

## **SUPERVIVENCIA DE LAS LARVAS I DE NEOSTRONGYLUS LINEARIS (NEMATODA, PROTOSTRONGYLIDAE) EN CONDICIONES CONTROLADAS DE HUMEDAD Y TEMPERATURA**

Por: *A. Reguera Feo*  
*M. Cordero del Campillo*  
*F. A. Rojo Vázquez*

### **INTRODUCCION**

Los estudios sobre la resistencia de las larvas I (L-I) de los Protostrongylidae, en diversas condiciones ambientales, se iniciaron tempranamente (Davtyan<sup>2</sup> y Pavlov<sup>11</sup>, ambos en 1937).

La mayoría de las veces, los datos aportados son meras observaciones colaterales, en el marco de trabajos orientados fundamentalmente al estudio del ciclo vital<sup>1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 14</sup>, aunque también se han llevado a cabo estudios encaminados a determinar la supervivencia larvaria ante factores ambientales diversos<sup>4, 5, 12, 13</sup>.

Sin embargo, no conocemos ningún trabajo dedicado a investigar la supervivencia de las L-I de *Neostrongylus linearis*.

### **MATERIALES Y METODOS**

Se preparó una serie de coprocultivos a partir de heces frescas, sin tratar de ningún modo, obtenidas de una oveja con infestación pura de *Neostrongylus linearis*, mantenida en el Departamento en condiciones que garantizaban su aislamiento y la imposibilidad de infestaciones por Protostrongylidae. El animal se mantenía en una jaula metabólica y la retirada de heces se hacía cada ocho-doce horas.

Inicialmente se tomaban 100 g. de heces para cada coprocultivo, de los cuales se colocaban en dispositivos Baermann-Wetzel 10 g. Transcurridas dieciocho horas se recogían del fondo 10 ml. y se centrifugaban a 2.000 rpm., durante cuatro minutos. Después de eliminar el sobrenadante, se volvían a suspender los 1-2 ml. de fondo hasta un volumen de 10 ml. con agua corriente, a fin de realizar el recuento en cámara McMaster.

Una vez realizados los cálculos correspondientes para conocer el número de larvas totales recogidas, dividíamos por 10 para obtener el número de l/g. de cada coprocultivo.

Los 90 g. restantes de heces, los depositábamos en un cristalizador de borde liso, sobre el que se colocaba una placa de vidrio a modo de tapadera. Seguidamente regulábamos las condiciones de humedad y temperatura a las que pretendíamos mantenerlas hasta el fin de la experiencia. Las temperaturas estudiadas fueron de 5, 12, 20, 26 y 30° C, en estufas de cultivo. Las humedades consideradas, para cada temperatura, fueron de 100%, 70% y 30%. La humedad relativa de 100% se consiguió situando en la estufa un pocillo con agua destilada. Las humedades relativas de 70 y 30% se lograron con soluciones acuosas de glicerina, que no resultan afectadas por la temperatura, tienen presión de vapor que representa siempre la fracción molar de la presión de vapor del agua pura, pueden mezclarse en cualquier proporción y no tienen una acción drástica sobre la humedad relativa, ni emiten vapores tóxicos para las larvas. Las concentraciones de glicerina fueron del 74 y del 98% p/p que, inicialmente, correspondían a unas humedades relativas del 60 y 17%, respectivamente. A partir de este momento, se realizó un análisis semanal, para lo cual tomábamos 3 g. de heces que pasaban al dispositivo BAERMANN-WETZEL, para ser tratadas del modo ya descrito. Asimismo, procedíamos a cambiar el pocillo de la solución acuosa de glicerina, substituyéndolo por otro con las proporciones originales, dado que el primero se había enriquecido en agua, por la captación del vapor ambiental. Este aumento de la proporción de agua suponía una mayor humedad relativa que, calculada convenientemente, equivalía a humedades medias del 70 y 30%, respectivamente.

Las combinaciones posibles, de humedad y temperatura controladas, fueron 15. La vitalidad de las larvas se juzgó por su capacidad migratoria.

El número de larvas obtenido de los 3 g. semanalmente analizados, se transformaba en l/g., refiriéndolos al peso inicial de la muestra y no a estos 3 gramos concretos, dado que, al cabo del tiempo, se producía paulatinamente una desecación, tanto más marcada cuanto menor fuera la humedad relativa. Para ello, se aplicaba una regla de proporcionalidad.

La cifra de l/g. así obtenida se transformó en porcentaje con respecto a la inicial de l/g., a fin de poder integrar los datos de las diversas réplicas del mismo coprocultivo y para poder comparar los resultados con los otros tipos de coprocultivo.

Para cada una de las combinaciones «humedad relativa media-temperatura», se realizaron de 2 a 7 réplicas, según la homogeneidad de los resultados, efectuándose en total 48.

Los valores obtenidos se ajustaron a las siguientes regresiones:

Hiperbólica directa .....  $y = a + b/x$

Hiperbólica inversa .....  $1/y = a + bx$

Lineal .....	$y = a + bx$
Logarítmica .....	$y = a + b \log x$
Exponencial .....	$y = a \cdot e^{bx}$
Geométrica .....	$y = a \cdot x^b$
Parabólica .....	$y = a + bx + cx^2$

En todos los casos «y» es el porcentaje de larvas sobrevivientes y «x» el número de semanas transcurridas.

Posteriormente, para cada tipo de coprocultivo se seleccionó la regresión de mayor correlación con sus valores de mortalidad.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Los porcentajes de supervivencia en cada tipo de coprocultivo se obtuvieron mediante la media aritmética de los valores correspondientes de las réplicas.

A 5° C (figura 1), independientemente de la humedad, se ajustan a hipérbolas directas. El efecto de la humedad a esta temperatura es evidente, desde un principio. Así, en la primera, a la humedad relativa del 100% hay porcentajes de supervivencia del 35%, mientras que a humedades inferiores la supervivencia es, aproximadamente, de un 5%. La mayor supervivencia a la máxima humedad relativa supone que este primer estadio larvario puede, en tales condiciones (5° C y 100% de humedad), mantenerse vital más allá de la semana 15.<sup>a</sup>, en tanto que a humedades inferiores, podemos considerar que su extinción total tiene lugar hacia las semanas 7.<sup>a</sup>-8.<sup>a</sup>.

A 12° C (figura 2), los valores se ajustan a regresiones geométricas con humedades relativas de 100 y de 30%, y a una hipérbola inversa la del 70%. A esta temperatura la humedad no parece tener influencia en la supervivencia de las L-I, si exceptuamos el período inicial, de manera que podemos considerar que el número de larvas vivas, en tales casos, desciende por debajo de niveles apreciables poco más allá de la 7.<sup>a</sup> semana.

Tanto a 20° C (figura 3), como a 26° C (figura 4) se aprecia una mayor supervivencia inicial a humedades medias (en ambas temperaturas se ajustan los valores a una regresión parabólica), con total extinción en la 5.<sup>a</sup> semana.

A 20° C, tanto a la humedad mínima (regresión lineal), como a la humedad máxima (hipérbola inversa) la supervivencia es muy limitada: 1-2 semanas, respectivamente.

A 26° C nos encontramos con el fenómeno contrario ya que, a pesar de producirse un rápido descenso inicial, tanto a la humedad máxima (regresión hiperbólica), como a la mínima (geométrica), se llega posteriormente a una etapa de mantenimiento que las permite sobrevivir hasta la 15.<sup>a</sup> semana, si bien, en el caso del 30% de humedad relativa, a niveles muy bajos desde la 5.<sup>a</sup> semana.

A 36° C (figura 5) vuelve a apreciarse la influencia de la humedad, en este caso

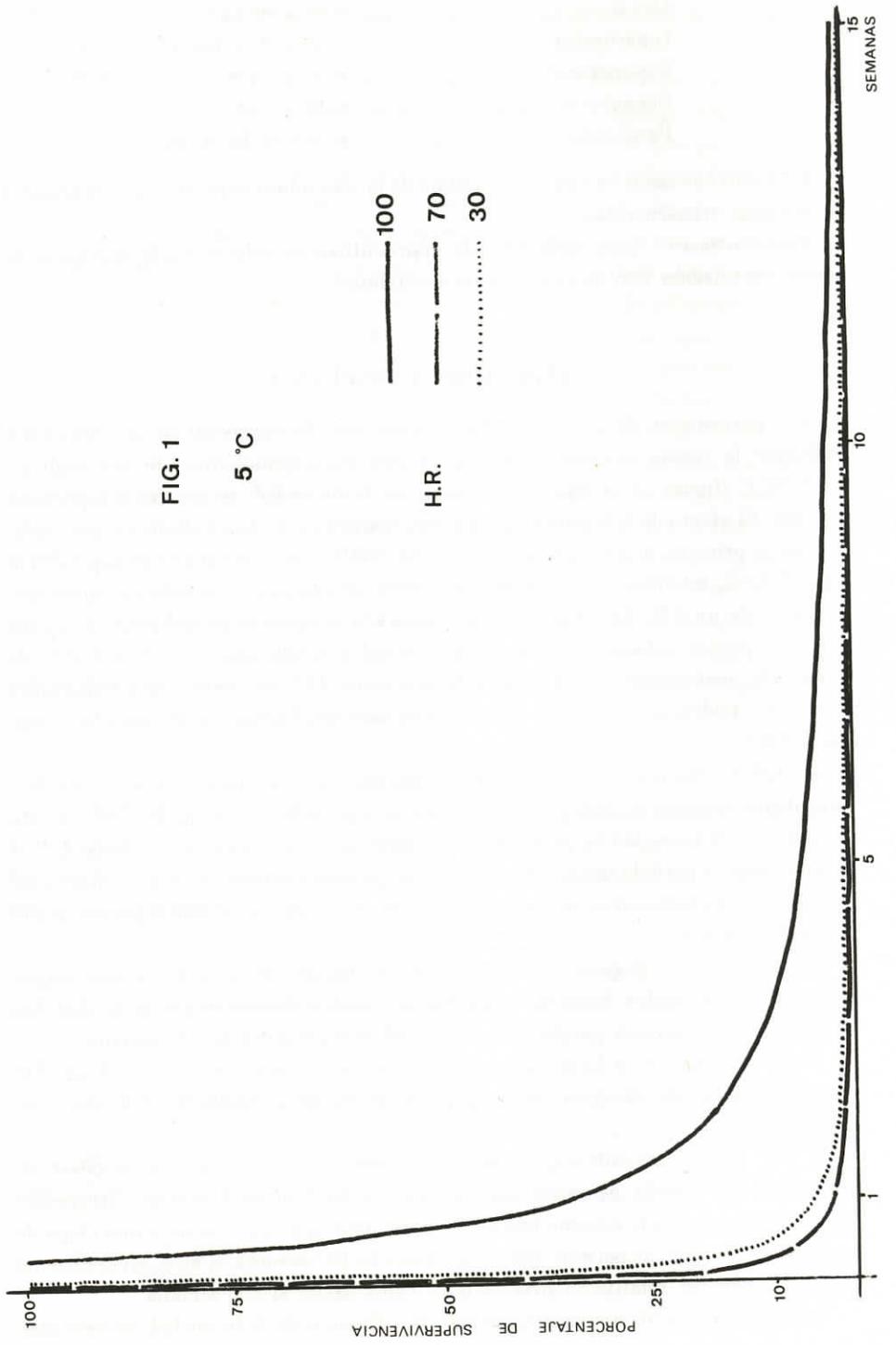


FIG. 1

5 °C

H.R.

- 100
- - - 70
- ..... 30

FIG. 2

12 °C

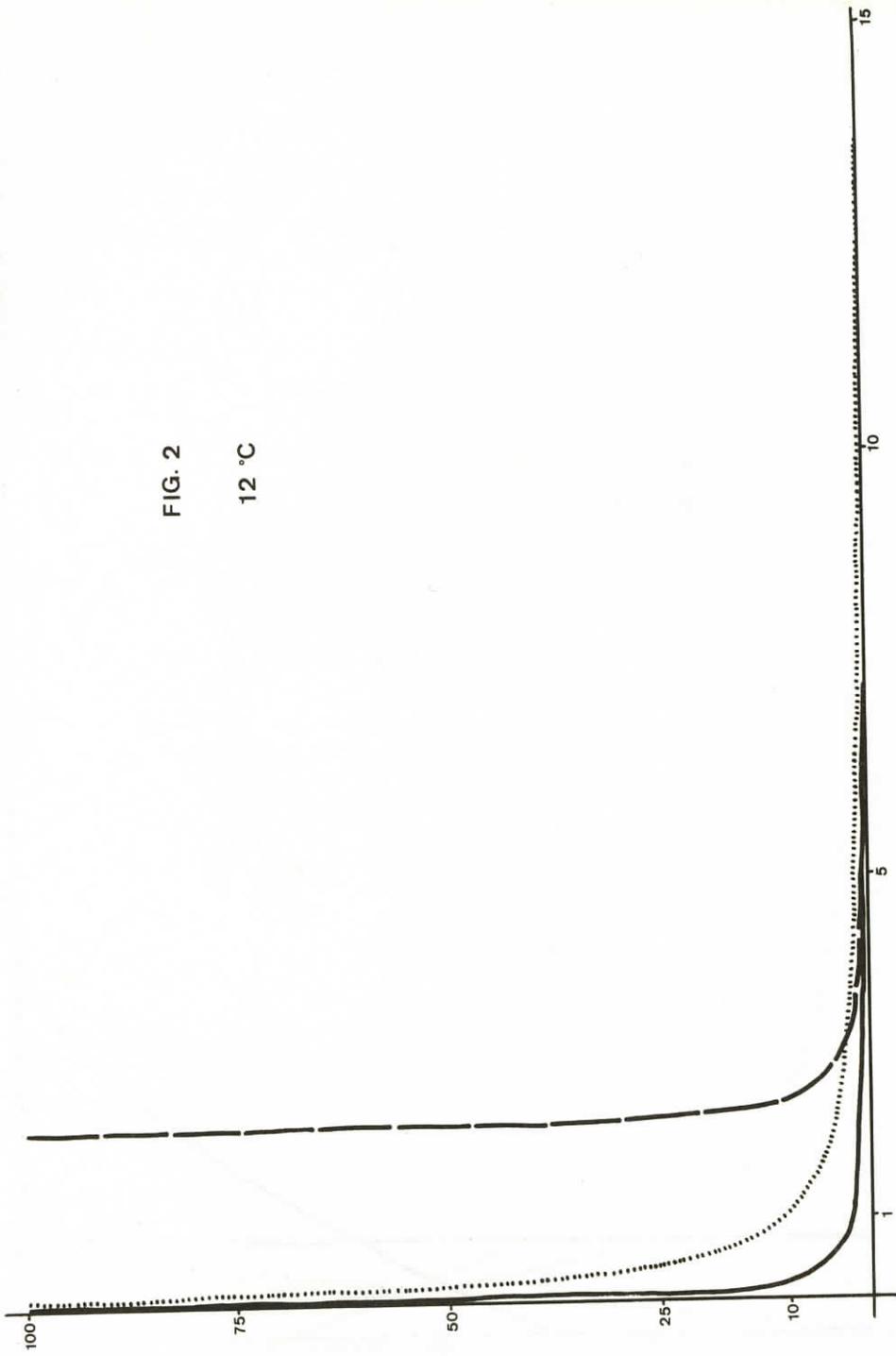


FIG. 3

20 °C

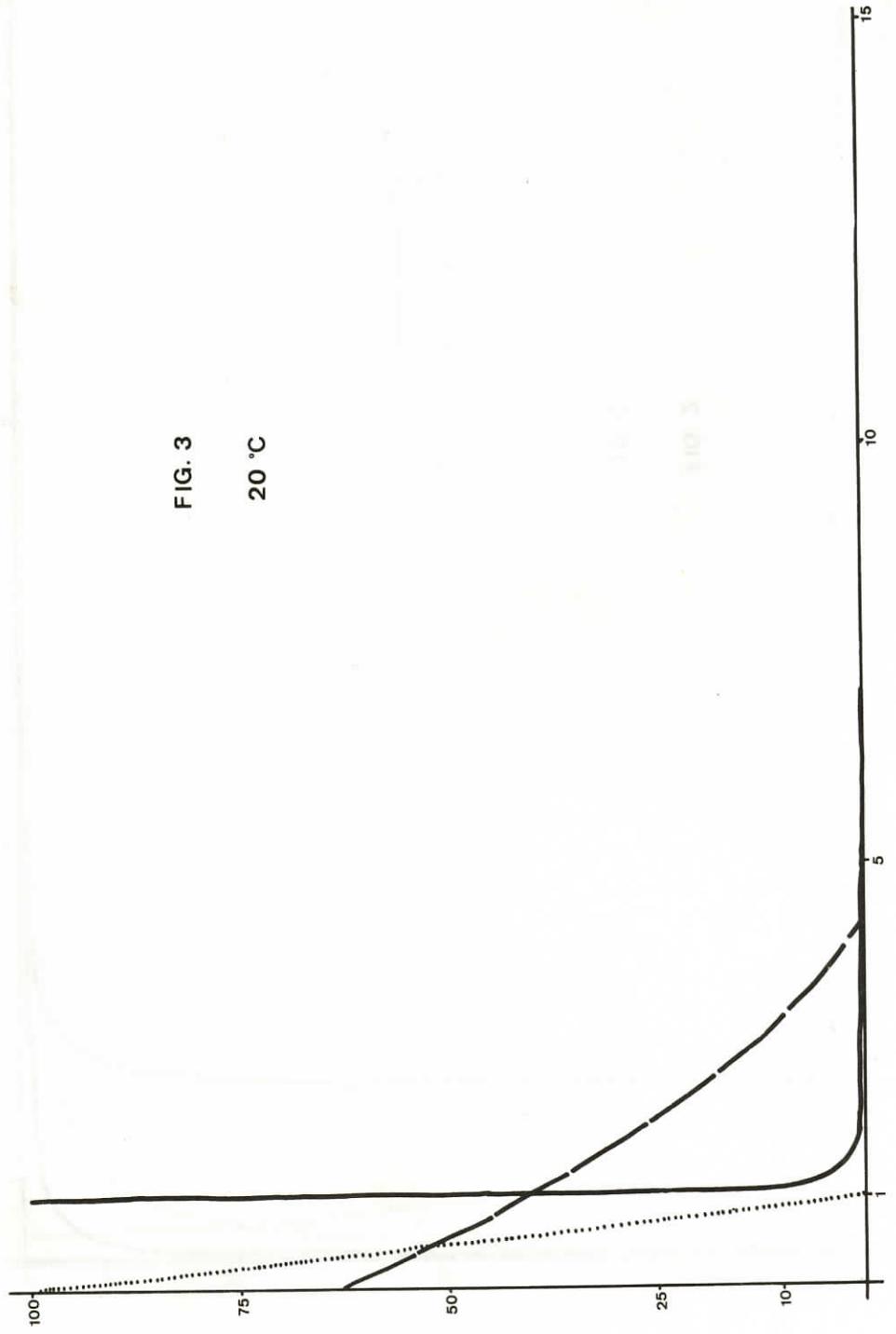
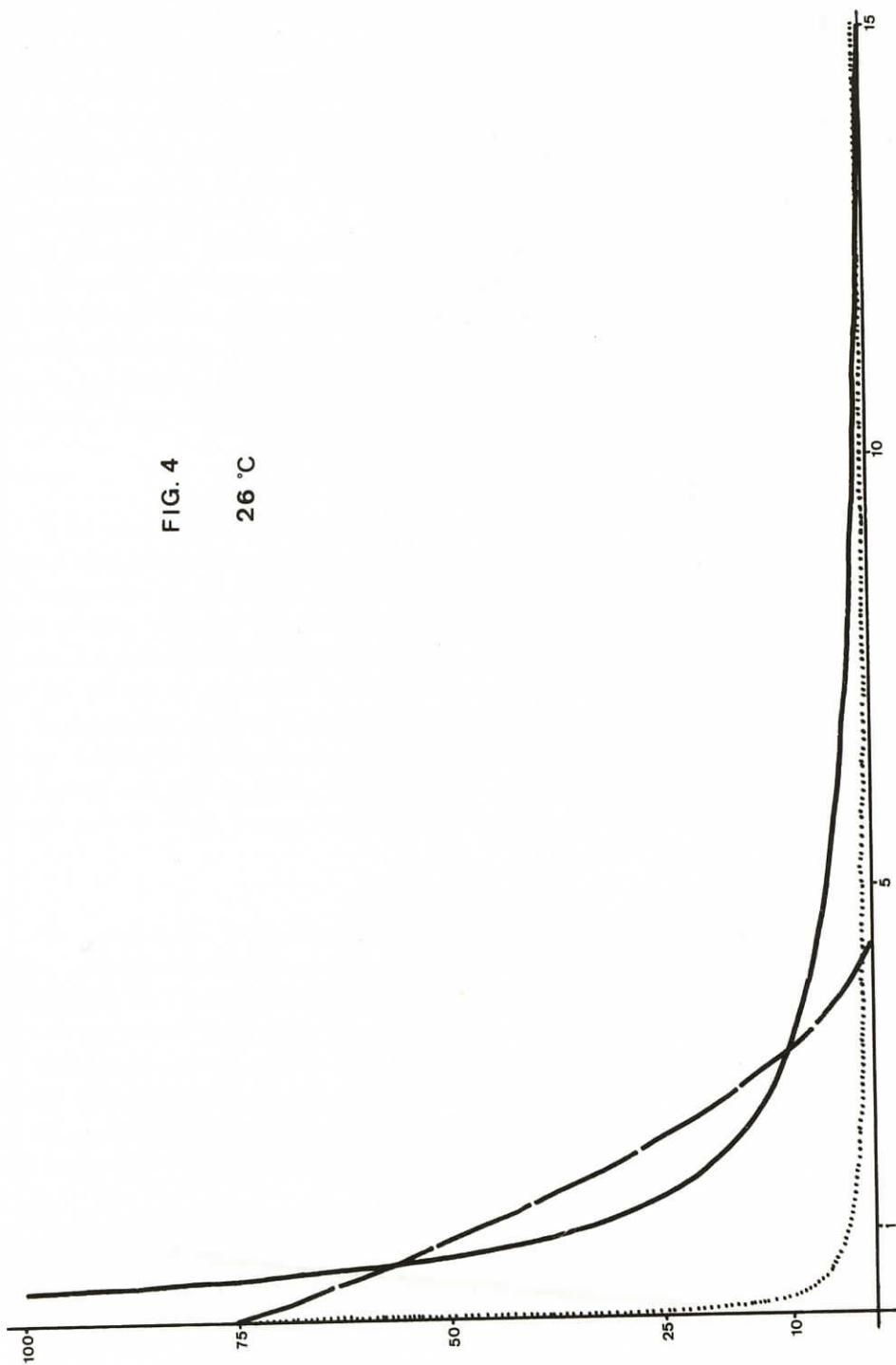
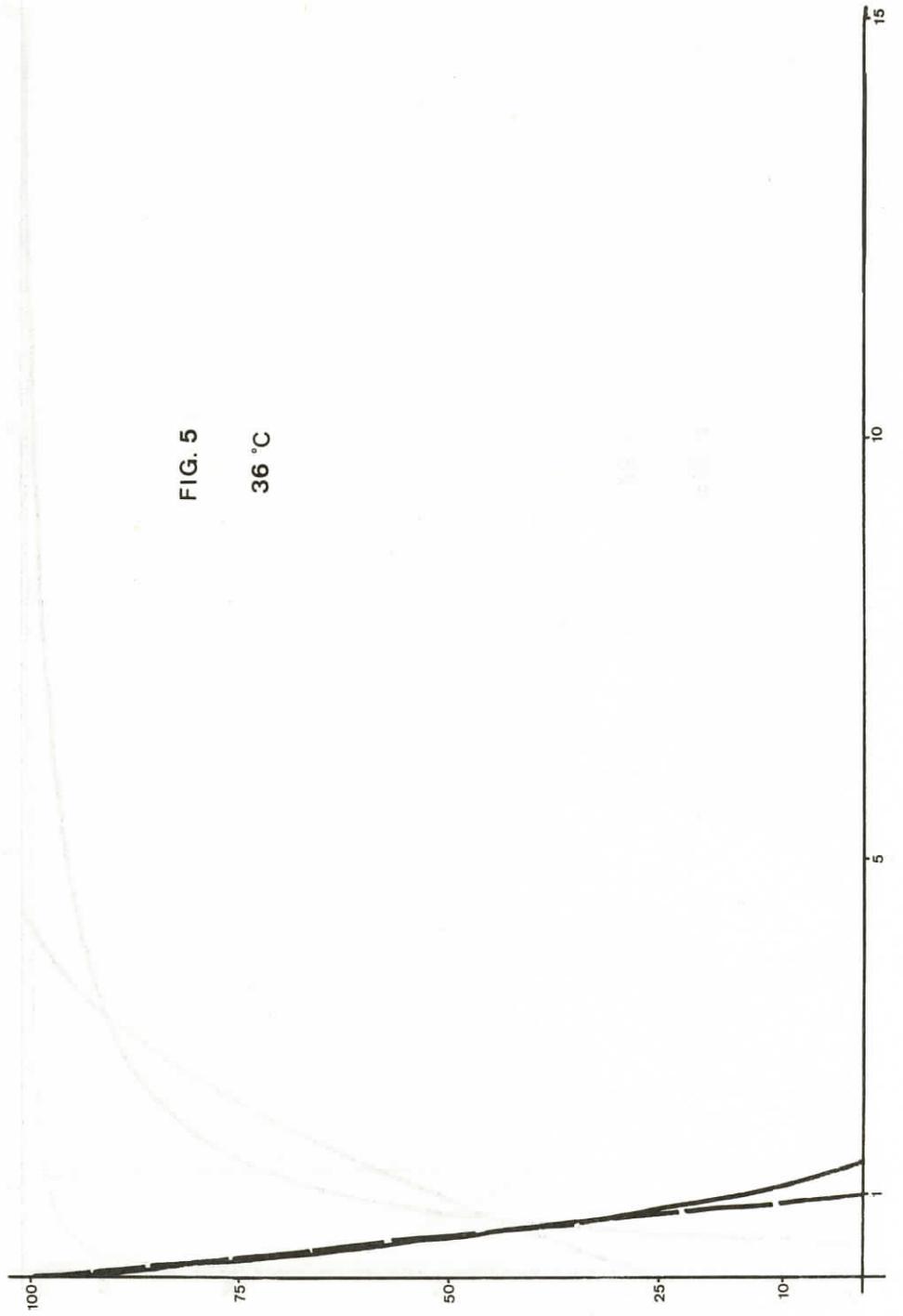


FIG. 4

26 °C





prácticamente despreciable, debido a la alta mortalidad que supone esta temperatura. Así, la supervivencia al 100 % de humedad relativa (regresión parabólica) no llega a las dos semanas y a humedades inferiores (regresiones lineales) la mortalidad es total en, presumiblemente, menos de una semana.

A la vista de estos resultados, podemos decir que la humedad influye en la supervivencia de las L-I de *N. linearis* de una manera directa, en función de la temperatura, que es un factor importante, particularmente cuando alcanza valores superiores (36° C).

En conclusión, *Neostrogylus linearis* tiene una capacidad de supervivencia no muy destacada, particularmente si la comparamos con la que exhiben otras especies de Protostrongylidae parásitos de la oveja, que son mucho más resistentes a los factores ambientales considerados en este trabajo. Acaso pueda ser ésta una de las razones que explican por qué *N. linearis* es parásito mucho menos frecuente que los restantes representantes de la familia.

#### RESUMEN

Se ha estudiado la supervivencia del primer estadio larvario de *Neostrogylus linearis* en condiciones controladas de humedad (100, 70 y 30 % humedad relativa) y de temperatura (5, 12, 20, 26 y 30° C), en un total de 15 combinaciones «humedad-temperatura», para las que se realizaron 48 réplicas. Los valores obtenidos se ajustaron a diversas regresiones, de las que se eligió la que mayor correlación mostró con los valores de mortalidad de las larvas.

La conclusión es que la humedad influye directamente en la supervivencia de las L-I, en función de la temperatura, particularmente cuando ésta alcanza altos valores. Se destaca que *N.I.* es menos resistente que otras especies de Protostrongylidae parásitos de la oveja, lo que puede explicar su menor frecuencia.

#### SUMMARY

The survival rate of first stage larvae of *Neostrogylus linearis* has been studied under controlled conditions of humidity (100, 70 and 30 % relative humidity) and temperature (5, 12, 20, 26 and 30° C). In short, 15 combinations of both parameters and 48 replicas of them have been considered.

The values were adjusted to various types of regressions, and the more correlated to the values of larval mortality were selected.

In conclusion, humidity affects directly to the survival rate of L-I in function of the temperature, particularly when this parameter reaches greater values.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) BORCHERT, A. (1964).—*Parasitología Veterinaria*. Ed. Acribia, Zaragoza.
- 2) DAVTYAN, E. A. (1937).—A study of the life-cycle of *Synthetocaulus kochi* Schulz, Orlov et Kutass, 1933, the lungworm of sheep and goat. *Skrjabin Anniv.*, Vol., 105-122.

- 3) ERHARDOVA, B. y RYSAVY, B. (1953).—(Influencia del ambiente exterior en el estadio preinvasor del helminto pulmonar *Muellerius capillaris*) *Ceskoslovenka Biologie*, **1**: 35-36. En checo.
- 4) FORRESTER, D. J. and CLYDE, M. S. (1963).—Effect of temperature and humidity on survival of first stage *Protostrongylus stilesi* larvae. *Exper. Parasitol.*, **13**, 83-89.
- 5) HAMILTON, J. M. and McCAW, A. W. (1967).—An investigation into the longevity of first stage larvae of *Aelurostrongylus abstrusus*. *J. of Helminth.*, **41**, 313-320.
- 6) MATEKIN, P. V., TURLIGINA, E. S. and SHALAEVA, N. M. (1954).—(Contribución a la biología de las larvas de los Protostrongílidos de cabras y ovejas y a la epizootiología de la protostrongilidosis en Asia Central). *Zoolog. Zhurnal*, **33**, 373-394. En ruso.
- 7) MOREV, YU. B. (1966).—(Resistencia al calor de las larvas de Protostrongílidos). *Mater Nauch. Konf. Vses. Obshch. Gelm. (1966) Part I*, 163-168. En ruso.
- 8) — (1967).—(Resistencia de las larvas de nematodos de la familia Protostrongylidae Leiper, 1926 a las bajas temperaturas). *Zoolog. Zhurnal*, **46**: 435-436. En ruso.
- 9) — (1968).—(Efecto de la temperatura ambiente y la humedad en la viabilidad de ciertas larvas de Protostrongílidos). *Mater. Konf. posvya. panyati. N. V. Bodamina, Tashkent*: 229-230. En ruso.
- 10) NICKEL, S. (1960).—Das Verhalten der freilebenden Erstlarve des kleinen Lungenwurmes *Muellerius capillaris* in Freiland und Labor. *Angew. Parasit. Jena*, **1**, 88-92.
- 11) PAVLOV, P. (1937).—Recherches expérimentales sur le cycle évolutif de *Synthetocaulus capillaris*. *Ann. Parasit. Hum. et Comp.*, **15**, 500-503.
- 12) REGUERA FEO, A.; CORDERO DEL CAMPILLO, M. and ROJO VÁZQUEZ, F. A. (1981).—Survival of L-I of *Muellerius capillaris* (Nematoda, Protostrongylidae) under controlled conditions of humidity and temperature. *II Conferencia Mediterránea de Parasitología, Granada*, 29 sept. a 2 oct., 1981: 56.
- 13) ROSE, J. H. (1957).—Observations on the bionomics of the free-living first stage larvae of the sheep lungworm *Muellerius capillaris*. *J. Helminth.*, **31**, 17-28.
- 14) TRUSHIN, I. N. (1974).—(Viabilidad de las larvas de primer estadio de *Muellerius*, al cabo de soportar el invierno en el medio externo). *Byull. Vsesoy. Inst. Gelm. im K.I. Skryabina*, **14**, 56-60. En ruso.