

Sobrevivencia de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* en un clima subcálido subhúmedo en México

Enrique Liébano Hernández*
Víctor Vázquez Prats*
Manuel Fernández Ruvalcaba*

Abstract

Haemonchus contortus larvae 3 (L₃) was tested in a subhumid subwarm climate AwO(w) during one year using motility as a measure of survival. For this purpose 400 m², divided in 56 plots of 2 × 1m and seeded with Buffel grass (*Cenchrus ciliaris*), were allotted in two groups: short grass (10 cm), and high grass (20 cm). Two experimental plots were contaminated with 30.000 L₃ each one every 15 days, and they were sampled on days 1, 3, 7, 14, 28 and every 28 days thereafter, until samples were negative to infective larvae. Samples were processed by the Baermann and larvae migration techniques. Pluvial precipitation, temperature and relative humidity were recorded at microclimate level, and the two last mentioned ones were also recorded at nanoclimate level. Higher *H. contortus* survival was observed for the months of October, November and December (280, 140 and 224 days for grass; and 252, 224 and 196 days for the ground). The lowest larvae survival was observed in January and February. In this study, the greatest survival of larvae was found in soil samples. Older larvae (280 and 252 days) were found in samples from tall grass. A positive correlation was observed between larvae survival and temperature, humidity and pluvial precipitation with correlation coefficients of 0.75 for microclimate and of 0.85 for nanoclimate.

Key words: HAEMONCHUS CONTORTUS, SURVIVAL, L₃.

Resumen

Con base en su motilidad se determinó la sobrevivencia de larvas infectantes de *Haemonchus contortus* en un clima subcálido subhúmedo Aw0(w), durante un año. En una superficie de 400 m², se demarcaron 56 parcelas de 2 m² cada una, sembradas con pasto Buffel, las cuales se dividieron en dos grupos (pasto corto 10 cm y pasto largo 20 cm). Catorcenalmente se contaminó una de las parcelas junto con su réplica con 30,000 larvas infectantes cada una. Se muestreó pasto y tierra los días 1, 3, 7, 14, 28 poscontaminación y así cada 28 días hasta resultar las muestras negativas a larvas infectantes. Las muestras fueron procesadas por Baermann y migración larvaria. Se registró la precipitación pluvial, temperatura ambiental y humedad relativa a nivel del microclima, y la temperatura y humedad relativa del nanoclima. La mayor sobrevivencia de larvas de *H. contortus* se observó en los meses de octubre, noviembre y diciembre (280, 140, y 224 días en pasto y 252, 224 y 196 días en tierra, respectivamente), observándose que la sobrevivencia de las larvas fue de 9 y 10 meses; por el contrario, los meses donde se encontró menor sobrevivencia de larvas fueron en enero, febrero, marzo, abril y mayo, donde estas últimas sólo lograron sobrevivir durante uno y medio meses. Se observó que las parcelas con larvas de más días de sobrevivencia (280 y 252 días) fueron las que se colocaron en parcelas con pasto largo en comparación con pasto corto. Se observó una correlación positiva entre la sobrevivencia y la temperatura, humedad y precipitación pluvial, con un coeficiente de correlación de 0.75 para el microclima y 0.85 para el nanoclima.

Palabras clave: HAEMONCHUS CONTORTUS, SOBREVIVENCIA, L₃.

Recibido el 23 de septiembre de 1997 y aceptado el 11 de mayo de 1998.

* Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Apartado Postal 206, CIVAC, 62500, Morelos, México.

Introducción

En las regiones tropicales de México, al igual que en muchos otros países del mundo, las enfermedades parasitarias constituyen un importante problema en la ganadería, sobresaliendo por su impacto las nematodosis gastroentéricas y entre éstas la hemoncosis, ocasionada por la presencia y acción del nematodo hematófago del abomaso. *Haemonchus contortus* afecta a rumiantes domésticos y salvajes de todas las edades siendo de particular importancia en los ovinos en los que se presenta como un padecimiento de desarrollo rápido y mortal cuando se trata de una infección masiva, o bien, la infección puede instalarse como un proceso crónico, afectando el estado general del animal. Esta parasitosis frecuentemente se presenta como una infección mixta con otros géneros de nematodos gastroentéricos.

La infección de los rumiantes se lleva a cabo a partir de la ingestión de las larvas infectantes cuyo hábitat es el tallo y hoja del pasto.¹ La L₃ presenta diferentes tropismos, uno de ellos consiste en que poseen un fototropismo negativo a la luz intensa, por lo que tienden a localizarse en la base de los pastos, bajo estas condiciones permanecen estáticas durante las horas de mayor intensidad de luz solar; por el contrario, presentan un fototropismo positivo a la luz tenue; es decir, si la irradiación solar es poca, como sucede al amanecer y al atardecer, las larvas se desplazan con mayor facilidad hacia la punta de los pastos, ambos tropismos provocan una migración vertical que favorece la infección de los rumiantes.^{2,3}

Las condiciones climáticas afectan o favorecen la sobrevivencia de las fases de vida libre de los parásitos. La fase infectante, desde el punto de vista epidemiológico y etiológico, representa el eslabón más importante en la cadena evolutiva ya que tiene la facultad de adaptarse a diversas condiciones de humedad, temperatura, precipitación pluvial, luminosidad y tipo de pasto,^{1,4} estos factores están estrechamente relacionados con la sobrevivencia de las larvas de *H. contortus*, si alguno de estos factores sufre variaciones, la población y distribución de larvas se ve afectada.^{5,6}

La temperatura afecta las actividades de los nematodos, como es la ovoposición, reproducción, movimiento, desarrollo y supervivencia. La mayoría de los nematodos se tornan inactivos a temperaturas bajas entre 5°C y 10°C, la óptima oscila entre 15°C y 30°C, y de nuevo se vuelven inactivas a una temperatura entre 30°C y 40°C, las temperaturas fuera de estos límites pueden ser fatales.⁷

Un factor importante en la sobrevivencia de las larvas lo constituye el microclima inmediato, que según Rosenberg,⁸ es aquel que se registra por encima del suelo a 1.60 m de altura, en donde viven las plantas y los animales. En esta circunstancia también se encuentra el nanoclima, según Levine y Todd,⁹ que es el que se registra en los primeros centímetros sobre el nivel del suelo y por abajo del nivel del suelo, ya que en ese nivel se encuentra el hábitat de las fases juveniles de *H. contortus*.

Material y métodos

El estudio se realizó en las instalaciones del Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Parasitología Veterinaria del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (CENID-INIFAP-SAGAR), ubicado en Jiutepec, Morelos, México, a 18° latitud norte, 99° 14' longitud oeste y a 1 528 msnm, y presenta un clima subcálido subhúmedo Awo (w).¹⁰

Área experimental

El estudio se realizó en una superficie de 400 m², con suelo arenoso. Esta área se sembró al voleo con semillas de pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris*). Una vez implantadas fue dividida en 56 parcelas de 2 m² cada una, dejando una separación de 80 cm entre cada parcela. Se consideraron dos grupos de 28 parcelas cada uno, seleccionadas al azar previa identificación; a las parcelas del primer grupo se le cortó el pasto a 10 cm de altura y el segundo se mantuvo a 20 cm de altura, designándoseles como grupo de pasto corto y pasto alto, respectivamente, con el fin de establecer una comparación entre la sobrevivencia de larvas infectantes de *H. contortus* y la altura del pasto. Para mantener el pasto a las alturas mencionadas durante el estudio, cada vez que fue necesario, el pasto se cortó a mediodía, considerando que a esta hora las larvas se encuentran en la base de las plantas, debido a la intensa luz solar.

Datos meteorológicos

En el área experimental se colocó un higrotermógrafo de ciclo semanal a 1.60 m de altura del suelo para obtener el registro de la temperatura ambiental y humedad relativa del microclima, también se colocó un pluviógrafo de ciclo diario, para registrar la precipitación pluvial.

El nanoclima se registró con un teletermómetro y un psicómetro; las lecturas de temperatura ambiental se realizaron a cinco diferentes alturas: a 5 y 10 cm por abajo del suelo, sobre la superficie del suelo y a 10 y 20 cm de altura sobre el suelo. Los registros de humedad relativa se tomaron a nivel del suelo a 10 y 20 cm, las lecturas se registraron tres veces al día (6, 12 y 19 horas).

Origen de *H. contortus*

Las larvas infectantes de *H. contortus* empleadas durante todo el estudio se obtuvieron de cuatro ovinos infectados experimentalmente con *H. contortus* por intervalos de tres meses cada uno. Del primer ovino positivo se colectaron las heces y se procesaron por la

técnica de coprocultivo de hule espuma¹¹ y así se obtuvieron la fase infectante. Catorcenalmente se cuantificaron 60,000 larvas infectantes de *H. contortus* (L₃Hc), dividiéndose en dos lotes de 30,000 larvas cada uno, mantenidas en agua destilada. El primer lote se empleó para contaminar la parcela con pasto corto y el segundo lote para contaminar la parcela con pasto largo.

Inóculo contaminante

Las 56 parcelas fueron identificadas con un número, siendo de la 1 a la 28 de pasto corto y de la 29 a la 56 de pasto largo, cada catorce días se contaminó al azar una parcela de cada grupo, para lo que se utilizó un marco de madera dividido en 30 secciones de 20 cm cada una, en el centro de cada sección se depositaron 1,000 larvas infectantes de *Haemonchus contortus* suspendidas en agua destilada. La contaminación se llevó a cabo entre las 18:00 y 19:00 horas, con el fin de asegurar la máxima sobrevivencia de las L₃.

Muestras

Los muestreos se realizaron al azar después de la contaminación con larvas infectantes a los días 1,3,7,14 y 28 y las parcelas que continuaron positivas se siguieron muestreando cada 28 días hasta que las muestras recolectadas fueran negativas a larvas infectantes durante tres muestreos continuos. El muestreo consistió en obtener la totalidad de los 20 cm cuadrados de pasto de la subparcela y hasta 10 cm de profundidad de tierra, tomando al azar dos secciones de 20 cm de cada subparcela entre las 6:00 y las 7:00 a.m.

Los métodos empleados para su obtención fueron los de migración larvaria¹² para las muestras de pasto y la técnica de Baermann de embudo,¹¹ en las muestras de tierra, donde también se localizan larvas de los nematodos.¹³

Se realizaron correlaciones¹³ para determinar las diferencias estadísticas entre las alturas de pasto y mes de contaminación de las parcelas, con los registros del microclima y del nanoclima.

Resultados

En la Figura 1 se muestra la sobrevivencia de larvas infectantes de *H. contortus*, observándose que la mayor sobrevivencia fue en las parcelas contaminadas en octubre (280 días en pasto alto, 196 en pasto corto y 252 días en tierra), noviembre (140 días pasto alto, 224 días pasto corto y en tierra) y diciembre (224 días en pasto alto, 140 días en pasto corto y 196 días en tierra). La menor sobrevivencia se observó en septiembre (56 días en pasto alto, 112 días en pasto corto y tierra), en enero (140 días en pasto largo y corto y 112 días en tierra), en febrero (56 días en ambas alturas del pasto, así como en

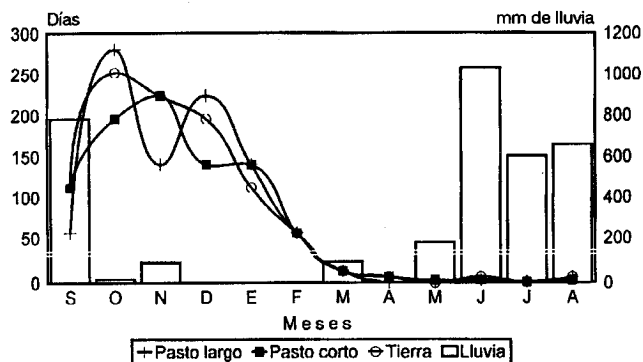


Figura 1. Sobrevivencia de larvas infectantes de *Haemonchus contortus*.

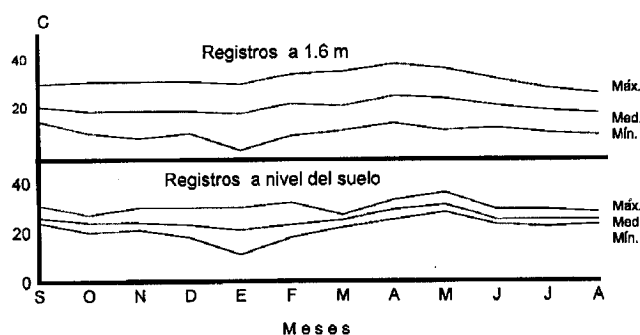


Figura 2. Temperatura ambiental a 1.6 m y a nivel del suelo en Jiutepec, Morelos, México.

la tierra), y en marzo (14 días en ambas alturas de pasto y tierra). De abril a agosto se observaron las sobrevivencias más bajas del estudio (0, 0, 3, 1 y 7 días en pasto alto; 7, 3, 3, 1 y 3 días en pasto corto; 7, 0, 7, 1 y 7 días en tierra, respectivamente).

La Figura 1 también muestra la precipitación pluvial, detectándose que en los tres meses de mayor sobrevivencia, octubre, noviembre y diciembre (18, 98 y 0 mm), los registros fueron muy bajos en comparación con los meses con mayor lluvia junio, julio y agosto (1031, 602 y 656 mm, respectivamente). En septiembre se obtuvo un registro de 783 mm, pero en enero y febrero no se obtuvieron registros; sin embargo, en marzo, abril y mayo se registraron 103, 0 y 177 mm, respectivamente.

En cuanto a la temperatura en el nanoclima o superficie del suelo, para octubre, noviembre y diciembre los registros en promedio fueron de 24, 24 y 23°C, respectivamente, variando las temperaturas mínimas entre 18 y 21°C y las máximas entre 27 y 30°C; para septiembre, enero y febrero fue de 26, 21 y 23°C, respectivamente, las mínimas variaron entre 11 y 18°C, y las máximas entre 30 y 32°C; en marzo la temperatura promedio fue de 25°C, con mínima de 22°C y máxima de 27°C. En el periodo de abril a agosto se registraron los promedios de temperatura más elevados de los 12 meses en que se llevó a cabo la presente investigación, siendo 29, 31, 25, 25 y 25°C, respectivamente, las mínimas fueron entre 22 y 25°C y las máximas entre 28 y 36°C. Respecto del

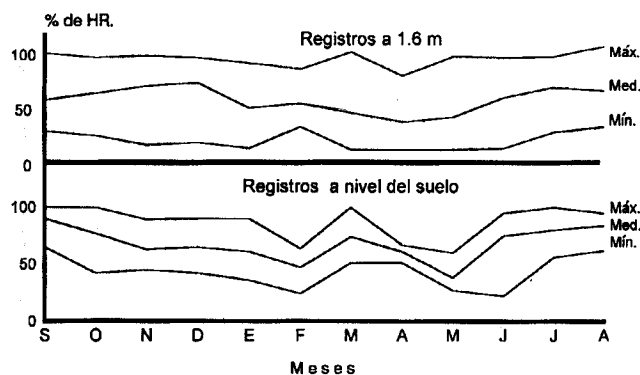


Figura 3. Humedad relativa (HR) a 1.6 m y al nivel del suelo en Jiutepec, Morelos, México.

microclima, el promedio de temperatura ambiental durante octubre, noviembre y diciembre fue de 19°C, las mínimas variaron entre 8 y 10°C, las máximas fueron de 31°C; para septiembre, enero y febrero fueron de 21, 18 y 22°C, respectivamente, las mínimas variaron entre 11 y 24°C y las máximas entre 30 y 32°C; en marzo el promedio fue de 21°C, con mínima de 11°C y máxima de 35°C. En el periodo de abril a agosto, se registraron los promedios de temperatura más elevados de los 12 meses en que se llevó a cabo la presente investigación, de abril a agosto las temperaturas promedio fueron 25, 24, 21, 19 y 18°C, las mínimas registradas fueron entre 9 y 14°C y las máximas entre 26 y 38°C (Figura 2).

Los registros de humedad relativa a nivel del suelo fueron de 77%, 63% y 65% en promedio para octubre, noviembre y diciembre; las mínimas fueron de entre 42% y 45%, y las máximas entre 89% y 100%; en septiembre, enero y febrero, los promedios fueron de 90%, 61% y 47%, las mínimas entre 24% y 65%, y las máximas entre 64% a 100%; para marzo fue de 74% con mínima de 51% y máxima de 100%. Durante abril a agosto la humedad fue de 61%, 38%, 75%, 80% y 84%, las mínimas variaron entre 22% y 62%, y las máximas entre 60% y 100%. Mientras que para el microclima la humedad fue de 49%, 55% y 58% para octubre, noviembre y diciembre, las mínimas variaron entre 4% y 12% y las máximas entre 80% y 82% en septiembre, enero y febrero; los promedios fueron de 43%, 36% y 40%, las mínimas entre 1% y 20% y las máximas entre 70% a 84%, para marzo fue de 32% y 0% y 85% como mínima y máxima, en el periodo de abril a agosto se observaron los registros más bajos, siendo 24%, 28%, 45%, 54% y 51% con mínimas entre 0% y 20% y las máximas entre 64% y 90% (Figura 3).

Estadísticamente se observó una correlación positiva entre la sobrevivencia y la temperatura, humedad y precipitación pluvial, con un coeficiente de correlación de 0.75 para el microclima y 0.85 para el nanoclima.

Discusión

En relación con la recuperación larvaria, a partir de muestras de tierra y pasto se observó que durante los 12

meses fue mayor el número de larvas que sobrevivieron en muestras de tierra, mas no así en las de pasto, en donde sólo se recuperaron L₃ por 8 meses (parcelas infectadas en marzo, abril, mayo, junio, agosto, noviembre y diciembre). En sólo 4 de los meses la mayor sobrevivencia sucedió en los pastos (septiembre, octubre, noviembre y febrero), lo que concuerda con Fincher y Stewart,¹⁵ quienes con otro nematodo de la familia Trychostrongylidae, *Ostertagia ostertagi*, aseguran que el suelo es un reservorio importante de un considerable número de larvas infectantes, las cuales durante condiciones adversas pueden migrar para retornar a la pastura cuando las condiciones son favorables.

Croll¹⁶ y Quiroz¹⁷ indican que las larvas tienen la capacidad de penetrar en el suelo donde las condiciones son más favorables, por lo que sobreviven más fácilmente en ese nivel. En suelos arenosos las larvas pueden moverse y penetrar con más facilidad que en los arcillosos, por lo que desde el punto de vista del tipo de suelo, el arenoso es favorable a las L₃ para sobrevivir, esta condición ayudó a que las larvas de la presente investigación se encontraran en mayor cantidad y número en el suelo que en el pasto. En relación con el tamaño de pasto, se observó que las parcelas con larvas de más tiempo de sobrevivencia (280 días), fueron L₃ colocadas en parcelas con pasto largo, en comparación con parcelas con pasto corto en que las L₃ sobrevivieron un tiempo máximo 224 días, esto puede ser debido al mayor porcentaje de humedad mantenida en parcelas con pasto largo.

Dunn¹⁸ menciona que en el hábitat de las larvas el tamaño del pasto es un factor importante, ya que le brinda protección de los rayos solares, además de conservar mayor cantidad de humedad en la base del pasto; de esta manera proporciona mayores condiciones de sobrevivencia, lo anterior indica que en pastos normales, con buen crecimiento, hay hasta 90% de humedad, aun después de tres semanas de desecación, formándose también burbujas de aire entre las hojas del pasto, lo cual funciona a manera de aislante. Gwendoleen¹⁹ menciona que la capa vegetal ayuda a la sobrevivencia de las larvas, ya que en ese lugar encuentran su hábitat, pudiendo ser protegidas por el tipo de pasto y por su capacidad de migración vertical, prolongando su vida hasta que las reservas alimenticias se agoten.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.05$) entre los registros del microclima y del nanoclima, estas últimas fueron evidentes tanto en la temperatura máxima como en la mínima (entre 7 y 5°C de diferencia, respectivamente). Esta misma observación se determinó en relación con la humedad máxima y mínima con 20% y 12% de diferencia, lo anterior pudo deberse a que los registros microclimáticos fueron realizados a partir de aparatos colocados a 1.60 m sobre el nivel del suelo.²⁰ Sin embargo, a pesar de esto último, Smith²¹ considera que aunque la medición microclimática y los registros obtenidos por las estaciones meteorológicas no son las que están más en estrecho

contacto con las larvas en estudio, sí pueden dar una idea de lo que ocurre en el ambiente y su recuperación en el nanoclima y, por lo tanto, en la sobrevivencia de la fauna parasitaria. A pesar de que el nanoclima se encuentra en más contacto con los parásitos, existen pocos estudios, tanto con *H. contortus* como con otros vermes.

Las observaciones del presente estudio permiten afirmar que las condiciones climáticas del nanoclima son de gran importancia para la sobrevivencia de las larvas infectantes de *H. contortus*, encontrándose a ese nivel las condiciones propicias tanto de humedad como de temperatura requeridas para su mayor sobrevivencia. Algunas ocasiones se observó que las condiciones ambientales del microclima eran adversas para el estadio libre del verme; sin embargo, las condiciones del nanoclima no lo eran o viceversa, se notó que fue siempre el nanoclima el que dio la pauta para la mayor sobrevivencia larvaria. Esto último concuerda con lo mencionado por Quiroz,¹⁷ quien considera que el ambiente de las larvas en el pasto es un factor importante y que depende de la humedad del suelo principalmente, del balance entre la precipitación y la evotranspiración, así como del pH y consistencia del suelo; esto es otro factor importante en la transpiración de las plantas ya que esta circunstancia aporta un grado de humedad que es aprovechado por las larvas; estos factores, en combinación con el tipo de clima, estación del año, condiciones de pastoreo y carga parasitaria del potrero, determinan el potencial de transmisión parasitaria.

Respecto de la época de mayor sobrevivencia, los resultados del presente trabajo difieren de las observaciones realizadas por Grant,²² Altaif y Yakoob,²³ Gordon²⁴ y Levine *et al.*,²⁵ quienes mencionan que la mayor sobrevivencia de L₃ coincide con los meses de mayor precipitación pluvial. En la presente investigación las observaciones indican que dicha condición sucedió durante los tres meses previos a los de mayor sobrevivencia (junio, 1031; julio, 602; y agosto, 652 mm) presentándose un marcado descenso pluvial en los meses de mayor sobrevivencia de las L₃, estas observaciones concuerdan con lo descrito en México por Vázquez y Nájera,²⁶ y por Grant²² en Zimbawe, quienes también observaron un marcado descenso de la precipitación pluvial en los meses en que se encontró la mayor sobrevivencia de L₃, efecto que atribuye al tipo de suelo utilizado, y que fue similar al del presente trabajo, ya que este tipo de suelo tiene la capacidad de absorber y almacenar la humedad, lo cual se ve reflejado en los registros de humedad relativa del nanoclima de los meses posteriores.

Estadísticamente se observó que hay diferencia ($P < 0.05$) entre los registros de humedad relativa y temperatura del micro y del nanoclima, además de que se observó una correlación del 75% entre la sobrevivencia de larvas infectantes con los registros microclimáticos registrados y del 85% para los registros nanoclimáticos obtenidos en el estudio.

Referencias

1. Soulsby EJ. Parasitología y enfermedades parasitarias en los animales domésticos. México (DF): Nueva Editorial Interamericana, 1987:215-235.
2. Levine ND. Weather and the ecology of bursate nematodes. *Int J Biometeorol* 1980;24:341-345.
3. Fernandez RM, Vazquez PV, Liebano HE. Development and recovery of *Haemonchus contortus* first larval stages on experimental plots in Mexico. *Vet Parasitol* 1989;51:263-269.
4. Clark LG. Elementos de ecología. La Habana (Cuba): Instituto Cubano del Libro, 1975.
5. Kenneth ST, Levine ND, Boatman AP. Effect of temperature on survival of free living stages of nematode *Haemonchus contortus*. *Am J Vet Res* 1976;37:991-992.
6. Ravinovich I. Ecología de poblaciones animales. México (DF): CECSA, 1985.
7. Nansen P. Production losses and control of helminths in ruminants of temperate regions. *Int J Parasitol* 1987;17:425-432.
8. Rosenberg NJ. Microclimate. The biological environment. New York: John Wiley and Sons, 1974:302-315.
9. Levine ND, Todd KS. Micrometeorological factors involved in development and survival of free-living stages of sheep nematodes *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. *Int J Biometeorol* 1975;19:174-183.
10. INEGI. Síntesis geográfica de Morelos. México (DF): Coordinación de Servicios Nacionales de Estadística, Geografía e Informática (INEGI), Secretaría de Programación y Presupuesto, 1981.
11. Liébano HE. Cultivo e identificación larvaria de nematodos del tracto gastroentérico. Diagnóstico de helmintos y hemoparásitos de rumiantes. México (DF): Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria, A.C., 1989.
12. Liébano HE, Mejía GA. Modificación a la técnica de migración larvaria para forrajes en la obtención de larvas de nematodos gastroentéricos. Memorias de la V Reunión de Parasitología Veterinaria. Toluca (Edo. de México): Asociación Mexicana de Parasitología Veterinaria, A.C., 1984:186-195.
13. Boag BE, Thomas RL. Epidemiological studies on gastrointestinal nematode of sheep: the control of infection in lambs on clean pasture. *Res Vet Sci* 1977;22:62-67.
14. Daniel VW. Biostatística, base para el análisis de las ciencias de la salud. México (DF): Limusa, 1982.
15. Fincher GT, Stewart TB. Vertical migration by nematode larvae of cattle parasites. *Thorough Soil USA Proc Helminth Soc Washington*, 1979:46:43-46.
16. Croll NA. Behavioural analysis of nematode movement. *Adv Parasitol* 1975;13:71-122.
17. Quiroz RH. Parasitología y enfermedades parasitarias de los animales domésticos. México (DF): Limusa, 1984.
18. Dunn AM. Helminología veterinaria. 3ª ed. México (DF): El Manual Moderno, 1983.
19. Gwendoleen R. Observations on the vertical migrations of the 3rd stage of *Haemonchus contortus* on experimental plots of *Lolium perenne* in relation to meteorological factors. *Parasitology* 1981;4:1128-1135.
20. Rosenberg NJ. Micrometeorological factors involved in development and survival of free living stages of sheep nematodes. *Int J Biomet* 1975;3:174-183.
21. Smith LP. Meteorological factors of importance in biological systems. *Br Soc Parasitol* 1974;12:13-32.
22. Grant JL. Epizootiology of nematode parasites of sheep in a high-rainfall area in Zimbabwe. *J SA Vet Assoc* 1981;52:32-52.