

## Efecto de la temperatura sobre la longevidad e infección, de los juveniles de *Strelkovimermis spiculatus* (Nemata: Mermithidae), parásito de culícidos

María F. Achinelly<sup>1</sup> & Juan J. García<sup>1,2</sup>

- 1 Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE). Calle 2, N° 584 (1900) La Plata, Argentina. Fax: (54) 221-4-23-23-27; fernanda@museo.fcnym.unlp.edu.ar
- 2 Investigador CIC

Recibido 19-VII-2001. Corregido 13-XI-2002. Aceptado 28-III-2003.

**Abstract:** *Strelkovimermis spiculatus* is a common parasite of culicid species in Argentina. Effect of temperature on longevity and infectivity of juvenile preparasites of *S. spiculatus* was determined at 4, 10, 20 and 27°C. Three containers with 100 ml of dechlorinate water and 300 preparasites (12 hour-old), were placed for each day and temperature, during 40 days (total = 480 containers). Survived preparasites were counted on 12 containers per day (three for each temperature). When number of survived preparasites was determined, second instar larvae of *Aedes aegypti* were added to each container in a 10:1 ratio (preparasites:mosquito) to determine infectivity of daily survived preparasites. Longevity of preparasites decreased at higher temperatures. Maximum longevity of preparasites maintained at 4, 10, 20 and 27°C were 35, 30, 25 and 27 days, respectively. Survivorship of preparasites, exposed to the same temperatures, varied from 57% to 100% at day two, from 21% to 77% at day five and from 9% to 33% at day ten. Infectivity of preparasites maintained at temperatures from 4 to 27°C was always higher than 70%. Extended longevity with maintenance of the infectivity capacity of preparasites, are important attributes to consider *S. spiculatus* an effective mean of controlling a large number of culicid species between 4 and 27°C.

**Key words:** Nematode, Mermithidae, *Strelkovimermis spiculatus*, Culicidae, *Aedes aegypti*, longevity, parasitism.

*Strelkovimermis spiculatus* Poinar y Camino, 1986 fue descrito parasitando larvas del mosquito neotropical, *Ochlerotatus albifasciatus* (Macquart) en la Argentina (Poinar y Camino 1986). Las epizootias producidas por *S. spiculatus* en poblaciones naturales de *O. albifasciatus* son comunes, constituyendo uno de los principales agentes reguladores de este culicido en la naturaleza (Micieli y García 1999). *Strelkovimermis spiculatus* presenta un espectro amplio de hospederos susceptibles (García *et al.* 1994) y puede ser producido masivamente *in vivo* en forma relativamente sencilla (Camino y Reboledo 1996). En la naturaleza se lo ha citado parasitando mosquitos en ambientes temporarios que han permanecido sin agua por

largos períodos de tiempo (Maciá *et al.* 1995, Micieli y García 1999). Además, *S. spiculatus* fue citado parasitando larvas de *Culex pipiens* L. en ambientes permanentes y con elevado contenido de materia orgánica (García y Camino 1990). Estas características convierten a *S. spiculatus* en un candidato promisorio para ser utilizado como agente de control biológico de culicidos.

La temperatura es un factor importante, que generalmente afecta la actividad como agente de control de la mayoría de los parásitos y patógenos de insectos. La utilización eficiente de *S. spiculatus* en el manejo de culicidos, requerirá de estudios profundos, tendientes a determinar el efecto de los factores

ambientales en la biología de este nemátodo. El presente trabajo pretende, determinar el efecto de la temperatura sobre la longevidad y la infectividad de los juveniles preparásitos de *S. spiculatus*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En el estudio se utilizaron larvas de *Ae. aegypti* (L.) como hospedero alternativo para el parásito debido a la imposibilidad de colonizar en el laboratorio *O. albifasciatus*, el hospedero natural de *S. spiculatus*. Las larvas de *Ae. aegypti* se obtuvieron de la colonia instalada en el CEPAVE, Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, La Plata, Argentina. Los mosquitos adultos se mantuvieron en jaulas (50 x 50 x 50 cm) y se les alimentó con una solución de sacarosa (10%) y una ingesta sanguínea semanal, sobre una gallina inmovilizada, colocada en el interior de la jaula durante 1 hr. Las hembras grávidas depositaron los huevos sobre un papel absorbente, colocado en el interior de un recipiente con agua, ubicado dentro de la jaula. Transcurridos tres días, los papeles con los huevos se colocaron en bandejas plásticas (40 x 30 x 5 cm) con agua sin cloro para la eclosión de las larvas, a las que se les suministró alimento balanceado molido hasta llegar al estadio de pupa. Las pupas se colocaron en recipientes con agua y se ubicaron dentro de la jaula hasta la emergencia de los adultos.

Los juveniles preparásitos de *S. spiculatus* se obtuvieron de la colonia instalada en el CEPAVE. Para su mantenimiento se utilizó el método descrito por Camino y Reboredo (1996) para la producción de *S. spiculatus*, a su vez basado en el método original de Petersen y Willis (1972) para *Romanomermis culicivorax* Ross y Smith, 1976. El método consiste en recolectar los juveniles postparásitos emergidos de las larvas parasitadas, lavarlos con agua y separarlos en grupos de 1 g (peso húmedo; aproximadamente 2000 nemátodos). Cada grupo se colocó en cajas plásticas (15 x 10 x 2 cm) con 1 cm de arena lavada y esterilizada y se

agregó agua sin cloro hasta 2 cm de profundidad. Luego de una semana, durante la cual los nemátodos se introdujeron en la arena, se eliminó el exceso de agua de las cajas y los cultivos con arena húmeda se mantuvieron a temperatura ambiente y en oscuridad durante cuatro semanas adicionales. A partir de la sexta semana, las cajas se inundaron con 200 ml de agua sin cloro, durante 12 hr, hasta la eclosión de los juveniles preparásitos. El agua con los preparásitos se colocó en una probeta graduada, la muestra se hizo homogénea por agitación y se realizaron diluciones volumétricas que facilitaron la cuantificación de los nemátodos. Se determinó, al estereoscopio, el número de preparásitos en diez alícuotas de 1 ml de la suspensión más diluida.

La longevidad de los preparásitos se investigó durante 40 días a cuatro temperaturas, 4, 10, 20 y 27°C. Inicialmente, se colocaron tres recipientes plásticos de 250 ml para cada día y temperatura, en total 480 recipientes. Al día cero, se agregaron 100 ml de agua sin cloro y 300 preparásitos (de 12 hr de emergidos) en cada uno de los 480 recipientes. A intervalos de 24 hr se retiraron tres recipientes de cada temperatura, se dejaron 30 min a temperatura ambiente y se cuantificaron los preparásitos móviles en diez alícuotas de 1 ml. Determinada la mortalidad de los juveniles preparásitos para cada día, se incorporaron larvas de segundo estadio de *Ae. aegypti* a los recipientes, en una relación de una larva de mosquito por cada diez preparásitos móviles. Cuando el número de nemátodos fue menor a diez, se agregó una larva de *Ae. aegypti* por recipiente. Luego de 24 hr en contacto, se eliminaron los preparásitos haciendo pasar el agua de los recipientes por una red, que retuvo las larvas de *Ae. aegypti* y permitió el paso de los preparásitos. Las larvas se colocaron en recipientes similares con 100 ml de agua sin cloro y se les alimentó cada 48 hr hasta que llegaron a pupa. Las larvas de *Ae. aegypti* en cuarto estadio se colocaron individualmente en placas de cultivo de 24 celdas, con 3 ml de agua por celda, hasta la emergencia de los postparásitos. Luego se determinó el porcentaje de

parasitismo y la intensidad (número de nemátodos por larva parasitada) para cada día y temperatura.

La longevidad máxima de los preparásitos a las diferentes temperaturas se comparó estadísticamente con el análisis de varianza de una vía y las comparaciones múltiples fueron estudiadas con la prueba de Tukey.

## RESULTADOS

### Efecto de la temperatura sobre la longevidad de los juveniles preparásitos de *S. spiculatus*:

La movilidad o ausencia de la misma fue el criterio utilizado para la diferenciación de los preparásitos vivos o muertos, respectivamente. Los preparásitos muertos, en general, se hallaron extendidos y flotando en la superficie del agua de los recipientes.

La longevidad de los preparásitos decreció a temperaturas elevadas (Cuadro 1). La longevidad máxima presentó diferencias significativas ( $F=76$ ,  $gl=3.8$ ,  $p<.001$ ), siendo mayor a la temperatura de 4 y 10°C (Tukey  $p<.05$ ). Ésta

presentó un máximo de 35 días a 4°C (0.6%), 30 días a 10°C (0.8%), 25 días a 20°C (0.5%) y 27 días a 27°C (0.7%). A las 48 hr 57%, 87%, 100% y 63% de los preparásitos sobrevivieron a 4, 10, 20 y 27°C respectivamente. Entre 21% y 77% de los preparásitos, presentaron movilidad luego de expuestos a esas temperaturas durante cinco días, mientras que, a los diez días la longevidad de los preparásitos varió entre 9% y 33% (Fig.1).

### Relación entre la movilidad de los juveniles preparásitos y su infectividad:

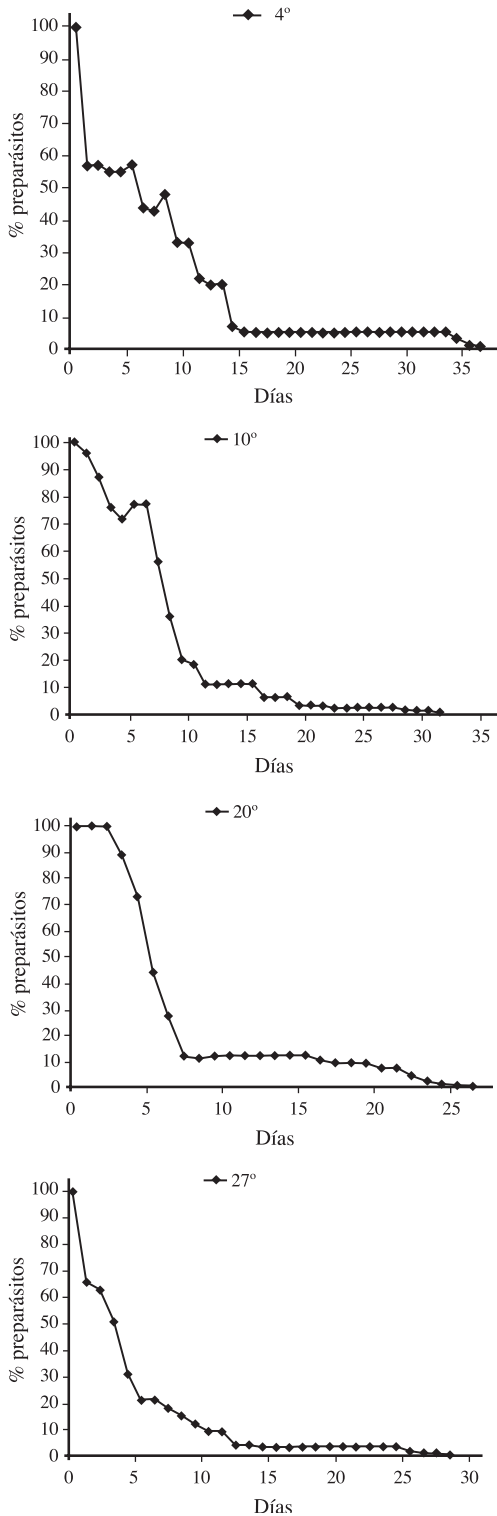
La relación entre la movilidad de los preparásitos y la capacidad para parasitar larvas de *Ae. aegypti*, fue estudiada a 4, 10, 20 y 27°C. Los preparásitos expuestos a 4°C infectaron larvas de *Ae. aegypti* durante los 35 días que permanecieron móviles; el porcentaje de larvas parasitadas varió entre 85% y 100% con intensidades entre 1 y 2 nemátodos por larva parasitada. Los preparásitos mantenidos a 10°C parasitaron entre 80% y 100% de las larvas expuestas durante los 30 días de longevidad, oscilando la intensidad entre 1 y 2.4 nemátodos por larva. El parasitismo producido por los preparásitos,

CUADRO 1

*Supervivencia e infectividad de S. spiculatus a 4, 10, 20 y 27°C*  
*Survival and infectivity of S. spiculatus at 4, 10, 20 y 27°C*

Días	Temperatura											
	4°			10°			20°			27°		
	N	P	I	N	P	I	N	P	I	N	P	I
0	300	85	1.6	300	100	2.4	300	70	1.2	300	83	1.5
1	170	97	1.0	300	90	2.1	300	100	3.6	197	94	1.8
2	170	100	2.2	290	90	1.6	300	100	3.1	190	97	2.3
5	164	100	1.0	231	80	1.5	131	100	2.6	63	100	2.1
10	98	100	1.8	53	97	1.9	36	100	4.0	28	100	1.3
15	15	100	1.5	33	90	1.5	35	100	1.9	6.0	100	1.0
20	15	100	2.0	9	95	1.5	20	84	1.0	6.0	100	1.0
25	15	100	2.0	6	95	1.0	2	88	1.0	4.0	100	1.0
26	15	100	2.0	6	95	1.0	0	-	-	2.0	100	1.0
27	15	100	1.5	6	95	1.0	-	-	-	2.0	100	1.0
28	15	100	1.5	4	95	1.0	-	-	-	0	-	-
30	15	100	1.5	2	90	1.0	-	-	-	-	-	-
31	15	100	1.5	0	-	-	-	-	-	-	-	-
35	2	100	1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
36	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

N=número de preparásitos vivos de *S. spiculatus*, P=porcentaje de parasitismo, I=número de preparásitos por larva.



mantenidos a 20°C, fluctuó entre 70 y 100% durante los 25 días que se observaron preparásitos móviles; en este caso la intensidad del parasitismo por *S. spiculatus* varió entre 1 y 4 nemátodos por larva de *Ae. aegypti*. Los juveniles preparásitos que permanecieron viables durante 27 días a 27°C fueron infectivos y produjeron porcentajes de parasitismo entre 83% y 100%; el número de parásitos varió entre 1 y 2.3 nemátodos por larva de *Ae. aegypti* parasitada (Cuadro 1).

## DISCUSIÓN

La longevidad de los juveniles preparásitos de *S. spiculatus* varió con la temperatura. Los preparásitos expuestos a temperaturas entre 4 y 27°C conservaron la movilidad entre 35 y 27 días posteriores a su eclosión, respectivamente. Estos datos coinciden con las observaciones previas de Micieli y García (1999), sobre una población natural de *S. spiculatus* en la que recolectaron juveniles preparásitos libres y móviles durante períodos superiores a 7 días, incrementándose la longevidad de los preparásitos en los meses con temperaturas bajas. Estos datos difieren notablemente de los resultados aportados por Camino y Reboredo (1994) que determinaron que los preparásitos de *S. spiculatus* mantenidos en condiciones de laboratorio y a temperatura de 20°C fueron viables 24 hr, mientras que, los preparásitos que no penetraron en larvas de mosquito murieron entre 30 y 48 hr. Brown y Platzer (1977) demostraron que la movilidad de los preparásitos de *R. culicivora* decreció más rápidamente a temperaturas elevadas, variando entre dos días a 37°C y seis días entre 1 y 12°C.

Fig. 1. Supervivencia (%) de los preparásitos de *S. spiculatus* a 4, 10, 20 y 27°C.

Fig. 1. Survival (%) of preparasitic *S. spiculatus* at 4, 10, 20 y 27°C.

Camino y Reboredo (1994) también mencionan que los preparásitos de *S. spiculatus* fueron infectivos exclusivamente durante las 24 hr post-eclosión, mientras que nuestros resultados, señalan porcentajes de parasitismo superiores a 70% durante todo el período que los nemátodos permanecieron móviles, en las cuatro temperaturas a las que fueron expuestos.

*Romanomermis culicivorax* produjo porcentajes de parasitismo más elevados a temperaturas entre 21 y 33°C que a temperaturas menores (12-18°C), aunque el parasitismo disminuyó más rápido a temperaturas mayores que a menores (Brown y Platzer 1977). Petersen (1975), en un estudio sobre la variación del parasitismo de *R. culicivorax* a temperaturas entre 24 y 27°C, encontró que el porcentaje de parasitismo en larvas de *Cx. pipiens* declinó rápidamente luego de 24 hr, siendo casi nulo a las 72 hr.

La longevidad prolongada, acompañada por la conservación de la capacidad infectiva de los preparásitos de este mermítido, indican que *S. spiculatus* sería un agente efectivo para el control de un número importante de especies de culícidos a temperaturas entre 4 y 27°C.

## RESUMEN

El nemátodo mermítido *S. spiculatus* es un parásito común de culícidos de la Argentina. Presenta características que lo distinguen de otros mermítidos parásitos de culícidos y lo convierten en un promisorio candidato como agente de control biológico de mosquitos. La temperatura es un factor importante en la eficiencia de muchos entomopatógenos y su efecto debe ser determinado previo a la evaluación de campo de los mismos. En este trabajo, se investigó el efecto de la temperatura sobre la longevidad e infectividad de los juveniles preparásitos de *S. spiculatus*. Se expusieron preparásitos a 4, 10, 20 y 27°C durante 40 días. Diariamente se cuantificó el número de juveniles preparásitos móviles a cada temperatura y luego se agregaron larvas de segundo estadio de *Ae. aegypti* para determinar la capacidad infectiva de los preparásitos. La longevidad máxima de los preparásitos fue 35, 30, 25 y 27 días a 4, 10, 20 y 27°C, respectivamente. A las 48 hr, el porcentaje de preparásitos móviles varió entre 57% y 100% a las temperaturas citadas, disminuyendo entre 21% y 77% al día 5 y entre 9% y 33% al día 10. El porcentaje de parasitismo de

los preparásitos fue superior a 70% a las cuatro temperaturas y la intensidad parasitaria varió entre 1 y 4 nemátodos por larva. La prolongada longevidad de los preparásitos, sin disminución de la capacidad infectiva, constituye una característica importante de *S. spiculatus* como potencial agente de control biológico de numerosas especies de culícidos a temperaturas entre 4 y 27°C.

## REFERENCIAS

- Brown, B.J. & E.G. Platzer. 1977. The effect of temperature on the infectivity of *Romanomermis culicivorax*. J. Nematol. 9: 166-172.
- Camino, N.B. & G.R. Reboredo. 1994. Biología de *Strelkovimermis spiculatus* Poinar y Camino, 1986 (Nematoda: Mermithidae) parásito de mosquitos (Diptera: Culicidae) en condiciones de laboratorio. Neotrópica 40: 45-48.
- Camino, N.B. & G.R. Reboredo. 1996. Producción de *Strelkovimermis spiculatus* Poinar y Camino, 1986 (Nematoda: Mermithidae). Neotrópica 42: 47-50.
- García, J.J. & N.B. Camino. 1990. Primera cita para la Argentina de infecciones naturales en larvas de *Culex pipiens* L. (Diptera. Culicidae). Neotrópica 36: 83-86.
- García, J.J., R.E. Campos & A. Maciá. 1994. Prospección de enemigos naturales de Culicidae (Diptera) de la Selva Marginal de Punta Lara, Provincia de Buenos Aires, República Argentina. Rev. Acad. Colomb. Cienc. XIX (72): 209-215.
- Maciá, A., J.J. García & R.E. Campos. 1995. Bionomía de *Aedes albifasciatus* y *Aedes crinifer* (Diptera. Culicidae) y sus enemigos naturales en Punta Lara, Provincia de Buenos Aires, República Argentina. Neotrópica 41: 43-50.
- Mieli, M.V. & J.J. García. 1999. Estudios epizootiológicos de *Strelkovimermis spiculatus* Poinar y Camino, 1986 (Nematoda, Mermithidae) en una población natural de *Aedes albifasciatus* Macquart (Diptera, Culicidae) en la Argentina. Misc. Zool. 22.2: 31-37.
- Petersen, J.J. 1975. Development and fecundity of *Reesimermis nielsenii*, a nematode parasite of mosquitoes. J. Nematol. 7: 211-214.
- Petersen, J.J. & O.R. Willis. 1972. Procedures for the mass rearing of a mermithid parasite of mosquitoes. Mosq. News 32: 226-230.
- Poinar, G.O.Jr. & N.B. Camino. 1986. *Strelkovimermis spiculatus* n. sp. (Mermithidae: Nematoda) parasitizing *Aedes albifasciatus* Mac. (Culicidae: Diptera) in Argentina. J. Nematol. 18: 317-319.

