

**DESCRIPCION DE UN FOCO DE
MICROFILARIOISIS HEMATICA EQUINA
POR SETARIA EQUINA (ABILGAARD, 1789)**

Por José A. Zabala Lapeyra ()*

INTRODUCCION

El 10 de mayo de 1969 realizamos el análisis hemático en dos yeguas, alojadas en boxes del «Club Pineda» de Sevilla, pero procedentes del término de Coria del Río, en plena zona marismeña. La investigación tenía por objeto descartar la presencia de microfilarias, pues se pretendía exportar los animales a determinado país mediterráneo, que impide la introducción en su territorio de animales portadores de tales parásitos.

El análisis resultó positivo. Esta circunstancia, unida a la escasez de publicación sobre microfilaremias en los équidos, nos animó a proseguir el trabajo sobre otros animales de la misma zona.

Por lo que respecta a España, hemos hallado alusiones a un proceso relacionado con setariosis de los équidos en GARCÍA ALFONSO (1947), quien señala la extracción de un helminto de este grupo de la cámara anterior del ojo de una mula, en Madrid. LÓPEZ-NEYRA (1947), estudió ejemplares procedentes de animales carnizados en Barcelona. CORDERO DEL CAMPILLO (com. pers.) también ha encontrado ejemplares adultos en la cavidad peritoneal de équidos leoneses.

(*) Laboratorio Pecuario Regional de Andalucía Occidental, Sevilla.

Trabajo presentado con motivo del II Curso de Especialización Parasitológica para veterinarios, realizado en el Departamento en colaboración con la Dirección General de Ganadería.

MATERIALES Y METODOS

Población equina. Lote I.—Constituido por 35 animales, entre madres y potros, que campeaban libremente por los terrenos marismenos de la finca. Se estudiaron tres yeguas de raza anglo-árabe, mantenidas en la indicada finca.

Como en los demás casos, se recogieron dos preparaciones con sendas gotas gruesas, por animal. Además, en este caso concreto, se empleó el método de OHISHI (cit. OJEDA, 1968).

Lote II.—Podemos subdividirlo en cuatro sublotes de seis animales cada uno, ubicados en una finca próxima a la anterior, también en las Marismas del término municipal citado. Eran animales de raza árabe. En este núcleo, formado por una docena de animales adultos, alojados en boxes perfectamente higiénicos, y por animales que también vivían libremente, en número de 40, a los que pertenecen las muestras recogidas en esta finca, es donde se ha practicado la mayoría de los exámenes. A este grupo corresponden igualmente los animales que separamos para el lote V. Se estudiaron gotas gruesas, extensiones, y sangre coagulada.

Lote III.—Formado por tres animales, dos mulares y un caballo, este último de raza no selecta. radicados en la Sección III de las Marismas, del Instituto Nacional de Colonización. El material utilizado en los diagnósticos estuvo constituido por gotas gruesas y sangre coagulada, operándose solamente con suero.

Lote IV.—Compuesto por dos yeguas, más un caballo de raza árabe. Además, otros dos caballares, macho y hembra, de otros propietarios, de las razas española y anglo-hispano-árabe, respectivamente, procedentes de regiones alejadas de la marismeña y que residían desde hacía tiempo en el club antes citado.

El caballo, concretamente, alrededor de un año. El material recogido consistió en gotas gruesas, sangre coagulada, sangre sin coagular, con líquido de DURANYI y sangre oxalatada.

De este caballo que se halló parasitado, se hicieron determinaciones cuantitativas, tanto en sangre completa como en suero, para valorar la concentración de microfilarias por ml.

Lote V.—Compuesto de seis yeguas de la misma finca que las del lote II, en las cuales, lo mismo que en los animales del lote anterior, se practicaron estudios para determinar el número de microfilarias por ml, actuando en este caso sobre el producto resultante de la desintegración de la sangre coagulada. Sobre estos animales se realizaron igualmente estudios relativos a la periodicidad de las microfilarias.

Características ecológicas de las explotaciones.

Exceptuando los terrenos del «Club Pineda», que se hallan en las afueras de la ciudad de Sevilla, radican en plena marisma, reuniendo todas las características peculiares de la misma, que las convierten, dando el clima andaluz, en un verdadero paraíso de numerosas parasitosis.

En un medio tal, abundan los artrópodos, en particular los mosquitos, entre ellos las especies señaladas en España (*Anopheles maculipennis*, *A. claviger*, *Culex pipiens fatigans* y *Aedes (Stegomyia) aegypti*) que, por su afinidad con las descritas por HEISCH y col. (1959) seguramente intervienen en la transmisión.

Recogida de muestras.

Con trócares de los utilizados en la sangría de caprinos. Aunque inicialmente tratamos de tomarlas por punción de la vena marginal de la oreja, pronto desecharmos la técnica, por las incomodidades para el operador y para el animal, cuya irritabilidad, particularmente en los individuos selectos, dificultaba la toma. En consecuencia, de modo habitual se extrajeron las muestras por punción de la yugular. Se hicieron tomas para gota gruesa, extensión fina, sangre coagulada, sangre con anticoagulante oxalatado desecado (tal como recomienda SCHAML, 1964) etc. Una sola vez se empleó el líquido de DURANYI.

Las extensiones se tiñeron con GIEMSA, siguiendo la pauta de BORCHERT (1964). Previamente, las preparaciones gruesas se sumergían en agua destilada durante tiempo suficiente para garantizar la hemólisis. Cuando eran finas, en ocasiones se deshemoglobinizaron previamente a la tinción con GIEMSA, de acuerdo con la recomendación de JORDANO (1952). La solución se preparó a razón de 2 gotas/ml. de agua destilada y alcalinizada con unas gotas de sol. N/10 de hidróxido sódico y potásico. También empleamos, a veces, la sol. tampón recomendada por SCHELL (1969) a pH 7,0.

La sangre recogida en tubos se estudió después de coagulada, unas veces examinando el suero y otras disgregando el coágulo mediante varilla de vidrio. Cuando la sangre se recogió con anticoagulante, es obvio que se operó con el producto total.

Trabajamos con muestras de sangre de 0,5 y 0,25 ml, con colorante o sin él, según los casos. El colorante de OHISHI, modificado ligeramente en cuanto a la cantidad a agregar, permitía una buena detección, aunque no es imprescindible su empleo.

Cuando actuábamos sin colorante, la cantidad mencionada de sangre, recogida en tubo de centrífuga aforado, se completaba con agua destilada hasta 10 ml, centrifugando a renglón seguido durante 10 minutos.

Se eliminaba el sobrenadante y se examinaba el fondo, cuando solamente pretendíamos un estudio cualitativo.

Si la determinación era cuantitativa, añadíamos nueva agua destilada hasta completar el volumen de 1 ml, del que tomábamos 0,25 ml para examen a pequeño aumento (combinación ocular 12.5 y objetivo 10 x). El número de microfilarias halladas, referido a la cantidad total de sangre tomada, permitía valorar la concentración de microfilarias.

Para determinaciones cuantitativas también operamos con sangre recogida sobre mezcla desecada de oxalatos, tal como propone SCHALM (op. cit.).

Empleando el colorante de OHISHI, agregábamos a las cantidades de sangre ya indicadas 1 ml de aquél y, previa agitación, como en el otro método, se centrifugaba durante el mismo tiempo, aproximadamente. Se eliminaba el sobrenadante y, acto seguido, se añadía agua destilada en cantidad suficiente para alcanzar los 10 ml. Agitación y nueva centrifugación, ahora durante 5 minutos. Este proceder se repetía tantas veces como fuera necesario, generalmente tres o cuatro, hasta que el producto resultante quedaba suficientemente claro para permitir un examen detallado. Es conveniente, cuando al agitar se observan grumos gruesos, deshacerlos lo más posible, mediante varilla de vidrio u otro adminículo «ad hoc». El cálculo cuantitativo se realiza como en el procedimiento anterior.

Para el recuento del número de larvas, analizamos sangre completa y suero del caballo árabe incluido en el lote IV. En el primer caso, se impidió la coagulación con la mezcla de oxalatos desecada de SCHALM (op. cit.). La determinación fue doble. La investigación con sangre coagulada se practicó desintegrando el coágulo por medios mecánicos, como ya indicamos anteriormente. Estas últimas determinaciones (sangre coagulada) recayeron sobre animales distintos.

Periodicidad.

La determinación de este dato se realizó con seis animales, de los cuales se tomaron 24 extensiones gruesas, más 12 tubos de sangre coagulada, dos por animal, tomados hacia las 9 de la mañana y las 6 de la tarde. Como siempre, se disgregaba el coágulo para hacer las comprobaciones.

Duración de la microfilaremia.

En algunos animales, a que más adelante nos referiremos, se realizaron controles periódicos, a fin de comprobar este dato.

Tratamiento

Se empleó «Franozan 40 %» (*), cuyo principio activo es el citrato de dietilcarbamazina. La dosis aplicada fue de 5 ml/100 kg. de peso vivo, durante tres días seguidos. A los 15 días se repitió la serie.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En lo que se refiere a la expresión clínica de la parasitosis, según se desprende de la anamnesis, cabe afirmar que en los animales nada anormal se había apreciado. Después de diagnosticada la setariosis, el veterinario que atendía la explotación señaló que, esporádicamente, había observado abscesos de la cruz, dermatosis en los pliegues del menudillo, en las extremidades posteriores y, excepcionalmente, queratitis. En un caballo (lote II) se formaba edema del escroto cuando realizaba esfuerzos.

El encargado de la explotación informó que, en el ganado de vida pastoral plena, periódicamente se observaba un descenso en el peso, fenómeno que sistemáticamente combatían con fenotiazina, con éxito, al parecer. Indudablemente, estos resultados indican que la causa debe atribuirse a «estrongilosis» entéricas. Estas observaciones se refieren a los équidos de los lotes II y V, atendidos por el veterinario don Francisco Miranda Pasán, quien recuerda que al realizar la castración cruenta de un caballo, halló un helminto en el cordón testicular. Sin duda, un ejemplar adulto de *Setaria equina*.

En cuanto a los animales del lote I, solamente se había notado un proceso supurado en una extremidad de una yegua. Por lo demás, a juzgar por los informes del cuidador de los animales del «Club Pineda», no se observó la menor diferencia en el comportamiento de los animales infestados, en relación con los indemnes, incluso en casos extremos, como el citado caballo del lote II, cuyas cifras de microfilaremia más adelante se citan.

En conclusión, se confirma el escaso poder patógeno de *Setaria equina*.

Los resultados de la investigación hemática fueron éstos:

En el lote I no se detectó ningún animal afectado. En el II, la mitad de los animales investigados tenían microfilarias. En el III no se observó ninguna. En el IV, tres animales fueron positivos y dos negativos. En el V, cinco, de un total de seis, albergaban el parásito.

Las extensiones de sangre y las gotas gruesas teñidas por GIEMSA permitieron apreciar la presencia de larvas envainadas (figs. 1 y 2), cuya longitud y demás características concordaban con las descritas por

SUPPERER (1953), recogidas en las claves del Laboratorio de Parasitología por CORDERO DEL CAMPILLO⁹ (1970) para las larvas de *Setaria equina*.

La circunstancia de ser las microfilarias de *S. equina* las únicas enviadas, dentro de las que parasitan al caballo, facilita el diagnóstico, sin necesidad de recurrir a la observación de otros caracteres. No obstante, el valor de las mediciones totales y las parciales de los diversos puntos estructurales puede ser grande en todo momento. Cuando las larvas aparecían en posiciones que impedían la medición directa con el micrómetro objetivo, tuvimos que recurrir a la microproyección, con espejo LEITZ, midiendo con curvímetro. No obstante, el tratamiento con agua destilada y el método de OHISHI modificado, evitan plenamente estos inconvenientes, pues con ellos los vermes quedan relajados en posición rectilínea, permitiendo una medición sencilla y directa con el micrómetro. Con esta técnica obtuvimos medidas de 270 micras de longitud, por 7 de anchura, habiendo hallado valores mínimos y máximos, en cuánto a la primera magnitud, de 210 y 296 micras, respectivamente.

Con el método de OHISHI observamos que, muy frecuentemente, el extremo cefálico de las microfilarias se halla desplazado del eje longitudinal, manteniéndose, no obstante, dentro de la vaina. La región desplazada corresponde, aproximadamente, al espacio cefálico (fig. 4).

Con estos métodos puede demostrarse fácilmente la presencia o ausencia de la vaina, mucho más fácilmente que con el estudio de extensiones finas o gruesas, aun teñidas por GIEMSA. A tal efecto, incluso el tratamiento con agua destilada es superior al método de OHISHI.

En las figs. 3, 4 y 5, obtenidas de preparaciones tratadas con agua destilada, se observa la presencia de vaina, que sobresale claramente de los extremos cefálico y caudal. En la región anterior, semeja un capuchón turgente, siendo variable la distancia que media entre la zona oral y la cúpula (figs. 3 y 4).

Cuando se estudian frotis y gotas gruesas, la perspectiva es diferente en relación con la vaina careciendo generalmente ésta de la turgencia y sensación de rigidez que ofrece con los otros métodos. En tales casos aparece como una funda, en general, más o menos plegada, que sobresale normalmente de uno de los extremos de la larva. A veces, se la observa dobrada sobre el cuerpo larvario. Dicha vaina aparece teñida de un ligero color rosáceo y es evidente.

En cambio, cuando se trata de estudiar los caracteres anatómicos de las microfilarias, hemos acudido a las gotas gruesas y a los frotis. En la fig 6, obtenida de una preparación teñida por GIEMSA, puede apreciarse claramente el espacio cefálico, el anillo nervioso y la célula excretora, así como el plegado de la vaina en los extremos cefálico y caudal.

Insistimos en que inicialmente, nos resultó imposible apreciar la presencia de la vaina en las preparaciones teñidas por GIEMSA, en agua

alcalinizada (foto 7). Posteriormente, actuando con el mismo colorante y agua destilada, alcalinizada mediante solución N/10 de hidróxido sódico o potásico, dicho carácter resultó fácilmente diferenciable.

Los resultados logrados con la solución tampón recomendada por SCHELL (*op. cit.*), a pH 7,0, para la tinción de frotis y gotas gruesas no han sido tan favorables como los conseguidos con agua destilada alcalinizada, en la forma anteriormente descrita.

Respecto a los resultados obtenidos en los lotes de caballos I y III, tenemos casi la seguridad de que se trataba de afilaremias temporales. Posiblemente, un análisis ulterior hubiera confirmado esta suposición. Incluso la toma de sangre de los animales del lote I no fue plenamente satisfactoria, teniendo en cuenta la falta de personal colaborador y el carácter cerril de los equinos problema.

En cuanto al lote III, el hecho de haber actuado solamente sobre suero, permite suponer que una escasa infestación pudo pasar desapercibida.

Aunque no se estudió el hemograma, en todas las preparaciones era evidente la eosinofilia.

La vitalidad de las larvas es considerable, pues las presentes en sangre oxalatada el día 27-II-1970 continuaban vivas el 3-III del mismo año, habiendo permanecido en frigorífico (+4°C) durante dicho intervalo, excepto el primer día, en que se mantuvieron a la temperatura del laboratorio. Igualmente, hemos observado algunas larvas vivas, aunque con movimientos perezosos, tras tratar 0.25 ml de sangre oxalatada con 1 ml de solución de OHISHI durante 10 minutos y sufrir sucesivos lavados con agua destilada durante otros 15 minutos.

El número de larvas halladas en el caballo del lote II fue de 1.336 y 1.350 por ml. en la doble determinación realizada (media de 1.343). Es de destacar que el animal tenía un aspecto insultantemente saludable.

Comparando estas cifras con las proporcionadas por el estudio de muestras de suero obtenido a partir de sangre coagulada, extraída simultáneamente, que alcanzaron un promedio de 87,5 microfilarias por ml de suero, es evidente que, a igualdad de volumen examinado, la validez del estudio de sangre completa es 15 veces superior.

No realizamos observaciones comparativas por tratarse de animales diferentes a los del grupo anterior.

Periodicidad

Los resultados se exponen en la tabla I, pudiendo apreciarse en ella que los índices presentados por los animales 1, 2, 3 y 4 demuestran una evidente elevación vespertina. Nos sorprendió el resultado obtenido en los animales 5 y 6 pues, mientras los cuatro frotis (dos matutinos y dos vespertinos)

tinos) la yegua n.º 5 resultaban negativos, la sangre recogida por la mañana demostraba la presencia de 672 microfilarias por ml de sangre, mientras que la de la tarde fue negativa. Por el contrario, las tres preparaciones estudiadas en la yegua n.º 6 (la muestra resultó defectuosa y no se consideró), fueron positivas y la muestra sanguínea matutina igualmente, con 224 larvas por ml siendo, por el contrario, negativa la de la tarde.

Ante esta situación paradójica, al menos en apariencia, solicitamos del colega que atendía la explotación la remisión de nuevas muestras de estos dos animales. El resultado de este nuevo análisis se expone en la tabla II, confirmando que se cometió un error de rotulación y que, como habíamos observado, la periodicidad de las microfilarias es vespertina, contra la opinión de BORCHERT (*op. cit.*), que sostiene que abundan más en la sangre periférica por la mañana, de acuerdo con LINGARD, (citado por BORCHERT).

Por lo tanto, el resultado real en el caso de que las muestras hubiesen sido correctamente etiquetadas, hubiera sido, para la núm. 5 negativo en todos los casos, mientras que para la núm. 6 hubiera dado 224 larvas/ml. por la mañana y 672 larvas/ml por la tarde.

No obstante, se observa gran diferenciación entre los valores recogidos de sangre, sin que sepamos a qué atribuirlo.

Estacionalidad.

A juzgar por los datos obtenidos desde que iniciamos la investigación, podemos afirmar que los animales infestados continúan afectados cuando menos durante 10 meses. Por ejemplo, una de las yeguas del lote II ha sido examinada el 10-V-1969 y el 5-III-1970, con resultados positivos en ambos casos. El caballo que presentaba edema escrotal, lote IV lo fue el 5-IX-1969, 20-IX-69, 26-X-69, 24-XI-69 y 2-11-1970, siempre con resultados positivos, aun cuando entre las investigaciones tercera y cuarta se efectuó un tratamiento. Por lo que parece que dichas larvas persisten más de las semanas o meses que les atribuyen HUTYRA y col. (1968), o bien que se han producido reinfecciones, o que los adultos son más longevos y continúan reproduciéndose. O, incluso, que, como señala SOHO (1958), el producto no es activo contra las microfilarias. En este caso, si obra sobre los adultos, habría de admitirse realmente la prolongada longevidad de las microfilarias, pues no habría reinfección hemática en ausencia de adultos.

Tratamiento

El examen realizado a los 15 días de la segunda serie de aplicaciones, permitió comprobar que las yeguas se habían liberado de microfilarias

hemáticas, mientras que continuaba la positividad del caballo. No obstante, en este último que, ante cualquier esfuerzo presentada edema escrotal, se observó la desaparición de esta alteración. Parece ser que al cabo de seis meses, volvió a presentar el edema, en similares circunstancias.

Durante el tratamiento, no se produjeron accidentes de ninguna clase.

AGRADECIMIENTO

Al Prof. Dr. M. Cordero del Campillo, por la revisión crítica del original y por la cesión de la fotomicrografía n.º 7, realizada en el Departamento por el Dr. Martínez Fernández.

RESUMEN

Setaria equina (ABILGAARD, 1789) es parásito sumamente frecuente en las marismas del Guadalquivir (Sevilla, España), hallándose en algunas agrupaciones equinas hasta en el 100 % de los efectivos.

Las microfilarias tienen periodicidad vespertina, llegando a alcanzar concentraciones de hasta 1.343 larvas/ml de sangre.

La presencia de vaina en las microfilarias, puede demostrarse fácil y rápidamente, sin necesidad de tinción, deshemoglobinizando la sangre sin coagular, con agua destilada y estudiando el material centrifugado.

Incluso en presencia de microfilaremias intensas, el estado de salud de los animales parece satisfactorio. Sólo se ha observado en un caso, edema del escroto.

«Franozan 40 %», (citrato de dietil-carbamazina) a dosis de 5 ml/100 kg de peso, tres días seguidos, repitiendo el tratamiento a los 15 días, eliminó la microfilaremia en tres animales, de un total de cuatro tratados. En el cuarto animal, desapareció el edema escrotal, pero no la microfilaremia.

RESUME

Le *Setaria equina* (ABILGAARD, 1789) est un parasite très fréquent dans les marais du Guadalquivir (Séville, Espagne) et dans quelques groupes équins on le trouve même dans le 100 % des animaux.

Les microphylaires ont une périodicité vespérale et atteignent des concentrations de jusqu'à 1.343 larves/ml de sang.

La présence de gaines dans les microphylaires peut se démontrer facilement et rapidement, sans faire aucune tinction, en séparant l'hémoglobine du sang non-coagulé avec de l'eau distillée et en étudiant le matériel centrifugé.

Même en présence de microphylarémies intenses, la santé des animaux semble être satisfatoire. Dans un cas seulement on a observé l'edema du scrotum.

Le «Franozan 40 %» (citrate de diéthyl-carbamazine) à une dose de 5 ml./100 Kg. poids du corps, administré trois jours consécutifs, élimina la microphylarémie chez trois animaux sur un total de quatre animaux traités. Dans le quatrième animal l'edema scrotal disparut mais pas la microphylarémie.

SUMMARY

Setaria equina (ABILGAARD, 1789) is a parasite very often found in the marshes formed by the Guadalquivir river (Seville. Spain) and in some groups of equines it is found even in a 100 % of said animals.

Microfilariae have a vespertine periodicity reaching concentrations up to 1,313 larvae/ml of blood.

The presence of sheaths in microfilarias can be easily and quickly shown, without any tinction, by dishemoglobinizing the non-coagulated blood with distilled water and by studying the centrifuged material.

Even when microfilaremias are intense health of animals seems to be satisfactory. Scrotal edema has been observed only in one case.

«Franozan 40 %» (Diethyl-Carbanazine Citrate) at a dosage of 5 ml/100 Kg. body weight, administered on three consecutive days, the treatment being repeated after 15 days, eliminated the microfilaremia in three animals out of a total of four animals treated. Scrotal edema disappeared in the fourth animal but microfilaremia did not.

BIBLIOGRAFIA

- BORCHERT, A. (1964).—*Parasitología Veterinaria*. Editorial Acribia. Zaragoza.
CORDERO DEL CAMPILLO, M. (1970).—*Cursillo de Parasitología y Enfermedades Parasitarias*. Fac. Vet. de León.
FIEBIGER, J. (1942).—*Los Parásitos animales del Hombre y de los Animales Domésticos*. Ed. Vda. de Juan Pueyo. Madrid.
GARCÍA ALFONSO, C. (1947).—*Ciencia Veterinaria*, 8 : 103-104.
HEISCH, R. B., NELSON, G. S. y FURLONG, M. (1959).—*Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 53 : 41-53.
HUTYRA, MAREK, MANNINGER (1968).—*Patología y Terapéutica especiales de los Animales Domésticos*. Ed. Labor. Tomo II. Barcelona.
JORDANO BAREA, D. (1952).—*Claves biológicas para clínicas e inspección veterinarias*. Imprenta Moderna. Córdoba.

- MONNIG, H. O. (1947).—*Helminología y Entomología veterinarias*. Ed. Labor. Barcelona.
R. LÓPEZ-NEYRA, C. (1947).—*Helmintos de los vertebrados ibéricos*. Con. Sup. de Inv. Cient., Tomo II Granada. Imprenta Urania.
OJEDA SAHAGUN, E. (1968).—Suplemento Científ. *Boletín Col. Vet. de España*, 184 (sept.) 39-47.
SCHALM, O. W. (1964).—*Helminología Veterinaria*. Unión Tipográfica. Editorial Hispano Americana. Méjico.
SCHELL, S. C. (1969).—*Manual de Laboratorio en Parasitología*. Ed. Academia. León.
SUPPERER, R. (1953).—*Wien. tierärztl. Monatsch.*, 40 : 193-220.

CUADRO I

N.º de orden	N.º de larvas por porta		Número de larvas por ml. de sangre coagulada disgregando parcialmente el coágulo.	
	Mañana	Tarde	Mañana	Tarde
1	1 - 0	1 - 1	48	64
2	4 - 14	1 - 8	64	368
3	15 - 8	40 - 36	208	576
4	6 - 26	21 - 34	192	368
5	0 - 0	0 - 0	672	0
6	18 - 5	16 - ?	224	0

CUADRO II

N.º de orden	N.º de larvas por ml. de sangre coagulada disgregando parcialmente el coágulo.	
	Mañana	Tarde
5	0	0
6	48	176



Fotomicrografía 1



Fotomicrografía 2



Fotomicrografía 3
QUADRO II



Fotomicrografía 4

— 184 —



Fotomicrografía 5



Fotomicrografía 6

— 185 —

