kolikor želvo umijemo v celoti in potem še razkužimo področje aplikacije (po načelih dobre strokovne prakse), kar v praksi pri tako velikem številu želv tako ali tako ni mogoče, ne naredimo dosti, saj se želva takoj ko jo spustimo nazaj v oboro zakoplje v blatno zemljo, kar povečuje možnost okužbe preko poškodovane kože na mestu vboda.



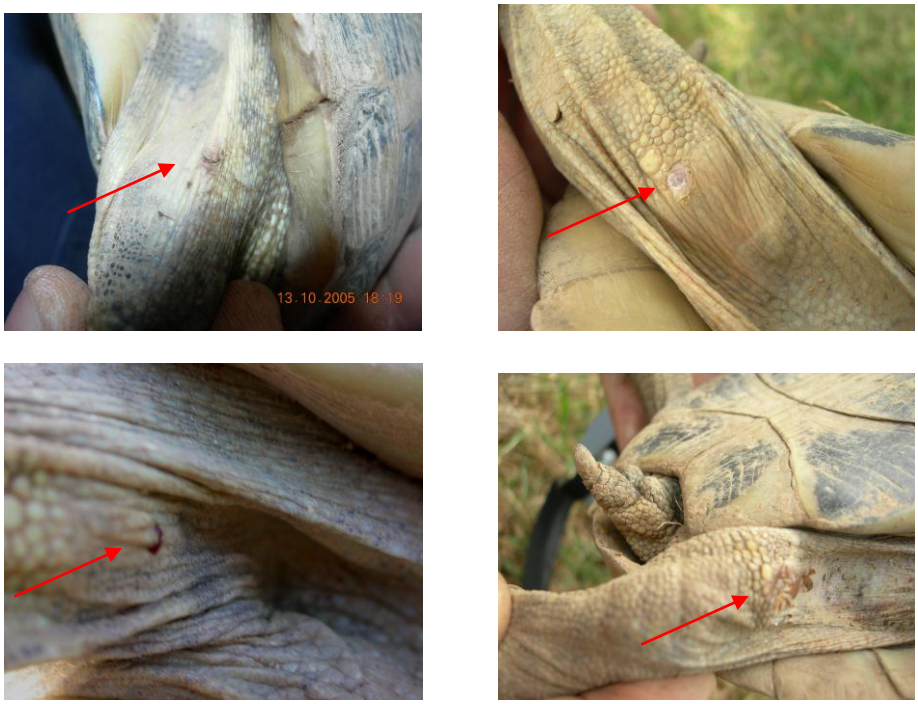
Slika 53: Mikročipiranje v deževnem obdobju (Slika: A. Dovč, 2006; 2007).

Spomladi, aprila 2006, smo ob mikročipiranju imeli tri zlome stegnenice, na kar smo prenehali z označevanjem. Privedlo nas je do ugotovitve, da so po hibernaciji kosti krhke zaradi nizke vsebnosti kalcija v krvi in nizkega bazalnega metabolizma. Ugotovili smo, kako pomemben je pravilni pristop k rokovanju z želvami ob izvajanju mikročipiranja. Teoretično je mogoče, da posameznik sam opravi mikročipiranje. Praktično je veliko primerneje in priporočljivejše, da imamo pomočnika iz več razlogov. Namreč pomočnik s pravilnim prijemom želvo fiksira in nežno iztegne levo nogo. S tem preprečimo možnost zloma in zmanjšamo stresno situacijo. Želve se na rokovanje z njimi odzovejo s potegom nog pod oklep in močnim brcanjem. Omenjeni problemi so bili tudi razlog za nadaljnje biokemične raziskave vsebnosti kalcija in anorganskega fosfata pri izbrani skupini želv.

Na osnovi dobljenih rezultatov ugotavljamo, da je najugodnejši čas mikročipiranja v mesecu maju in septembru, ker takrat ni bilo zlomov kosti. Takoj po hibernaciji odsvetujemo mikročipiranje zaradi možnosti zlomov stegnenice, prav tako je manj primerno, predvsem pa zelo naporno mikročipiranje v deževnem in hladnejšem obdobju. Zaradi možnosti distocij pri samicah odsvetujemo mikročipiranje v času pred valjenjem in med samim valjenjem. Direktne povezave med mikročipiranjem in distocijami nismo dokazali, vsekakor pa je to obdobje za želve stresno, v tem obdobju tudi potrebujejo mir za uspešno valjenje.

Že nekaj minut po aplikaciji mikročipa je pri večini želv težko opaziti mesto vboda igle aplikatorja. Mnenja smo, da ni potrebno lepiti kožo s posebnim lepilom na mestu aplikacije, kot ga opisujejo nekateri tudi avtorji (50).

V posameznih primerih je bilo nekaj dni po aplikaciji vidno vbodno mesto, včasih tudi rahla oteklina, ki je sčasoma izzvenela (Slika 54). V poletnih mesecih smo na slabo zaceljenih ranah občasno videli tudi miazo (Slika 55).



Slika 54: Zapleti ob celjenju rane po aplikaciji mikročipa (Slika: A. Dovč, 2005; 2006).



Slika 55: Miaza neočiščena (levo) in očiščena rana (desno) (Slika: A. Dovč, 2006).

Po vsaki aplikaciji mikročipa smo s čitalcem preverili prisotnost in berljivost mikročipa, šele nato smo želvo izpustili. V matični skupini želv smo uspešnost mikročipiranja preverjali naslednjo sezono. Po enem letu ponovnega testiranja smo ugotovili izgube, ki jih opisujemo v nadaljevanju. Zanimivo je, da so nam kupci želv, ki so bile namenjene prodaji, sporočili po nekaj dneh od nakupa, da posamezne želve niso imele mikročipov, čeprav smo jih preverjali s čitalcem takoj po aplikaciji. Razloga ne vemo, prav tako nismo mogli potrditi resničnosti podatkov. Šlo je le za nekaj prijav v vseh letih.

V prvem letu sta mikročip izgubila en samec (3,03 odstotke) in ena samica (1,00 odstotke), skupaj 1,50 odstotka. V letu 2006 sta mikročip izgubila dva samca (6,06 odstotkov) in nobena samica. V letu 2007 je izgubil le en samec (3,03-odstotna izguba). V letu 2008 je mikročip izgubil en samec (3,03 odstotna izguba) in v letu 2009 ena samica (1,00-odstotna izguba). V letu 2010 je mikročip izgubil en samec (0,75-odstotna izguba). V šestih letih je mikročip od triintridesetih samcev izgubilo šest (18,18 odstotkov), od sto samic pa le dve (2,00-odstotka). Od skupine 133 želv jih je mikročip izgubilo osem (6,02 odstotka). Dejstvo je, da smo vsako leto ugotovili nekaj več neoznačenih želv, vendar ne vemo kdaj natančno so mikročip izgubile. Migracije nismo mogli ugotoviti, ker so želve majhne, čitalec pa mikročip zazna tudi na bližnji migrirani lokaciji.

Možni vzroki izločanja mikročipa so lahko tudi abscesi, ki smo jih sledili le v posameznih primerih. V enem primeru smo ob sekciji opazili migracijo mikročipa po rebrnem loku in izločitev v vratnem predelu karapaksa in v drugem primeru je mikročip migriral v tkivo pod plastronom v bližino sečnega mehurja.

Za izvajanje mikročipiranja je pomembna tudi razlika med vrstama. Mavrske kornjače so občutljive na zunanjo temperaturo. Opazili smo, da pri nižjih temperaturah (pod 12 °C) noge potegnejo pod oklep in je s tem onemogočena aplikacija mikročipa. Pri 1,2 odstotkih mavrskih kornjač smo, ko živali niso iztegnile noge, aplicirali v podkožje baze repa, in sicer vzporedno z kavdalnim robom plastrona. Ta podatek smo vnesli tudi v bazo podatkov. Pri teh želvah nismo opazili razlik zaradi drugačnega načina aplikacije.

Pri delu z želvami smo opazili spremembe na oklepu, ki pa so bile površinske, ali na mestu, kjer želve ne motijo. Izjema so poškodbe, ki so posledica košenja in poškodbe, ki jih povzročajo vrane. Takšne želve je potreba odstraniti iz obore, primerno zdraviti in zaščititi poškodovan oklep. Želve na farmi živijo na prostem v ogradah, zato so lahek plen ptic. Pri nekaj želvah smo opazili poškodovane karapaksa. Namreč, sive vrane kljuvajo oklep želve, dokler tega ne prebijejo in se tako dokopljejo do mehkih delov znotraj votline (Slika 56). Dostop pticam smo preprečili z mrežami.



Slika 56: Poškodba karapaksa kot posledica kljuvanja vrane (Slika: A. Dovč, 2007).



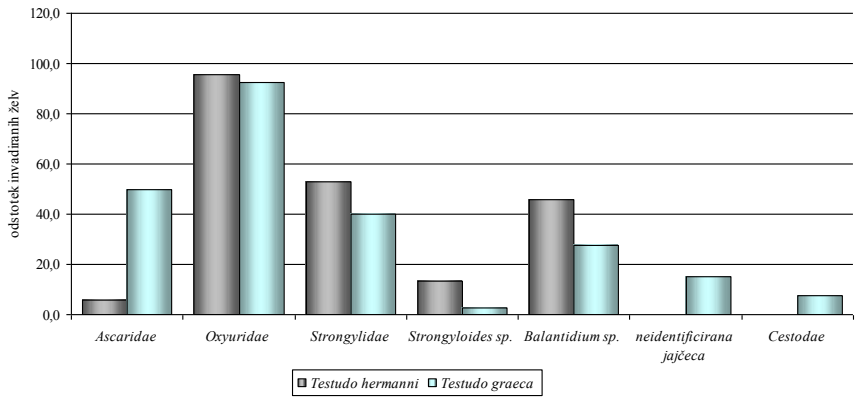
Slika 57: Leto dni po poškodbi – napad vrane (Slika: A. Dovč, 2006).

Na Sliki 57 je prikazana uspešna sanacija rane. Poškodba je prekrita s ploščico iz karapaksa druge vrste želve (*Geochelone elegans*). Poškodba desne polovice zadnjega dela karapaksa je stara poškodba, verjetno posledica opeklin (požari v naravnem okolju). Ta želva je izvirala iz matične skupine, pripeljane iz Makedonije (F_1 generacija).

Na področju Balkanskega polotoka so prisotne štiri vrste klopov iz skupine Ixodes. Pri genu *Testudo* je najpogostejši *Hyaloma aegyptum*, *Haemaphysalis sulcata* je bil najden pri grški in mavrski kornjači v Bolgariji, *Haemaphysalis inermis* je bil najden pri grški kornjači v Bolgariji in *Rhipicephalus sanguineus* je bil najden pri širokorobi kornjači v Grčiji (105).

Tudi na farmi smo našli klopa *Hyaloma aegyptum*, ki se najpogosteje nahaja na mehkih delih kože v tarzalnem in femoralnem področju. Pogosto smo našli le po en do dva osebka na posamezni želvi.

Na farmi so v letu 2003 s pomočjo parazitoloških preiskav pregledali iztrebke 10 odstotkov populacije. Pri grški želvi so našli oksiuride v 95,6 odstotkih, askaride v 5,9 odstotkih, strongilide v 52,9 odstotkih, strongiloide 13,2 odstotkih in *Balantidium* sp. v 45,6 odstotkih. Pri mavrski želvi so našli oksiuride v 92,5 odstotkih, askaride v 50,0 odstotkih, strongilide v 40,0 odstotkih, strongiolide 2,5 odstotkih in *Balantidium sp.* v 27,5 odstotkih. Med obema vrstama so ugotovili od enega do pet različnih vrst zajedavcev (Grafikon 17, Slika 58) (81, 111).



Grafikon 17: Prisotnost parazitov na farmi v letu 2002 (81, 111).



Slika 58: Invazija z oksiuridi (Slika: A. Dovč, 2006).

5.4.1.1 Tehnični in tehnološki problemi mikročipiranja

Ob samem mikročipiranju smo naleteli tudi na težave s samimi aplikatorji mikročipov. Odkrili smo štiri zvite aplikativne plastične dele, en zlepljen mikročip (ki je razpadel), en neberljiv mikročip. Pri aplikaciji skupaj 8900 mikročipov je bilo tovrstnih napak šest, kar znaša 0,067 % in je statistično zamerljivo. Poudariti je potrebno, da smo te napake opazili le pri eni seriji mikročipov, kar kaže na težave pri izdelavi aplikatorjev v okviru tovarne in nima neposredne povezave z izvedbo označevanja.

Tehnološki problemi in napake so zanemarljivi, vendar naj omenimo, da so nove oblike aplikatorjev, ki so v uporabi od leta 2010, samo za enkratno uporabo. V teh primerih mikročipa ne moremo ponovno ustaviti v želvo brez rezervnega aplikatorja, ki pa jih večina označevalcev nima. To pomeni, da nam mikročip ne sme izpasti oziroma da ne smemo prebosti kože in aplicirati mikročip kot je prikazano na Sliki 59.



Slika 59: Izpad mikročipa zaradi nepravilne aplikacije (Slika: A. Dovč, 2005).

Razmeroma redko, v osmih primerih, smo ugotavljali tudi mikročipe, ki so bili »zamaščeni« in so ob nepozornosti ostali v delu, ki varuje konico igle.

5.5 PROUČEVANJE MIKROČIPIRANJA IN BIOKEMIJSKIH PARAMETROV PRI IZBRANI SKUPINI ŽELV

Izguba telesne mase na začetku aktivne sezone pri samcih in samicah je verjetno posledica večje aktivnosti želv, ki svoje potrebe še niso uspele prilagoditi z zadostnemu uživanju hrane – nesorazmerje med aktivnostjo in metabolizmom. Prav tako smo ugotovili, da so samice dlje časa izgubljale na telesni masi in tako počasneje pridobivale na telesni masi v primerjavi s samci. Potrebno bi bilo pogostejše tehtanje, s katerim bi izključili vpliv nesenja in izleganja jajc pri samicah.

Biokemijski krvni parametri so pomemben podatek pri oceni zdravja in kliničnega statusa plazilcev, zlasti želv. Veliko notranjih in zunanjih faktorjev vpliva na vrednosti biokemijskih krvnih parametrov. Notranji so vrsta, spol, starost in fiziološki status. Zunanji faktorji pa so sezona, temperatura, okolje, prehrana, ujetništvo in drugi, kot je na primer označevanje živali. Tudi mesto in metoda jemanja krvnih vzorcev so lahko zunanji dejavniki, ki lahko vplivajo na vrednosti krvnih parametrov (124).

Celotna količina krvi pri plazilcih je ocenjena na pet do osem odstotkov telesne mase. V literaturi je priporočeni največji volumen krvnega vzorca pri želvah 3ml/kg telesne mase (58). V naši nalogi smo odvzeli po 0,5 ml krvi na želvo.

Obstajajo razlike med jemanjem krvi pri želvah od jemanja pri sesalcih in pticah. Pri kopenskih želvah žile ni mogoče lokalizirati niti vidno niti s tipanjem preko kože. Ustaljena praksa jemanja vzorcev krvi pri plazilcih in tudi želvah je repna vena iz katere smo jemali tudi mi. Na začetku mikročipiranja smo ob krvavitvah pomislili, da bi bila tudi to lahko možnost odvzema krvi. S proučevanjem anatomije zadnje noge, smo želeli najti alternativno mesto odvzema krvi. Ob sekciji zadnjih nog smo prišli do zaključka, da je področje prepleteno z živčevjem. Glede na nemirnost želv smo zaključili tudi, da je odvzem otežen oziroma je možnost poškodb (zlomi, poškodba živcev) zelo velika. Iz naštetih težav smo opustili odvzem iz zadnje noge.

V letu 2008 smo sledili vrednostim kalcija in anorganskega fosfata v krvi ter razmerje teh dveh biokemijskih parametrov pri dvaintridesetih grških želvah iz naključno izbrane skupine. Omeniti je potrebno, da nismo jemali vzorcev v času sezone razmnoževanja, ker smo želve želeli izogniti stresu in možnih posledic kot je recimo distocija.

Kri smo jemali iz kavdalne repne vene na podlagi izkušenj več avtorjev. Na dorzalni bazi repa smo prebodli kožo pod kotom 60 do 70° kranio-dorzalno proti repnemu delu hrbtenice. V primeru stika igle z vretencem pred vstopom krvi smo počasi izvlekli brizgo nazaj in spremeniti smer vboda, dokler ni pritekla kri v brizgo. Nekajkrat smo pri odvzemu krvi opazili svetlo, transparentno tekočino, tik preden je pritekla kri. Pri kopenskih želvah se limfatične žile pogosto nahajajo ob krvnih žilah; pogosto se zmešajo kri in limfa pri punkturi perifernih žil (50). Limfa zgleda kot transparentna tekočina, ki vstopa v brizgo, tik preden se prikaže kri. Če se je to zgodilo, smo brizgo odstraniti in ponovno vzeli vzorec.

Pri odvzemu krvi smo ugotovili, da je jemanje krvi veliko lažje pri samcih kot pri samicah. Samci imajo občutno večji in daljši rep kot samice. Pri grški želvi je to še bolj prepričljivo. Kljub večji agresivnosti samcev je odvzem lažji, saj se pri odvzemu krvi ne obračajo vznak kot pri mikročipiranju. Edini problem odvzema krvi na terenu lahko predstavlja velikost želve in pogoji v okolju: nizke temperature okolice in dež.

Postopek jemanja krvi je bil pri vseh odvzemih enak: odvzem vzorca v isto vrsto epruvet, v lepem in suhem vremenu v popoldanskem času. Po centrifugiranju istega dne so v naslednjih 48 urah opravili biokemijske analize v skladu s standardnimi postopki. Ob analizi krvi smo ugotovili, da vrednost kalcija v krvi najbolj naraste pri obeh spolih konec meseca maja. Ne moremo z gotovostjo trditi, da je to najvišja vrednost kalcija v aktivni sezoni. Naslednji vzorec krvi smo odvzeli (šele) v mesecu juliju, kjer je viden rahel padec vrednosti kalcija. Takrat je sezona izleganja jajc zaključena, v tem obdobju se posledično spremenijo tudi fiziološke vrednosti biokemijskih parametrov. Podoben trend naraščanja in padanja je viden pri anorganskem fosfatu, le razlika med spoloma je manj očitna.

Ob proučevanju vzrokov za dvig parametrov smo raziskovali različne možnosti. Nivo kalcija v plazmi in krvi je uravnavan s pomočjo paratireoidnega hormona, kalcitonina in vitamina D. Beljakovine, kalcij in magnezij v krvi se pri samicah povišajo zaradi nesenja jajc. Krvni kalcij se pri samicah opazno poviša (2 do 4-krat) zaradi aktivne geneze foliklov. Zvišan nivo estrogena sproži mobilizaciji kalcija iz kosti. Povišan nivo fosforja je posledica napak v prehrani, hipervitaminozi D in ledvičnim boleznim (125). Hiperfosfatemija lahko kaže tudi na hemolizo vzorca (58), vendar smo v našem primeru opazili hemolizo v treh posamičnih vzorcih. Upoštevati je potrebno tudi vpliv mesta odvzema krvi. Pri želvah so bile dokazane velike razlike v vrednostih kalcija, fosforja, celotnih beljakovin, sečne kisline, številu rdečih krvničk, hematokrita, hemoglobina AST, ALT, LDH, ALP. Krvne vrednosti vzorcev iz repne vene so signifikantno nižje v primerjavi z vrednostmi vzorcev odvzetih iz brahialne vene. Hemodilucija v vzorcih iz repne vene je posledica prisotnosti limfe (126).

V literaturi največkrat vidimo referenčne vrednosti v obliki mediane in razpona dobljenih vrednosti. Redko so navedene reference odvzema po mesecih. V našem primeru smo (za *Testudo hermanni*) za kalcij izmerili vrednosti 2,64 (0,59-4,88) mmol/L in za anorganski fosfat 0,95 (0,15-5,62) mmol/L (vključeni so vsi posamezni rezultati vzorcev krvi). V literaturi je vrednost za kalcij 3,57 (2,22-4,79) mmol/L oziroma razpon le tega 1,09-1,4 mmol/L, in vrednost anorganskega fosfata 0,72 (0,01-1,17) oziroma razpon le tega 1,7-3,3 mmol/L (58, 59). Zlasti je opazna višja vrednost mediane pri obeh parametrih. V našem primeru smo vzorčili v štirih različnih obdobjih znotraj aktivne sezone. Zato menimo, da je potrebno za primerjavo jemati vzorce v podobnih časovnih obdobjih. Očitna je modulacija metabolizma praktično v vsakem mesecu aktivnega obdobja. Zanimiva bi bila primerjava vrednosti v posameznih mesecih in razlika le teh glede na spol. Upoštevati je potrebno tudi mesto odvzema krvi. Vsekakor je prisoten tudi vpliv okolja, vremena in prehrane, kar se razlikuje v posameznih letih.

Kot posledica sezonskega oblikovanja jajc, folikulogeneze, je pri samicah viden dvig krvnih vrednosti proteinov, kalcija in magnezija. V literaturi (52, 125) največkrat za dvige navajajo različne bolezni. Živali znotraj obore niso kazale klinično vidnih težav.

V našem primeru opažamo porast pri obeh spolih in parametrih. Pri proučevanju načina krmljenja, smo prišli do naslednjih zaključkov.

Želve živijo skozi vse leto v isti obori. Po pogovoru z rejcem smo izvedeli, da ne dodaja mineralno vitaminskih dodatkov in da travinje znotraj obor ne dognojuje. Iz tega sklepamo, da je vzrok izredno visokega nivoja kalcija in anorganskega fosfata pri obeh spolih v takratni sestavi obroka. Gojitelj v aktivni sezoni poklada dodatno tudi različno sadje, zelenjavo in travinje (Slika 60).

Mlade rastline imajo drugačno sestavo kot stare. Količina cvetočih rastlin se spreminja. Želve, ki uživajo travinje, bogate z mikroelementi, imajo povečano koncentracijo le-teh tudi v krvi. Analiza trave v mesecu avgustu sicer ne kaže nobenega odstopanja, zanimivo pa bi bilo proučevati nihanje nivoja različnih mikro in makroelementov in vpliv teh na krvne vrednosti skozi leto.

Sklepamo lahko, kako močan vpliv ima sestava prehrane posredno tudi na zgradbo kosti, še posebej pri mladih želvah. Zlom dolgih kosti so največkrat posledica poškodbe ali pa metabolne bolezni kosti. Večina zlomov se zgodi ob relativno majhni udarni sili. Zdravljenje je dolgotrajno; ponavadi traja 6 do 18 mesecev. Patološki zlomi, ki se pojavijo zaradi metabolne bolezni kosti, se celijo hitreje; v 6 do 8 tednih ob zdravljeni hipokalcemiji in dodanem kalcitoninu (127). Spomladi, takoj po hibernaciji, so kosti krhke. Na farmi smo zgodaj spomladi, kot smo že navajali prej, ugotavljali zlome stegnenic že ob rokovanju z želvo.

Na trgu obstajajo gnojila za dognojevanje travinja. Primerna gnojila so na primer fosfatna gnojila, ki vsebujejo natrijeve in kalcijeve soli fosforjeve kisline. Slednje bi lahko posredno vplivale na dvig biokemijskih krvnih parametrov. Na farmi gojitelj dognojuje v jesenskem obdobju, ko želve nastopijo hibernacijo. Spomladi novorasle rastline, ki pomenijo za želve prvo hrano, tako vsebujejo tudi vse elemente, ki so v zemlji. Občasno dognojuje tudi spomladi. Gnojila v obliki granul, ki se niso raztopila v celoti, se v določeni meri zadržujejo tudi na površini. Obstaja možnost direktnega zaužitja takih granul. Po zagotovilih gojitelja v letu 2008 ni dognojeval, tako da si ne moremo razložiti porasta anorganskega fosfata v mesecu maju. v tako nismo prišli do podatkov, kaj so v tistem obdobju želve dobivale kot dodaten obrok. Ali so bili dodani mineralno-vitaminski dodatki v hrano?

Vsekakor bi bilo smotrno še pogosteje jemati kri referenčni skupini želv skozi celotno aktivno sezono. Ob tem bi spoznali dejanski trend padanja in naraščanja vrednosti kalcija in anorganskega fosfata. Z novimi podatki bi lahko poglobili zanje o metabolizmu mineralov, predvsem kalcija in anorganskega fosfata, distribuciji omenjenih mineralov pri želvah, kakor tudi znanje o tem, kako želve izkoriščajo omenjene elemente iz rastlin.



Slika 60: Tudi pokošena trava iz travnika je lahko primeren obrok za želve (Slika: A. Dovč, 2006).

6 ZAKLJUČKI

V času izvajanja naloge, od pomladi 2005, ko smo prvič mikročipirali želve v Sloveniji v tako velikem številu, pa do pomladi 2010, lahko na kratko strnemo nekaj ugotovitev pomembnih pri označevanju neharmoniziranih vrst živali kamor sodijo plazilci in med njimi so tudi želve. Izkušnje so pomembne za delo v praksi.

Po šestih letih dela lahko postavimo naslednje zaključke in ugotovitve:

1. Najugodnejši čas mikročipiranja je v mesecu maju in septembru:

   Zgodaj spomladi, dva do tri tedne po končani hibernaciji, je mikročipiranje tvegano. Živali so v tem času imunsko občutljivejše, vsak stres lahko vodi do sekundarnih infekcij. Možni so zlomi stegnenic zaradi slabše oskrbljenosti želv s kalcijem in pomanjkanja sončnih žarkov v času hibernacije ter zmanjšanega metabolizma v tem obdobju.

   V času valitvene sezone, v juniju in avgustu, lahko stres vodi v moten proces valjenja in izleganja ter distocij pri samicah. V tem času je tudi večja možnost toplotnega udara in kolapsa, saj želve zaradi velike vročine ne moremo dolgo časa izpostavljati direktnim sončnim žarkom.

2. Najprimernejša tehnika mikročipiranja je aplikacija mikročipa v podkožje vzporedno s stegnenico.

3. Mavrske kornjače so zahtevnejše za mikročipiranje kot grške kornjače.

   Opazili smo, da mavrske kornjače pri nižjih temperaturah (pod 12 °C) noge potegnejo pod oklep in je s tem onemogočena aplikacija mikročipa. Nekaj mavrskih kornjač smo, ko živali niso iztegnile noge, aplicirali v podkožje baze repa.

4. Migracija mikročipa se redko pojavlja.

   Migracijo smo opazili le v primeru mavrske kornjače, kjer je mikročip migriral po celi dolžini reber do sprednje okončine, kjer se je izločil.

5. Prisotnost mikročipa je potrebno konstantno slediti.

   Ugotovili smo, da z vsakim nadaljnjim letom narašča odstotek izgube mikročipov, kar pomeni, da lahko mikročip izpade tudi po več letih.

6. Samci po aplikaciji mikročipa bolj krvavijo kot samice.

   Vzroke pripisujemo večji nemirnosti samcev ob sami aplikaciji, saj jih postavimo v neprimeren položaj – to je na hrbet, kar samcem ne ustreza in želijo nemudoma zavzeti drug položaj, kar nakazujejo z vztrajnim gibanjem in brcanjem vseh okončin in glave.

7. Vzrok za pogostejše krvavitve je tudi spolni dimorfizem, saj vemo, da so samci iste starosti občutno manjši kot samice.

8. Na pogostost krvavitev vpliva tudi vrsta želve, starost, letni čas oziroma trenutna temperatura v času mikročipiranja.

9. Pri odvzemu krvi smo ugotovili, da je jemanje krvi veliko lažje pri samcih kot pri samicah

   Vzrok je preprost. Samci imajo občutno večji in daljši rep kot samice. Pri grški želvi je to še bolj prepričljivo. Kljub večji agresivnosti samcev je odvzem lažji saj se jih pri odvzemu krvi ne obrača vznak kot pri mikročipiranju. Edini problem lahko predstavljajo majhna želva, nizke temperature okolice in dež.

10. Nov pristop k odvzemu krvi – iz področja na zadnji nogi, smo opustili zaradi neugodne lege žil (dobra oživčenost predela in potencialni zapleti poškodb živcev).

7 POVZETEK

V pomladanskih in poletnih mesecih 2005, 2006, 2007 in 2008 smo mikročipirali 7633 želv matične reje in 1267 želv, ki so bile namenjene prodaji. Skupaj smo mikročipirali 8900 želv. Za ciljno skupino smo izbrali grško in mavrsko kornjačo.

V nalogi smo pri aplikaciji 8900 mikročipov, bilo je šest tehnoloških napak, kar predstavlja 0,067 % napak. Razmeroma redko, v 8 primerih, smo ugotavljali tudi mikročipe, ki so ostali zalepljeni v plastičnem pokrovu igle injektorja.

Samci grške in mavrske kornjače matične reje ob aplikaciji mikročipa bolj krvaveli kot samice. Pri grški kornjači so samci krvaveli po aplikaciji v 2,56 odstotkih, pri mavrski kornjači pa v 4,35 odstotkih. Primerjava krvavitev med vrstama kaže, da so samci mavrske kornjače bolj krvaveli kot samci grške kornjače; v povprečju kar za 1,79 odstotka bolj pogosto. Samice mavrske kornjače so krvavele v 1,48 odstotka bolj pogosto kot samice grške kornjače.

Pri mikročipiranju želv za prodajo je bilo krvavitev znatno manj, kljub temu da so bile želve običajno manjše. Pri grški kornjači so samci pri aplikaciji bolj krvaveli kot samice. Pri mavrskih kornjačah nismo zaznali vidnih krvavitev pri aplikaciji.

Samci so najbolj krvaveli v začetku avgusta, to je v 10,29 odstotkih. Največja pojavnost krvavitev pri samicah pa je bila zaznavna takoj po izleganju jajc, to je v 3,35 odstotkih. Ponovno je prišlo do povečanega odstotka krvavitev v oktobru, ko so se nekatere želve že pripravljale na hibernacijo in so se zakopavale v podlago.

V kontrolnem pregledu v letu 2010 smo zajeli 5128 želv matične reje vrste *Testudo hermanni*, ki smo jih mikročipirali v preteklih letih. Ugotovili smo, da je 235 živali brez mikročipa, kar predstavlja 4,58-odstotno izgubo mikročipov. Pri 1113 mikročipiranih samcih smo ob kontrolnem pregledu v letu 2010 našli 63 neoznačenih želv, kar znaša 5,66-odstotno izgubo mikročipov. Pri 4015 mikročipiranih samicah smo ob kontrolnem pregledu v letu 2010 našli neoznačenih 172 želv, kar znaša 4,28-odstotno izgubo mikročipov.

Takoj po koncu valilne sezone smo med mikročipiranjem grških in mavrskih kornjač ugotavljali pri samicah pogostost vnetja kloake. Ugotovili smo, da so bila vnetja pri samicah mavrske kornjače pogostejša kot pri samicah grške kornjače.

Zaradi natančnejšega proučevanja vpliva letnega časa na biokemijske parametre (kalcij in anorganski fosfat) smo v letu 2008 pri 32 želvah opravili dodatne preiskave. Izbrali smo oboro z 133 grškimi želvami, od tega 100 samic in 33 samcev, izvaljenih v letih 1974 in 1975, ki smo jih mikročipirali oktobra 2005. Vsako leto smo pri tej skupni sledili izpad mikročipov. Prav tako smo opravili pri njih vsako leto natančnejši klinični pregled, jih sledili skozi celo aktivno sezono, v letu 2005 je bil opravljen tudi pregled na endoparazite. V šestih letih je mikročip od triintridesetih izgubilo šest samcev od sto samic pa le dve, kar skupaj predstavlja 6,02 odstotka.

V tej skupini smo dvaintridesetim želvam znotraj izbrane obore v letu 2008 periodično jemali kri za ugotavljanje koncentracije kalcija in anorganskega fosfata v serumu.

Pri analizi rezultatov biokemijskih parametrov smo pri samcih opazili, da je razlika med najmanjšo in največjo vrednostjo kalcija padla med aprilom in majem za 0,75 mmol/L. Razlika v mesecu aprilu je največja, za 2,01 mmol/L, kar kaže na različne presnovne procese v času prebujanja pri posameznih želvah. Sledi nižanje vrednosti do najnižje vrednosti v jeseni, ko se procesi umirijo za čas hibernacije. Pri samicah je razlika med najmanjšo in največjo vrednostjo kalcija naraščala med aprilom in majem za 0,69 mmol/L. Razlika v mesecu juliju je največja, za 2,85 mmol/L. Sledi nižanje vrednosti do najnižje vrednosti v jeseni, ko se procesi umirijo za čas hibernacije.

Pri samcih je razlika med najmanjšo in največjo vrednostjo narašča med aprilom in majem za 2,09 mmol/L. Razlika v samem mesecu maju je največja, za 2,23 mmol/L, kar kaže na različne presnovne procese pri posameznih želvah. Sledi nižanje vrednosti v jesenski čas, ko se procesi umirijo za čas hibernacije. Pri samicah opažamo, da razlika med najmanjšo in največjo vrednostjo narašča med aprilom in majem za 3,18 mmol/L. Razlika v samem mesecu maju je največja, za 3,33 mmol/L, kar kaže na različne presnovne procese pri posameznih želvah. Sledi počasno padanje vrednosti v jesenski čas, ko se procesi umirijo za čas hibernacije. Na podlagi rezultatov se lepo vidijo nizke vrednosti anorganskega fosfata po hibernaciji, ki sta pri obeh spolih približno enaka. Konec meseca maja, ko postajajo želve spolno in presnovno aktivne, je viden močan dvig pri obeh spolih. Pri samicah je vsebnost anorganskega fosfata v krvi višja za 0,84 mmol/L. Po končani valitveni sezoni vrednost pade. Pri samcih v jeseni pade za 0,16 mmol/L pod vrednost, dobljeno v mesecu aprilu, pri samicah pa ostaja višja za 0,21 mmol/L. Konec septembra so ob pripravah na hibernacijo vrednosti padle pri samcih še za dodatnih 0,11 mmol/L, pri samicah pa je vrednost primerljiva s pomladansko vrednostjo.

Razmerje kalcija in anorganskega fosfata pri samcih je bilo v spomladanskem času 2,1:1, presenetljivo smo konec maja dobili razmerje 1:1. Po valilni sezoni v juliju se je razmerje povečalo na 2,6:1. V septembru pa je razmerje naraslo na 3:1. Pri samicah je bilo razmerje v spomladanskem času 2,6:1. Presenetljivo smo konec maja dobili razmerje 0,97:1, kar kaže za malenkostnih 0,03 v slabše razmerje v primerjavi s samci. Po valilni sezoni v juliju se je razmerje povečalo na 2,8:1. V septembru pa je razmerje naraslo skoraj na 3:1, kar je podobno kot pri samcih.

8 SUMMARY

In the Spring and Summer months of 2005, 2006, 2007 and 2008 we microchipped 7633 maternal breed and 1267 turtles bred for sale. All together we microchipped 8900 turtles. For the research group we have chosen Hermann's and Spur-thighed Tortoise.

During our work 8900 microchipps were implanted. 6 technological mistakes were made, which represents 0.067 percent of mistakes. In only 8 separate cases, we determined that microchips remained inside the plastic needle protector during application.

Hermann's and Spur-thighed Tortoise males from the maternal breed were bleeding more than the females. 2.56 percent of Hermann's and 4.35 percent of Spur-thighed Tortoise males bled after the implantation. The comparison in bleeding between the species indicates that the Spur-thighed Tortoise male bleeds more than the Hermann's Tortoise males, on average, 1.79 percent more often. The Spur-thighed Tortoise females bled 1.48 percentage more frequently than the Hermann's Tortoise.

In the case of microchipping turtles for sale, it is evident that less bleeding occurs even though the turtles were smaller. Hermann's Tortoise males bled after the microchip implantation more than females. We did not find any visible bleeding in Spur-thighed Tortoises after the implantation in both genders.

Males bled the most at the start of August, at 10.29 percent. The highest bleeding rate was in 3.35 percent after the egg laying period. In October, a second bleeding peak was recorded, when some of the turtles were hibernating.

At the control check in 2010, 5128 turtles from the maternal breed of species *Testudo hermanni* previously microchipped were included. We found that 235 turtles lost their microchip which corresponds to a 4.58 percent loss. At the control check of 1113 microchipped males, 63 were unmarked, which corresponds to a 5.66 percentage microchip loss. From 4015 microchipped females in the control check, 172 were unmarked, which corresponds to a 4.28 percent microchip loss.

When microchipping was performed immediately after the egg laying period, we observed cloaca inflammation in Hermann's and Spur-thighed Tortoise females. We concluded that cloaca inflammation were more frequent in Spur-thighed Tortoise than in Hermann's Tortoise females.

In 2008 due to the more precise research in the seasonal influence on biochemical parameters (calcium and inorganic phosphate), we carried out additional tests in 32 turtles. We chose a group of 133 Hermann's Tortoises, including 100 females and 33 males, which hatched in 1974 and 1975. This group was microchipped in October 2005 and microchip loss was tracked every year in this group. They were also clinically examined throughout the active season. In 2005 an internal parasite examination was performed. In a six year period, six of thirty-three males lost their microchip and two of hundred females lost their microchip. In total this represents a 6.02 percent loss.

Furthermore, in 2008 blood was taken periodically from this group to assess the calcium and inorganic phosphate serum values.

Biochemical parameter analyses in males displayed a significant decrease between the lowest and the highest calcium value between April and May, which was 0.75 mmol/L. The biggest difference was observed in April, of 2.01 mmol/L, which applies to different metabolic processes after hibernation in individual turtles. Furthermore, we detected a certain drop to the lowest value in Autumn when processes slowed down. In females, the difference between the lowest and the highest calcium value increased by 0.69 mmol/L between April and May. The difference was the highest in July, by 3.18 mmol/L. Again, a drop to the lowest value in Autumn followed when processes slowed down due to hibernation.

Inorganic phosphate differences in males between the highest and the lowest value during April and May rised by 2.0 mmol/L. The difference between values was the highest in May, by 2.23 mmol/L, indicating differences in individual metabolism. The value dropped in the following Autumn when the metabolism slowed down due to incoming hibernation. In the case of females, the difference was the highest in May, by 3.33 mmol/L, indicating different metabolic processes. Values drop in the following Autumn when the metabolism slowed down due to incoming hibernation. Based on these results, it is clear that post-hibernating low inorganic phosphate values are approximately equal in both genders. Female values of inorganic phosphate rose by 0.84 mmol/L. After the egg laying period, values dropped. Female values in Autumn dropped by 0.16 mmol/L below the April values. However values remained higher in females by 0.21 mmol/L. At the end of September at the pre-hibernating period male values dropped by an additional 0.11 mmol/L, on the other hand female values are comparable with the ones from Spring.

The ratio of calcium to phosphorus in females in the Spring time was 2.1:1, when surprisingly the ratio changed to 1:1 in May. After the egg laying period in July, the ratio increased to 2.6:1. At the end of May the ratio was 0.97:1 which shows a drop in the ratio of 0.03 comparing to the males. After the egg laying season in July the ratio increased to 2.8:1. In September the ratio increased to almost 3:1, which was similar to males. An analysis of the feed shows a suitable calcium inorganic phosphate ratio of 1.7:1.

9 ZAHVALA

Zahvaljujem se:

- mentorici prof. dr. Alenki Dovč, da si mi podala roko in me popeljala v raziskovalni svet;
- Aleksandru Žigu Dularju, da si dovolil vstop na farmi in omogočil to delo;
- želvam - preprosto ste neverjetna legenda narave;
- Kliniki za prežvekovalce za pomoč pri analizi krvnih vzorcev;
- celotni strokovni komisiji; doc. dr. Jošku Račniku za dobre nasvete, ki so vedno dobrodošli in doc. dr. Alenki Nemec Svete za pomoč ter uporabne napotke;
- študentom veterine, ki so sodelovali pri nalogi;
- lektorjem mag. Nataši Koražija ter Andrewu in Barbari Hunt Vodopivec;
- mag. Giti Grecs-Smole za vso pomoč in potrpljenje;
- mami, ateju, bratu Gorazdu - brez vas ne bi bila to kar sem;
- Lani, da me učiš potrpežljivosti in da si;
- Valentini Bartelj, Renati Rančić in Vanji Svetec za oporo in pomoč, ko to potrebujem;
- vsem, ki ste del tega in niste bili omenjeni.

10 LITERATURA

1. Dovč A, Mavri U. Pomen presoje tveganja za naravo pred naselitvijo ali doselitvijo tujerodnih prosto živečih živali v naravo ali gojitvijo tujerodnih prosto živečih živali. In: Preventiva pred širjenjem zoonoz in drugih nalezljivih bolezni v okolju. 2. interdisciplinarni simpozij DDD, zdravje in okolje. Ljubljana: Slovenska veterinarska zveza; Zavod za zdravstveno varstvo; Slovensko društvo za bolnišnično higieno, 2004: 110-9.
2. ARSO. Označevalci in dobavitelji oznak. Ljubljana: Agencija Republike Slovenije za okolje http://www.arso.gov.si/narava/%C5%BEivalske%20vrste/ozna%C4%8Ditev/oznacevalci%20in%20dobavitelji.html (10. 10. 2010)
3. Buhlmann KA, Tuberville TD. Use of passive integrated transponder (PIT) tags for marking small freshwater turtles. Chelonian Conservation Biol 1998; 3(1): 102-4.
4. Whitfield Gibbons J, Andrews KM. PIT tagging: simple technology at its best. BioScience 2004: 54(5): 447-54.
5. Jacobson ER. Overview of reptile biology, anatomy, and histology. In: Jacobson ER, ed. Infectious diseases and pathology of reptiles: color atlas and text. Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis, 2007: 1-26.
6. Boyer TH, Boyer DM. Turtles, tortoises, and terrapines. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 61-77.
7. Dovč A. Poročilo o presoji tveganja za naravo za gojitev tujerodne vrste živali (mavrska kornjača - *Testudo graeca*). Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2005: 37 str.
8. Ferri V. Biological features. In: Ferri V, ed. Turtles and tortoises. Willowdale, Ont.: Firefly Books, 2002: 16-27.
9. Llorente GA, Ruiz X, Casinos A, Barandalla I, Viladiu C. Long bone allometry in tortoises and turtles. In: Wyneken J, Godfrey MH, Bels V, eds. Biology of turtles. Boca Raton: CRC Press, 2008: 85-96.
10. Innis C. Chelonian species identification and husbandry recommendations. Exotic DVM 2000; 6(3): 57-63.
11. Bels V, Baussart S, Davenport J, et al. Functional evolution of feeding behavior in turtles. In: Wyneken J, Godfrey MH, Bels V, eds. Biology of turtles. Boca Raton: CRC Press, 2008: 187-212.
12. CITES identification manual. Geneva: CITES Secretariat; 2002.
13. Bolješič R, Mavri U, Arih A, et al. Slovenija in mednarodna trgovina z ogroženimi vrstami. In: Bolješič R, ed. Vodnik za izvajanje konvencije o mednarodni trgovini z ogroženimi prosto živečimi rastlinskimi in živalskimi vrstami (CITES). Ljubljana: MOP, Agencija RS za okolje, 2002: 61-128.
14. Uredba Sveta (ES) št. 338/97 z dne 9. decembra 1996 o varstvu prosto živečih živalskih in rastlinskih vrst z zakonsko ureditvijo trgovine z njimi. Ur List L 1997; 61(338): 1–69.
15. Zakon o ratifikaciji Konvencije o mednarodni trgovini z ogroženimi prosto živečimi živalskimi in rastlinskimi vrstami, spremembe Konvencije ter dodatkov I., II., III. in IV. k Konvenciji. Ur List RS 1999; 9(31): 1225-93.
16. Uredba o zavarovanih prosto živečih živalskih vrstah. Ur List RS 2000; 14(46): 5963-6016. (Spremembe: Ur list RS št. 109/2004, 84/2005, 115/2007, 96/2008, 36/2009).

17. Bolješič R. Konvencija o mednarodni trgovini z ogroženimi prosto živečimi vrstami rastlinskimi in živalskimi vrstami. In: Bolješič R, ed. Vodnik za izvajanje konvencije o mednarodni trgovini z ogroženimi prosto živečimi rastlinskimi in živalskimi vrstami (CITES). Ljubljana: MOP, Agencija RS za okolje; 2002: 23-46.

18. Uredba Komisije (ES) št. 407/2009 z dne 14. maja 2009 o spremembi Uredbe Sveta (ES) št. 338/97 o varstvu prosto živečih živalskih in rastlinskih vrst z zakonsko ureditvijo trgovine z njimi. Ur List RS 2009; 19(123): 3–61.

19. Dovč A. Poročilo o presoji tveganja za naravo za gojitev tujerodne vrste živali (grška kornjača - *Testudo hermanni*). Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2005: 35 str.

20. Vinke T, Vinke S. *Testudo hercegovinensis*, Werner, 1899 - die Dalmatinische Landschieldkröte. Schildkröten Fokus 2004; 1(1): 22-34.

21. Highfield AC. Practical encyclopedia of keeping and breeding tortoises and freshwater turtles. London: Carapace Press, 1996: 141-257.

22. Ferri V. Palearctic subregion. In: Ferri V, ed. Turtles and tortoises. Willowdale: Firefly Books, 2002: 56-79.

23. Köhler G, Haecky V, Eidenmüller B. Appendixes. In: Köhler G, Haecky V, Eidenmüller B, eds. Incubation of reptile eggs : basics, guidelines, experiences. Malabar: Krieger Pub, 2005: 132-85.

24. McArthur S, Wilkinson R, Barrows M, Meyer J. Introduction. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J, eds. Medicine and surgery of tortoises and turtles. Oxford: Blackwell Pub, 2004: 1-30.

25. McArthur S, Barrows M. Nutrition. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J, eds. Medicine and surgery of tortoises and turtles. Oxford: Blackwell Pub, 2004: 73-85.

26. Boyer TH BD. Turtles, tortoises, and terrapines. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders,2005: 78-99.

27. Lennox A. Practical nutrition of reptiles. Exotic DVM 2002;4(3):83-6.

28. Highfield AC. Practical encyclopedia of keeping and breeding tortoises and freshwater turtles. London: Carapace Press,1996: 1-14.

29. Divers S. Gender determination in reptiles. Exotic DVM 2000;2(2):19-22.

30. Frye FL. Reptile care, an atlas of diseases and treatments: Volume 2. Neptune City: T.F.H. Publications, 1991: 345-92.

31. DeNardo D. Reproductive biology. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 212-23.

32. Janzen FJ, Paukstis GL. A preliminary test of the adaptive significance of environmental sex determination in reptiles. Evolution 1991; 45(2): 435-40.

33. Hulin V, Girondot M, Godfrey M, Guillon J. Mixed and uniform brood sex ratio strategy in turtles: the facts, the theory, and their consequences. In: Wyneken J, Godfrey MH, Bels V, eds. Biology of turtles. Boca Raton: CRC Press, 2008: 279-300.

34. Pieau C, Dorizzi M, Richard-Mercier N. Temperature-dependent sex determination and gonadal differentiation in reptiles. Cell Mol Life Sci 1999; 55(6/7): 887-900.

35. Highfield AC. Practical encyclopedia of keeping and breeding tortoises and freshwater turtles. London: Carapace Press, 1996: 22-36.

36. Galeotti P, Sacchi R, Pellitteri RD, Fasola M. Female preference for fast-rate, high-pitched calls in Hermann's tortoises Testudo hermanni. Behav Ecol 2005;16(1):301-8.

37. Matašin Ž, Tlak Gajger I, Mitrović M. Slobodno živuće kornjače na području republike Hrvatske. Hrv Vet Vjesn 2007;30(2/3):123-31.

38. Vinke T, Vinke S. Anhang. In: Vinke T, Vinke S, eds. Vermehrung von Landschildkröten. Offenbach: Herpenton, 2004: 156-84.

39. Palmer B, Perkins J, Simon S, Massie K. Thermal biology, metabolism and hibernation. In: Ackerman LJ, ed. The biology, husbandry, and health care of reptiles. Volume 1: the biology of reptiles. Neptune City: T.F.H. Publications, 1997: 149-84.

40. Prebil M, Podpečan J, Kolar A, Dular Ž, Račnik J, Dovč A. Hibernacija pri želvah iz rodu Testudo. In: Vlahović K, Marinculić H, eds. 1. hrvaško-slovenski kongres o ljubiteljskih-eksotičnih in prosto živečih vrstah živali. Zagreb: Hrvatsko veterinarsko društvo, 2004: 205-13.

41. McArthur S. Veterinary management of tortoises and turtles. Oxford: Blackwell Science,1996: 18-29.

42. Gilbert SF, Cebra-Thomas JA, Burke AC. How the turtle gets its shell. In: Wyneken J, Godfrey MH, Bels V, eds. Biology of turtles. Boca Raton: CRC Press, 2008: 1-17.

43. McArthur S, Meyer J, Innis C. Anatomy and physiology. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J, eds. Medicine and surgery of tortoises and turtles. Oxford: Blackwell Publishing, 2004: 35-72.

44. Pritchard P. Evolution and structure of the turtle shell In: Wyneken J, Godfrey MH, Bels V, eds. Biology of turtles. Boca Raton: CRC Press, 2008: 45-84.

45. Zug GR, Vitt LJ, Caldwell JP. Herpetology : an introductory biology of amphibians and reptiles. 2nd ed. London: Academic Press, 2001: 33-76.

46. Bizjak M. Mikročipi in označevanje prosto živečih živali v ujetništvu. In: Vlahović K, Marinculić H, eds. 1. hrvaško-slovenski kongres o ljubiteljskih-eksotičnih in prosto živečih vrstah živali. Zagreb: Hrvatsko veterinarsko društvo, 2004: 8-9.

47. Pravilnik o označevanju živali, prosto živečih vrst v ujetništvu. Ur list RS 2004; 14(58): 7470-91.

48. Bender C. Fotodokumentation von geschützten reptilien. Rheinbach: Deutschen Gesellshaft für Herpetologie und Terrarienkunde, 2001: 26 str.

49. McCloud K. A photographic identification guide to star-patterned tortoises: identification guide for wildlife law enforcement No. 12. Ashland, OR: USFWS, National Fish and Wildlife Forensics Laboratory, 2008: e 1-17. http://www.asianturtlenetwork.org/library/useful_resources/McCloud%202008%20Star%20tortoise%20patterns%20(May%202010).pdf (10. 10. 2010)

50. Jessop M. Procedure for microchipping chelonians. J Small Anim Pract 2000; 41: 138-9.

51. Redrobe S, Littlewood A, Divers S, et al. Microchipping tortoises. Vet Rec 1999; 145(17): 504.

52. Barrows M, McArthur S, Wilkinson R. Diagnosis. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J, eds. Medicine and surgery of tortoises and turtles. Oxford: Blackwell Publishing, 2004: 109-40.

53. Wilkinson R, Hernandez-Divers S, Lafortune M, Calvert I, Gumpenberger M, McArthur S. Diagnostic imaging techniques. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J, eds. Medicine and surgery of tortoises and turtles. Oxford: Blackwell Publishing, 2004: 187-238.

54. Campbell TW, Ellis C. Hematology of reptiles. In: Campbell TW, Ellis C, eds. Avian and exotic animal hematology and cytology. 3rd ed. Ames, Iowa: Blackwell Publishing,2007: 51-82.

55. Jacobson ER, Schumacher J, Green M. Field and clinical techniques for sampling and handling blood for hematologic and selected biochemical determinations in the desert tortoise, *Xerobates agassizii*. Copeia 1992; 1: 237-41.

56. Strik NI, Alleman AR, Harr KE. Circulating inflammatory cells. In: Jacobson ER, ed. Infectious diseases and pathology of reptiles: color atlas and text. Boca Raton: CRC Press, 2007: 167-218.

57. Mathes KA, Holz A, Fehr M. Blutreferenzwerte in Deutschland gehaltener europäischer Landschildkröten (*Testudo* spp.). Tierärztl Prax 2006; 34(K): 268-74.

58. Wilkinson R. Clinical pathology. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J, eds. Medicine and surgery of tortoises and turtles. Oxford: Blackwell Publishing, 2004: 141-86.

59. Göbel T, Spörle H. Blutnahmetehnik und Serumnormalwerte wichtiger Parameter bei der griechischen Landschildkröte (*Testudo hermanni hermanni*)]. Tierarztl Prax 1992;20(2): 231-4.

60. Funk RS. Turtles, tortoises, and terrapines. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 346-8.

61. McArthur S. Problem-solving approach to common diseases of terrestrial and semi-aquatic chelonians. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J, eds. Medicine and surgery of tortoises and turtles. Ames, Iowa: Blackwell, 2004: 309-77.

62. Lawrence K. Post hibernational anorexia in captive Mediterranean tortoises (*Testudo graeca* and *T. hermanni*). Vet Rec 1987; 120(4): 87-90.

63. McArthur S. Veterinary management of tortoises and turtles. Oxford: Blackwell Science,1996: 30-3.

64. McArthur S. Veterinary management of tortoises and turtles. Oxford: Blackwell Science, 1996: 48-50.

65. Shelby J, McCance KL. Stress and disease. In: Huether SE, McCance KL, eds. Understanding pathophysiology. 3rd ed. St. Louis: Mosby, 2004: 221-31.

66. Dodd CK. North American box turtles : a natural history. Norman: University of Oklahoma Press, 2001: 39-55.

67. Highfield AC. Practical encyclopedia of keeping and breeding tortoises and freshwater turtles. London: Carapace Press, 1996: 87-108.

68. Boyer T. Metabolic bone disease. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 385-92.

69. Knotek Z, Jekl V, Knotkova Z, Trnkova S. Common diseases of captive reptiles. In: 2. slovensko-hrvaški kongres o ljubiteljskih-eksotičnih in prosto živečih vrstah živali. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 2005: 59-63.

70. DeNardo D. Dystocias. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 370-3.

71. Stahl S. Prefemoral approach to celiotomy in chelonians. Exotic DVM 1999; 1(3): 15-20.

72. Barten SL. Shell damage. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 413-6.

73. Rose K. Common diseases of urban wildlife: reptiles. Mosman: The Australian Registry of Wildlife Health at Taronga ZOO, 2005: 12 str.

74. Origgi FC, Jacobson ER. Diseases of the respiratory tract of chelonians. Vet Clin North Am Exot Anim Pract 2000;3(2):537-49.

75. Kiedrowski M. Surgery. In: Ackerman LJ, ed. The biology, husbandry, and health care of reptiles. Volume 3: health care of reptiles. Neptune City: T.F.H. Publications, 1997: 714-34.

76. Rossi JV. Dermatology. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 104-17.

77. MERCK. Exotic and laboratory animals; Reptiles. The Merck veterinary manual. 8th ed. Whitehouse Station, N.J.: Merck & Co, 1998: 1263-643.

78. Strohl P, Tilly B, Fremy S, Brisabois A, Guérin-Faublée V. Prevalence of Salmonella shedding in faeces by captive chelonians. Vet Rec 2004;154(2):56-8.

79. Barbour EK, Chacra NA, Gali-Mouhtaseb H, et al. Performance, bacterial shedding and microbial drug resistance in two tortoise species. Vet Rec 2007; 161(2): 62-4.

80. Bäumler AJ, Tsolis RM, Ficht TA, Adams LG. Evolution of host adaptation in *Salmonella enterica*. Infect Immun 1998; 66(10): 4579-87.

81. Dovč A. Pestrost plazilcev v Sloveniji in njihova zdravstvena problematika. In: 3. strokovno srečanje sekcije zasebnih veterinarjev praktikov Veterinarske zbornice. Podčetrtek: Veterinarska zbornica, 2004: 4 str.

82. Pasmans F, De Herdt P, Chasseur-Libotte ML, Ballasina DL, Haesebrouck F. Occurrence of salmonella in tortoises in a rescue centre in Italy. Vet Rec 2000; 146(9): 256-8.

83. Hidalgo-Vila J, Diaz-Paniagua C, de Frutos-Escobar C, Jimenez-Martinez C, Perez-Santigosa N. Salmonella in free living terrestrial and aquatic turtles. Vet Microbiol 2007;119(2/4):311-5.

84. Johnson-Delaney CA. Reptile zoonoses and threats to public health. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 20-33.

85. Jacobson ER. Infectious diseases and pathology of reptiles: color atlas and text. Boca Raton: CRC Press, 2007: 461-526.

86. Rosenthal KL, Mader DR. Microbiology. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 117-25.

87. McArthur S. Infectious agens. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J, eds. Medicine and surgery of tortoises and turtles. Oxford: Blackwell Publishing, 2004: 31-4.

88. Martinez-Silvestre A. Bacteriological features of rhinitis in captive Greek tortoises, *Testudo graeca*. Bull Assoc Reptilian Amphibian Vet 1997; 7(2): 12-5.

89. Dovč A, Račnik J, Zorman Rojs O, et al. Reja grških želv v Sloveniji. Vet Nov 2005; 31(5/6): 173-83.

90. Boyer T. Turtles, tortoises, and terrapines. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders,1996: 332-6.

91. Driggers T. Infectious diseases. In: Ackerman LJ, ed. The biology, husbandry, and health care of reptiles. Volume 1: the biology of reptiles. Neptune City, NJ: T.F.H. Publications, 1997: 593-612.

92. McArthur S, Blahak S, Köelle P, Jacobson ER, Marschang RE, Origg IF. Chelonian Herpesvirus. J Herpetological Med Surg 2002; 12(2): 14-31.

93. McArthur S. Lymphoproliferative disease in *Testudo hermanni* and *Geochelone pardalis* tortoises associated with herpesvirus-like infections. BCG Testudo 1998; 4(5): e http://www.britishcheloniagroup.org.uk/testudo/v4/v4n5mc.htm (10. 10. 2010)

94. Schumacher J. Viral diseases. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 224-34.

95. Lane TJ, Mader DR. Parasitology. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 185-203.

96. Marschang RE, Gravendyck M, Kaleta EF. Herpesviruses in tortoises: investigations into virus isolation and the treatment of viral stomatitis in *Testudo hermanni* and *T. graeca*. Zentralbl Veterinarmed B 1997; 44(7): 385-94.

97. Drury SE, Gough RE, Kay AV, McArthur SD. Detection and isolation of a herpesvirus from a spur-thighed tortoise (*Testudo graeca*) in the UK. Vet Rec 1999; 145(20): 586-8.

98. Hervas J, Sanchez-Cordon PJ, de Chacon Lara F, Carrasco L, Gomez-Villamandos JC. Hepatitis associated with herpes viral infection in the tortoise (*Testudo horsfieldii*). J Vet Med B 2002; 49(2): 111-4.

99. Marschang RE, Becher P, Posthaus H, et al. Isolation and characterisation of an iridovirus from Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*). Arch Virol 1999;144(10):1909-22.

100. Jacobson ER. Infectious diseases and pathology of reptiles : color atlas and text. Boca Raton: CRC Press, 2007: 395-460.

101. Wilkinson R. Therapeutics. In: McArthur S, Wilkinson R, Meyer J, eds. Medicine and surgery of tortoises and turtles. Oxford: Blackwell Publishing, 2004: 465-85.

102. Highfield AC. Practical encyclopedia of keeping and breeding tortoises and freshwater turtles. London: Carapace Press, 1996: 109-17.

103. McArthur S. Veterinary management of tortoises and turtles. Oxford: Blackwell Science, 1996: 51-2.

104. Greiner EC. Parasitology. In: Ackerman LJ, ed. The biology, husbandry and health care of reptiles. Volume 3: health care of reptiles. Neptune City, NJ: T.F.H. Publications, 1997: 689-702.

105. Siroky P, Petrzelkova KJ, Kamler M, Mihalca AD, Modry D. *Hyalomma aegyptium* as dominant tick in tortoises of the genus Testudo in Balkan countries, with notes on its host preferences. Exp Appl Acarol 2006;40(3/4):279-90.

106. Knotek Z, Fischer O, Jekl V, Knotkova Z. Fatal myiasis caused by *Calliphora vicina* in Hermann's tortoise (*Testudo hermanni*). Acta Vet Brno 2005;74(74): 123-8.

107. Sales MJ, Ferrer D, Castella J, Borras D, Hall MJ. Myiasis in two Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*). Vet Rec 2003;153(19):600-1.

108. Logar J. Parazitologija v medicini. Ljubljana: DZS, 1999: 16-80.

109. Brglez J. Parazitologija za veterinarje: splošni del, diagnostične metode, protozoa, trematoda. Ljubljana: BF, VTOZD za veterinarstvo, 1989: 57-164.

110. Gabrisch K, Zwart P. Schildkröten. In: Gabrisch K, Zwart P Krankheiten der Heimtiere. 7.Aufl. Hannover: Sclütersche, 2008: 653-738.

111. Dovč A, Vergles Rataj A, Zorman Rojs O, Golja J. Zdravljenje endoparazitoz pri želvah. Vet Nov 2003;29(3):317-24.

112. Klingenberg RJ. Internal parasites. Understanding reptile parasites: a basic manual for herpetoculturists & veterinarians. Lakeside: Advanced Vivarium Systems, 1993: 44-73.

113. Schneller P, Pantchev N. Parasitologie bei Schlangen, Echen und Schildkröten: ein Handbuch für die Reptilienhaltung. Frankfurt am Main: Chimara, 2008: 38-187.

114. Brglez J. Parazitologija za veterinarje: helmintologija, cestoidea, nematoda, acanthocephala. Ljubljana: Veterinarska fakulteta, 1990: 93-289.

115. Traversa D, Capelli G, Iorio R, Bouamer S, Cameli A, Giangaspero A. Epidemiology and biology of nematodofauna affecting *Testudo hermanni*, *Testudo graeca* and *Testudo marginata* in Italy. Parasitol Res 2005; 98(1): 14-20.

116. Pravilnik o izvedbi presoje tveganja za naravo in o pridobitvi pooblastila. Ur list RS 2002; 12(43): 4202-5.

117. Trovan®. Navodila za uporabo ročnega ISO čitalnika ARE H5. Trovan electronic identification devices LTD, 2005: 28 str.

118. Camper J, Dixon J. Evaluation of a microchip marking system for amphibians and reptiles. Res Publ 1988; 7100(159): 1-22.

119. REZA - Register ogroženih in zavarovanih prosto živečih živalskih in rastlinskih vrst. Ljubljana: Ministrstvo za okolje in prostor, Agencija Republike Slovenije za okolje, 2008. https://sirena.arso.gov.si/reza/ (22. 11. 2010)

120. Lawrence K. Seasonal variation in blood biochemistry of long-term captive Mediterranean tortoises (*Testudo graeca* and *T hermanni*). Res Vet Sci 1987; 43(3): 379-83.

121. Hernandez-Divers SM, Hernandez-Divers SJ, Wyneken J. Angiographic, anatomic and clinical technique descriptions of a subcarapacial venipuncture site for chelonians. Chelonian Conservation Biol 2002; 12(2): 32-7.

122. Korbel R. Evaluation of a new hand digital photo slit lamp (Dioptrix Hawk Eye™) for routine ophthalmological examination in birds. In: 9th Association of Avian Veterinarians Conference. Zürich, 2007: 61-3.

123. Benyr G. Animal welfare associated with the marking of specimens of the genus Testudo with transponders. Herpetozoa 2008; 21(1/2): 41-8.

124. Campbell T. Clinical pathology. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 248-57.

125. Lopez-Olvera JR, Montane J, Marco I, Martinez-Silvestre A, Soler J, Lavin S. Effect of venipuncture site on hematologic and serum biochemical parameters in marginated tortoise (*Testudo marginata*). J Wildl Dis 2003; 39(4): 830-6.

126. Bennett A. Fracture management. In: Mader DR, ed. Reptile medicine and surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996: 281-6.