Motilité et infestivité des larves L₁ de Protostrongylides :

Facteurs de variation

par J. CABARET

Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, B.P. 704, Rabat-Agdal (Maroc).

RESUME. Des Mollusques terrestres ont été infestés afin de relier l'infestivité et la mobilité des larves L₁ de Protostrongylidés. Divers facteurs, tels l'âge des larves, leur densité, la composition du liquide de conservation et la température, ont été appréciés quant à leur action sur la mobilité des larves L₁.

Une relation nette existe entre la mobilité et l'infestivité des larves L₁. L'âge, la densité des larves, le froid influencent négativement leur activité. L'augmentation de température et des concentrations optimales des sels de magnésium, calcium et sodium provoquent un accroissement de leur mobilité. Des variations induites de motilité provoquent des fluctuations similaires de l'infestivité.

Motility and infestivity of first-stage Protostrongylid larvae. Factors of variation.

SUMMARY. The infection of land-snails was realised in order to relate the motility of Protostrongylid first-stage larvae to their infectivity. Various factors such as the age of larvae, their density, the composition of the conservation liquid and the temperature, were tried on the motility of larvae.

A clear relation appeared between motility and infestivity of larvae. The age, density of larvae, and cold did influence negatively their motility. On the contrary increases in temperature and optimal concentrations of magnesium, calcium and sodium salts did influence positively the motility. Induced variations of motility did provoke related fluctuations of infestivity.

Accepté le 17 avril 1980.

L'infestivité des larves du premier stade (L_1) de Protostrongylidés diminue avec l'âge : Cabaret, 1979. Le phénomène de décroissance de l'infestivité en fonction de l'âge n'est pas particulier aux Protostrongylidés ; il a été également mis en évidence pour les miracidies de *Schistosoma mansoni* et de *S. haematobium* : Prah et James, 1977. Ceci peut être imputé soit au taux de mortalité croissant des larves, soit à une diminution de leur mobilité. Nous avons retenu ce dernier critère en raison de la facilité de son appréciation.

Le vieillissement n'est vraisemblablement pas le seul facteur de variation de la mobilité. La densité des larves dans le liquide d'infestation pourrait avoir une action sur la mobilité et l'infestivité des larves L_1 comme cela est suggéré par les résultats obtenus lors d'infestation de *Cochlicella conoidea* (Cabaret et Dakkak, 1979) ; les degrés d'infestation sont peu différents pour des doses infestantes de 300 à 1 200 larves L_1 par Mollusque, ce qui pourrait être rapporté à l'action défavorable des hautes densités larvaires. Le nombre de facteurs recensés intervenant sur la mobilité des larves L_1 de Protostrongylidés est très limité. Il n'en est pas de même pour d'autres stades larvaires, dont l'hôte intermédiaire est un Mollusque. La température à laquelle sont maintenus les miracidies de *S. mansoni* : Walle, Pellegrino et Gazzinelli, 1974 fait varier leur activité. La composition du milieu de conservation joue un rôle sur l'activité des miracidies de *Schistosomes* : McInnes 1965, et Becker et Lutz 1976, Sponholtz et Short 1976, ainsi que sur celles de *Fasciola hepatica* : Wilson et Denison 1970. Les ions sodium, calcium et magnésium semblent jouer un rôle particulièrement important, d'autant plus que certains Mollusques modifient la composition originale du milieu d'infestation : Thomas et Rough 1974. L'influence de la température et de la composition du milieu de conservation, établie sur des stades larvaires de Trématodes dont le comportement et la durée de vie diffèrent de ceux des Protostrongylidés, ne peut donc être *a priori* étendue à ces derniers.

Le but de ce travail sera dans un premier temps, la mise en évidence éventuelle d'une relation entre la mobilité et l'infestivité. Dans un second temps divers facteurs de variation de la mobilité (température ; ions sodium, calcium et magnésium ; densité larvaire dans le liquide de conservation) seront examinés. Les conséquences des variations de mobilité provoquées (température et solutions salines) sur l'infestation des Mollusques seront appréciées.

I - Matériel et Méthodes

I — Larves L_1 de Protostrongylidés

Les deux sources utilisées sont soit monogénérique (*Muellerius capillaris*), soit plurigénérique (*Cystocaulus nigrescens* 70 p. cent, *Protostrongylus rufescens* 30 p. cent). Les larves sont extraites par la méthode de Baermann à partir d'Ovins infestés naturellement.

2 — Mollusques hôtes intermédiaires

Ils proviennent d'une parcelle indemne de Protostrongylidés. Les exemplaires de *Cochlicella conoidea* sont âgés de 5 mois et ceux d'*Euparypha pisana* de 15 mois à 20 mois.

3 — Techniques parasitologiques

La mobilité des larves, exprimée en pour cent de larves actives, a été appréciée après examen au stéréomicroscope ($G = 30$) du matériel infestant sur une boîte de Pétri quadrillée (carrés de 5 mm de côté). Les pourcentages de larves actives sont établis sur l'examen d'au moins 100 larves. Lorsque les larves ont séjourné à des températures différentes de celle du laboratoire, l'examen a lieu après 1 heure de séjour à la température ambiante. L'infestation est réalisée selon des modalités déjà décrites : Cabaret et Dakkak, 1979. Les larves hébergées par les Mollusques sont mises en évidence après digestion peptique ; celle-ci a lieu 3 semaines après l'infestation.

4 — Méthodes statistiques

Les comparaisons de pourcentages et les méthodes de régression (moindres carrés) sont classiques. La comparaison des degrés d'infestation est réalisée au moyen de tests non paramétriques en raison de la non-normalité des données : Siegel 1956. La nature de la distribution est appréciée par le coefficient k de Neymann : Southwood 1971. Le calcul est fondé sur la formule $k = x^2/s^2 - x$ avec x : moyenne et s : écart-type. Le coefficient k est négatif pour les distributions régulières (sous-dispersées), compris entre 0 et 8 pour les distributions binomiales négatives (sur-dispersées) et supérieur à 8 pour les distributions de Poisson (au hasard).

II - Résultats

— Degré d'infestation et mobilité des larves

Des larves L_1 de *Muellerius capillaris*, d'âge différent et stockées à la température ambiante en lumière naturelle, ont servi à infester 4 lots de 6 à 10 individus de l'espèce *E. pisana*. Les résultats sont présentés dans le tableau I. Les relations significatives ($P < 0,05$) suivantes mettent en évidence le lien existant entre la mobilité et l'infestivité :

Tableau I. Infestations de masse d'*E. pisana* par des larves de *M. capillaris* d'âges différents.

Age des larves L_1 (en jours)	% de L_1 actives	Nombre de Mollusques infestés	Degré moyen d'infestation (larves/Mollusque)	% de Mollusques infestés
0	96,7	10	$3,30 \pm 0,82$	90
2	73,5	10	$1,20 \pm 0,40$	80
5	30,3	8	$0,50 \pm 0,25$	37
9	12,7	6	$0,33 \pm 0,26$	33

$$\begin{aligned}\arcsin \sqrt{P} &= 0,411 + 0,455 x + 0,126 x^2 & r &= 0,980 \\ \sqrt{DI} &= 0,691 - 0,663 x + 1,047 x^2 & r &= 0,999\end{aligned}$$

avec P : p. cent de Mollusques infestés, DI : degré d'infestation moyen des Mollusques, P : p. cent de larves L_1 mobiles et x : $\arcsin \sqrt{P}$. Il n'y a pas proportionnalité entre la mobilité et l'infestivité mesurée par le degré d'infestation des Mollusques : l'infestivité augmente plus que linéairement en fonction de la mobilité des larves L_1 . Il semble donc exister un effet densité dépendant du nombre de larves L_1 actives sur l'infestivité.

Afin de le vérifier, des infestations individuelles d'*E. pisana* par un mélange pluri-générique de *C. nigrescens* et *P. rufescens* ont été réalisées. Les larves actives après pipettage ont été seules utilisées. Les résultats sont présentés dans le tableau II. La dose infestante (nombre de larves actives) et le degré d'infestation sont liés par la relation significative ($P < 0,05$) suivante : $DI = [10^{a/58,4}] - 1$ avec a : dose en L_1 par Mollusque ; les degrés d'infestation calculés sont 0, 0,22 et 6,18 et l'ajustement est satisfaisant. Le nombre relatif de larves qui s'installent chez l'hôte (rendement de l'infestation) est d'autant plus important que la dose de larves L_1 mobiles est élevée.

Tableau II. Infestations individuelles d'*E. pisana* par des larves actives de *M. capillaris* à des doses différentes.

(Larves L_1 actives/ Mollusque) a	Nombre de Mollusques	Degré moyen d'infestation b	Rendement de l'infestation (b/a)
1	3	0	0
5	3	$0,33 \pm 0,31$	6,6
50	4	$6,25 \pm 2,10$	12,5

— Facteurs de variation de la mobilité des larves L_1

L'âge des larves est un facteur important de la mobilité comme le montre le tableau I pour *M. capillaris*. Le tableau III présente les données concernant la mobilité de larves L_1 de *C. nigrescens* et *P. rufescens* conservées à la température ambiante et à la lumière du jour. La décroissance de l'activité (P en p. cent) est exponentielle, comme dans l'exemple précédent et s'ajuste de la façon suivante : $P = 2,26 e^{-0,194t}$, t étant le temps en jours.

Tableau III. Décroissance de l'activité de larves L_1 d'un mélange de *Cystocaulus nigrescens* et *Protostrongylus rufescens* en fonction de la durée de conservation (20°C ; lumière du jour).

Age des larves (en jours)	3	5	9	11
% de larves actives	73,0	31,0	20,5	12,8

La décroissance de la mobilité des larves L₁ selon leur âge est aussi fonction de la température de conservation. Des larves de *M. capillaris* ont été conservées à diverses températures, à l'abri de la lumière : les résultats sont présentés dans le *tableau IV*. Ils appellent toutefois les commentaires qui suivent : a) aux températures élevées les larves présentent une activité accrue durant les 3 premiers jours de conservation (79 p. cent de larves actives) ; b) aux températures fraîches la baisse d'activité est rapide ; elle s'enregistre dès le premier jour, l'activité varie peu ensuite. Ceci est particulièrement vrai pour les larves congelées : des larves de *M. capillaris* conservées pendant 6 mois ont gardé l'activité qu'elles présentaient 10 jours après la congélation. La composition de la solution dans laquelle sont immergées les larves modifie également leur activité. Des larves L₁ de *Cystocaulus* et *Protostrongylus*, préalablement lavées 3 fois dans de l'eau déminéralisée ont ensuite subi l'action de 3 sels (sulfate de magnésium, carbonate de calcium, chlorure de sodium) à différentes concentrations pendant 10 mn ; les résultats sont présentés dans le *tableau V*. Les divers sels semblent augmenter l'activité des larves L₁ pour des concentrations moyennes de 100 à 200 ppm ; les concentrations élevées paraissent au contraire diminuer la mobilité des larves.

Tableau IV. *Variations dans le temps de l'activité des larves L₁ de M. capillaris exprimée en p. cent de larves actives, à diverses températures (à l'abri de la lumière).*

Durée de conservation (jours)		7	14	21	28
Température	37°C	30,4	11,6	0	0
	20°C	63,8	58,5	56,4	50,3
	4°C	26,4	19,6	20,7	25,0
	— 18°C	14,8	10,5	15,5	9,5

Tableau V. *Action de divers sels sur l'activité des larves L₁ (C. nigrescens et P. rufescens).*

Sel	Concentration (en p.p.m.)	% de larves L ₁ actives après traitement par le sel	% de larves L ₁ actives avant traitement par le sel
Sulfate de magnésium	10	26,6	
	100	33,1	12,2
	200	24,8	
Carbonate de calcium	10	44,9	
	100	38,5	20,8
	1000	13,8	
Chlorure de sodium	180	44,8	
	1800	13,6	25,6

La densité des larves de *M. capillaris* dans le liquide de conservation est un facteur de variation de leur activité comme le montrent les essais présentés dans le *tableau VI*. Lorsque la densité des larves est élevée le nombre de larves actives diminue ; la relation entre ces deux paramètres est :

$$\text{essai 1 : } \arcsin \sqrt{P} = 0,769 - 0,072 \text{ Log } D \quad (r = 0,895)$$

$$\text{essai 2 : } \arcsin \sqrt{P} = 0,570 - 0,107 \text{ Log } D \quad (r = 0,997)$$

avec P : p. cent de larves actives et D : densité des larves $L_1/\mu\text{l}$.

Tableau VI. *Variation de l'activité des larves L_1 de M. capillaris (p. cent de larves actives) issues de deux stocks en fonction de leur densité (larves/ml).*

	Densité moyenne (larves/ μl)	% de larves actives
Essai 1	0,4	37,5
	0,8	33,1
	20,0	6,0
Essai 2	2,0	40,6
	3,3	42,5
	5,0	36,2
	6,6	37,5
	10,0	31,2
	20,0	26,9

— Influence de la densité des larves sur leur distribution

La densité influe non seulement sur l'activité des larves mais également sur la distribution des larves de *M. capillaris*. Deux millilitres de suspension larvaire à diverses concentrations ont été déposés sur une boîte de Pétri quadrillée ; la densité par unité de surface (carré de 5 mm de côté) a été enregistrée ainsi que le pourcentage de larves mobiles ; les résultats sont présentés dans le *tableau VII*. La distribution est régulière (coefficient d'aggrégation k négatif) pour les faibles densités, au hasard pour les densités moyennes et sur-dispersée pour les densités élevées. Il existe une relation significative entre le coefficient d'aggrégation k et la densité des larves ; elle est complexe et fait intervenir un rapport de deux polynômes du second degré. La distribution des larves est d'ailleurs liée à l'activité des larves, pour un mélange de *C. nigrescens* et *P. rufescens*, comme le montre le *tableau VIII*. La relation entre les 3 variables est, au seuil significatif de 5 p. cent :

$$P = 45,52 - 2,65 k - 17,09 d$$

avec P : p. cent de larves mobiles, k : coefficient d'aggrégation, d : densité exprimée en larves par carré de 5 mm de côté. L'ensemble de ces résultats montre donc que lorsque la densité augmente des larves sont de moins en moins actives et leur distribution est de plus en plus dispersée.

Tableau VII. Distribution des larves, appréciée par le coefficient k et le rapport variance/moyenne, en fonction de la densité.

Densité (larves/carré 5 mm de côté)	Variance/moyenne	Coefficient d'aggrégation k
0,029	0,985	— 1,47
0,044	0,970	— 2,01
0,667	1,035	19,07
1,256	1,184	6,83
5,829	2,422	0,70

Tableau VIII. Variations du pourcentage de larves L_1 (*C. nigrescens* et *P. rufescens*) actives en fonction de la distribution et de la densité.

% de larves L_1 actives	Coefficient d'aggrégation k	Densité des larves (larves/carré 5 mm de côté)
25,3	1,86	1,05
8,9	2,12	1,58
8,0	2,89	1,68
3,0	2,49	2,22
0	3,93	2,08

— Influence des modifications de mobilité provoquées sur le degré d'infestation des Mollusques

Un même stock de larves de *M. capillaris* a été divisé en plusieurs parties qui ont été soumises à des températures variant de + 4° C à 41° C pendant 2 heures. L'infestation des spécimens d'*E. pisana* a été réalisée immédiatement avec ces différents lots de larves à la température de laboratoire ; les résultats sont exprimés dans le tableau IX. L'infestation des Mollusques est en relation avec l'activité des larves utilisées ($P < 0,05$) :

$$\sqrt{DI} = 0,641 + 0,409 x + 1,351 x^2 \quad (r = 0,993)$$

avec DI : degré moyen d'infestation d'un lot, x : pourcentage de larves actives sous forme arc sin racine.

Des larves du même stock ont été séchées et immédiatement réhydratées : leur mobilité était faible (6 p. cent). Le degré d'infestation, de 0,20 larve/Mollusque, correspond approximativement à celui prédit par la formule précédente. Des larves de *P. rufescens* et *C. nigrescens* ont été préalablement traitées par des solutions salines pendant 10 mn à 20°C et utilisées pour l'infestation de *C. conoidea*. Les résultats sont exposés dans le tableau X. La seule différence significative (test de Mann et Whitney ; $P = 2,2$ p. cent) observée concerne le lot témoin et le lot ayant reçu des larves pré-traitées par le sulfate de magnésium à la dose de 100 ppm. Des deux solutions salines

utilisées, seule celle qui exalte l'activité des larves a permis l'obtention d'une infestation plus importante.

Tableau IX. *Variations du degré d'infestation d'E. pisana par M. capillaris en fonction des températures de séjour des larves L₁.*

Température	% de larves L ₁ actives	Degré d'infestation moyen d'E. pisana	Nombre de Mollusques
4°C	8,0	0,75 (0-2) *	8
20°C	24,1	1,50 (0-6)	8
31°C	44,4	2,87 (0-7)	8
41°C	40,0	2,25 (0-9)	8

* Valeurs extrêmes.

Tableau X. *Variations du degré d'infestation de C. conoidea par un mélange de C. nigrescens et P. rufescens en fonction du traitement préalable des larves par différents sels.*

	Infestation témoin	Infestation par des larves pré-traitées par le sulfate de magnésium (100 p.p.m.)	Infestation par des larves pré-traitées par le chlorure de sodium (1 800 p.p.m.)
Nombre de Mollusques	22	21	22
Degré d'infestation moyen	0,04 ± 0,04	0,33 ± 0,17	0
% d'animaux infestés	4,5	23,8	0
Coefficient d'aggrégation <i>k</i>	— 1,02	0,63	—

Discussion

L'influence de divers facteurs sur les variations de mobilité des larves L₁ est comparable à celle obtenue pour la mobilité des miracidies ou des cercaires de Schistosomes. Les variations induites par la température, faible mobilité pour les basses températures et forte mobilité pour les températures élevées, ont été aussi enregistrées pour les miracidies de Schistosomes (Upatham, 1973) ou leurs cercaires (Walle, Pellegrino et Gazzinelli, 1974). Il en est de même pour l'action excitatrice des ions magnésium et calcium (Becker et Lutz, 1976 ; Sponholtz et Short, 1976). L'intervention de la dessiccation ou

de différentes températures sur la mobilité des larves L_1 correspond celles enregistrées lorsque ce sont les survies qui sont observées (Rose, 1957 ; Forrester et Senger, 1963). Les différences dans l'action du vieillissement (*tableaux I, II, III et IV*) sont dues à l'absence ou la présence de la lumière, les larves étant particulièrement sensibles aux ultra-violets (Rose, 1957).

— Valeur de la détermination du pourcentage de larves L_1 actives pour l'appréciation de leur infestivité

Le pourcentage de larves L_1 actives paraît bien représenter l'infestivité d'une population larvaire comme le montre l'examen des *tableaux I, IX et X*. La décroissance de l'activité des larves selon l'âge suit un modèle exponentiel (*tableau III*) ; il en est de même pour l'infestivité des larves L_1 chez *E. pisana*. Le même phénomène de décroissance de l'infestivité selon l'âge a été mise en évidence pour *Cochlicella conoidea* et *Otala lactea* infestés par un mélange de *M. capillaris*, *Neostromgylus linearis* (Cabaret, 1979), ce qui semble confirmer l'existence d'une relation précise entre l'infestivité et l'activité. Cette relation est valable aussi bien pour les variations de mobilité naturelles (vieillissement) que pour celles qui sont induites artificiellement, passagères (températures élevées) ou définitives (refroidissement à $+4^\circ\text{C}$). Les équations de régression établies pour diverses éventualités, entre le degré d'infestation et le pourcentage de larves actives, sont du même type et tendent à montrer que la nature du traitement des larves importe peu ; le résultat, la variation de mobilité, est seul important.

Le fait que les relations établies ne soient pas linéaires indique l'existence de mécanismes régulateurs. Lorsque les larves actives sont relativement nombreuses, elles se présentent sous forme de distribution sur-dispersée, c'est-à-dire qu'elles forment des agglomérats de taille variable. L'augmentation de l'aggrégation pour les fortes densités est peut-être due à l'existence d'une distance critique d'attraction qui serait plus facilement atteinte lorsque la concentration larvaire est intense. Dans les zones de densité élevée, l'activité aura tendance à diminuer (cf. influence de la densité) ; celle-ci entraînera un éclatement des agglomérats et une reprise éventuellement de l'activité des larves dispersées dans le milieu d'infestation. Cela revient à dire que si la sur-dispersion reste peu variable au sein d'un liquide infestant d'une densité donnée, la position dans l'espace des agglomérats se modifie : ceux-ci se désagrègent puis se reconstituent à un autre endroit. La liaison existant entre le type de distribution des larves et leur activité pourrait expliquer l'évolution des infestations en fonction du passage des larves L_1 à diverses températures (*tableau IX*). En effet l'activité des larves est seulement de 40 p. cent à 41°C et 44,4 p. cent à 31°C , bien que la température de 41°C ne soit pas léthale pour la durée d'exposition utilisée ; par ailleurs la variabilité du degré d'infestation est beaucoup plus importante pour le lot ayant reçu des larves à 41°C . L'agglomération des larves est plus faible à 31°C qu'à 41°C ce qui pourrait, par la densité plus faible des agglomérats, permettre une activité supérieure ; l'agglomération augmente à 41°C et provoque au sein des amas larvaires une diminution de l'activité, et globalement un pourcentage de larves actives plus faible que celui qui est prévisible.

Il est indispensable de noter que le pourcentage de larves actives, pour être efficace quant à la prédiction de leur infestivité, doit être établi dans des conditions précises de température et de densité.

— **Intérêt pour l'épidémiologie de l'infestation des Mollusques des variations de mobilité des larves L_1**

L'infestation par des larves âgées provoque des infestations faibles mais régulières et assure ainsi, pour un niveau d'infestation donné, un maximum de possibilités infestantes pour les petits ruminants hôtes définitifs. En effet une distribution régulière est celle qui permet la probabilité de rencontre la plus élevée entre le Mollusque hôte intermédiaire et l'hôte définitif et assure le meilleur équilibre hôte-parasite (May, 1977). Des densités larvaires importantes, si elles permettent une forte infestation des Mollusques (*tableau II*), présentent au contraire l'inconvénient d'assurer une infestation sur-dispersée et provoquent un déséquilibre de la relation hôte-parasite.

Un optimum de densité larvaire semble exister : pour des densités supérieures, l'infestation des Mollusques croît (Cabaret et Dakkak, 1979). Ce dernier phénomène de régulation pourrait intervenir sur les larves L_1 présentes en grand nombre dans les fèces des ovins les plus infestés.

Les variations de températures sont un facteur très important de l'infestation. Les refroidissements sont défavorables ; les augmentations de température permettent des infestations plus fortes. Toutefois l'activité à long terme décroît rapidement à 37°C. Les périodes d'infestation prépondérantes sont vraisemblablement celles où la température moyenne est aux environs de 20°C et où les variations diurnes sont de faible amplitude.

L'influence des concentrations en ions magnésium et calcium permettent de penser que la nature chimique du terrain où sont présents les Mollusques et les larves L_1 de Protostrongylidés peut avoir une certaine influence sur le degré d'infestation. Les degrés d'infestation maximum de *C. conoidea* sont assortis dans ce cas aussi de variations de la dispersion : le coefficient k passe de — 1,02 à 0,63, c'est-à-dire d'une distribution régulière à la sur-dispersion.

Les facteurs qui modifient l'infestivité des larves L_1 de Protostrongylidés présentent donc une action complexe ; les variations des niveaux moyens d'infestation sont également associés à des fluctuations de la distribution des larves hébergées par l'hôte intermédiaire. Les deux paramètres (degré d'infestation, dispersion) varient en sens inverse quant à l'efficacité pour l'infestation de l'hôte définitif. L'existence d'un tel mécanisme devrait assurer une régulation, dans certaines limites, de l'infestation des Petits Ruminants.

Bibliographie

- Becker W., Lutz W. : Die Wirkung von Sälzlösungen unterschiedlicher Ionenzusammensetzung auf die Schwimmaktivität der Cercarien von *Schistosoma mansoni*. *Z. f. Parasitenkunde*, 1976, 50, 99-101.

- Cabaret J. : Réceptivité expérimentale à l'infestation par les larves de Protostrongylidés de quelques Hélicidés fréquents au Maroc. Facteurs de variation. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1979, 54, 475-482.
- Cabaret J., Dakkak A. : Infestation expérimentale de *Cochlicella ventricosa* par les larves L₁ de Protostrongylidés. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1979, 54, 57-64.
- Forrester D.J., Senger C.M. : Effect of temperature and humidity on survival of first-stage *Protostrongylus stilesi* larvae. *Exp. Parasitol.*, 1963, 13, 83-89.
- May R.M. : Dynamical aspects of host parasite associations. Crofton's model revisited. *Parasitology*, 1977, 75, 259-276.
- McInnis A.J. : Responses of *Schistosoma mansoni* miracidia to chemical attractants. *J. Parasitol.*, 1965, 51, 731-746.
- Prah S.K., James C. : The influence of physical factors on the survival and infectivity of miracidia of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium*. I. Effect of temperature and ultra-violet light. *J. Helm.*, 1977, 51, 73-85.
- Rose J.H. : Observations of the bionomics of the free-living first-stage larvae of the sheep lungworm *Muellerius capillaris*. *J. Helm.*, 1957, 31, 17-28.
- Siegel S. : Non parametric statistics for the behavioural Sciences. *Mcgraw-Hill*, Publ., Kogakusha, Tokyo, 1956.
- Southwood T.R.E. : Ecological methods. *Chapman and Hall*, Publ., London, 1971.
- Sponholtz G.M., Short R.B. : *Schistosoma mansoni* miracidia : Stimulation by calcium and magnesium. *J. Parasitol.*, 1976, 62, 155-157.
- Thomas J.D., Rough A. : The effects of external calcium concentration on the rate of uptake of this ion by *Biomphalaria glabrata*. *J. Anim. Ecol.*, 1974, 43, 861-871.
- Upatham E.S. : The effect of water temperature on the penetration and development of St. Lucian *Schistosoma mansoni* miracidia in local *Biomphalaria glabrata*. *S. East Asian J. Trop. Med. Pub. Health*, 1973, 4, 367-370.
- Walle C., Pellegrino J., Gazzinelli G. : Influence of temperature on the backward propulsion speed of *Schistosoma mansoni* cercariae. *J. Parasitol.*, 1974, 60, 372-373.
- Wilson R.A., Denison J. : Short chain fatty acids as stimulants of turning activity by the miracidium of *Fasciola hepatica*. *Comp. Biochem. Phys.*, 1970, 32, 511-517.
-