

ESTUDIO CITOGENETICO DE *HAEMONCHUS CONTORTUS*
RUDOLPHI, 1803

PRETEL, A.; VALERO, A.; ROMERO, J.; CUTILLAS, C.

Instituto "López-Neyra". C.S.I.C. Granada

Departamento de Parasitología y Departamento de Genética

Universidad de Granada

(Recibido el 18-10-1981)

SUMMARY

Meiosis in 20 males of *Haemonchus contortus*, parasite of *Ovis aries* (L) and *Capra hircus* (L), is analysed.

The diploid number is $2n=11$, and sex-determining mechanism XO/XX. In one of the males, B-chromosomes, have been detected. Their number vary from 2-5.

Key Words: *Haemonchus contortus*, spermatogenesis, B-chromosomas.

RESUMEN

Se realiza un estudio de las meiosis espermatogoniales en 20 machos de *Haemonchus contortus* parásito de *Ovis aries* (L.) y *Capra hircus* (L.).

La dotación diploide es $2n=11$, y el determinismo del sexo XO/XX. En uno de los machos han sido detectados B-cromosomas, cuyo número por núcleo varía de 2 a 5.

Palabras Clave: *Haemonchus contortus*, espermatogénesis, B-cromosomas.

INTRODUCCION

El presente estudio sobre citogenética de *Haemonchus contortus* es continuación de la serie de trabajos que sobre cariólogía de nematodos han venido desarrollando sus autores a lo largo de los últimos años.

Las referencias bibliográficas sobre la especie son escasas y se extienden principalmente al recuento cromosómico y a la determinación del mecanismo del sexo.

En este trabajo se aborda un análisis completo del ciclo cromosómico durante la meiosis espermatogonial, el comportamiento de los cromosomas en meiosis, completando todo ello con el estudio de los cromosomas mitóticos.

La primera aproximación al análisis cariológico de la especie fue realizada por THRELKELD y HENDERSON (1941) que estudian la espermatogénesis y oogénesis de *Haemonchus contortus* deduciendo a partir de estadios meióticos el número cromosómico $2n=9$ para machos y $2n=10$ para hembras.

BREMNER (1955) lleva a cabo un estudio comparativo de dos especies de este género: *Haemonchus contortus* y *Haemonchus placei*, encontrando que el número diploide es $2n=11$ en machos y $2n=12$ en hembras. Además, observó una diferencia entre ambas especies que afecta al tamaño del cromosoma X.

Los datos aportados por GONZALES y SANTIAGO (1969) ratificaron las observaciones de Bremner en las especies citadas, por lo que respecta tanto al número cromosómico como a las diferencias de tamaño de los heterocromosomas.

Más recientemente, *Haemonchus contortus* ha sido objeto de estudio por parte de GOSWAMI (1979), quien cita su número cromosómico entre una lista de números para 10 especies distintas de nematodos.

MATERIAL Y METODOS

El material utilizado consiste en ejemplares machos de *H. contortus* obtenidos del cuajar de *Ovis aries* y *Capra hircus*. Las técnicas citológicas utilizadas han sido las convencionales basadas en el aplastamiento de las gónadas, previamente fijadas, seguido de tinción con Giemsa.

RESULTADOS

Mitosis. Han sido observadas varias placas mitóticas en metafase con 11 cromosomas en forma de bastoncito de 2-3 micras de longitud muy similares entre sí por lo que respecta a tamaño y morfología (Fig. 1).

Meiosis. Los núcleos en profase temprana son ovoides y muy abundantes, con el cromosoma X fuertemente coloreado. El apareamiento entre homólogos en paquitene es aparentemente completo. En los primeros estadios de la profase (zigotene y paquitene) los cromosomas constituyen estructuras inusualmente gruesas (Fig. 2). Las diplotenes tienen una apariencia normal (Fig. 4).

La distribución y localización de los quiasmas en los cromosomas diploténicos es muy característica y ha podido ser analizada con detalle (Fig. 4).

Todos los bivalentes desarrollan un único quiasma, cuya localización en diplotene, varía según el bivalente en cuestión. Cuatro de ellos presentan el quiasma único en una región subterminal y el quinto en posición siempre terminal. Este último aparece siempre formando una asociación de carácter lineal.

El desplazamiento de los centrómeros hace que, a veces, se manifieste en los bivalentes en M-I la heterocromatina proximal.

En metafase de la meiosis-I aparecen cinco bivalentes y un univalente sexual (X) (Fig. 5). La meiosis es normal y los autosomas tanto en A-I y A-II segregan limpiamente. El cromosoma X es generalmente retardatario y con frecuencia forma puentes en Anafase-I y A-II. Al menos en un ejemplar macho se ha detectado en metafase-I un bivalente claramente distinto, que se caracteriza por la presencia de un "gap" ostensible en todas las placas analizadas en este estadio (Fig. 7 y 8).

El cromosoma X, en esta especie, presenta prerreducción y postreducción dentro de un mismo individuo (Fig. 9 y 10).

B-cromosomas. En uno de los machos estudiados se han detectado cromosomas accesorios cuyo número por célula aparentemente varía de 2 a 5 (Fig. 12, 13 y 14). Son heteroplicnóticos, puntiformes y de tamaño extraordinariamente pequeño.

En metafase-I aparecen invariablemente divididos.

DISCUSION

Número cromosómico. El número cromosómico para la especie, establecido a partir de recuentos realizados en meiosis y confirmados en mitosis espermatogoniales es $2n=11$ en machos. Este dato coincide con el número publicado por BREMNER (1955) y contradice el dado por THRELKELD y HENDERSON (1941).

El mecanismo cromosómico del sexo es de tipo XO/XX, aunque las hembras no han podido ser analizadas. El cromosoma X en mitosis no se diferencia de los autosomas ni por su tamaño ni por su morfología. En las profases meióticas, sin embargo, su detección no ofrece la menor dificultad, debido a su diferente afinidad cromófila (heteropicnosis), y grado de contracción. Tampoco en metafase-I existe dificultad alguna en su localización, por su carácter de univalente.

Las mitosis espermatogoniales no son infrecuentes y se han observado varias placas con los cromosomas bien extendidos y separados; a lo largo de ellos no son observables zonas o regiones diferenciadas, ni tampoco puntos de flexión, lo que permite inferir que se trata de estructuras acrocéntricas. Este extremo se confirma por las observaciones de la morfología y comportamiento de los bivalentes, realizados en meiosis. El cariotipo es, pues, asimétrico y unimodal.

Resulta llamativa la estructura de los cromosomas de esta especie en zigotene y paquitene. En estos estadios los filamentos pierden su definición y compacidad, lo que recuerda el desarrollo "lampbrush" (fase difusa). Esta situación, característica en anfibios, ha sido descrita también en algunos heterópteros (LEWIS y SCUDDER, 1958) y en Tetrax (HENDERSON, 1961), por lo que, en principio, no sería de extrañar su aparición en nematodos. Sin embargo, el desarrollo de la fase difusa, siempre se ha hecho coincidir con la diplotene. Esto nos obliga a ser cautos en la interpretación de la referida observación, de la cual, sin embargo, queremos que quede constancia.

Los cromosomas en meiosis muestran su carácter acrocéntrico. Los centrómeros pueden aparecer visiblemente divididos, así algunos bivalentes muestran dos atenuaciones céntricas, durante la primera metafase-anafase-I en los puntos de inserción

de los cromosomas en el huso (Fig. 6). Un caso similar ha sido descrito por JOHN (1955) en *Oswaldocrucia filiformis*.

LIMA-DE-FARIA (1955), apoyándose en observaciones análogas, llegó a la conclusión de que el centrómero meiótico puede iniciar su división en metafase-I y completarla hacia la primera anafase. La producción de dos centrómeros conduciría al desarrollo de dos filamentos cromosómicos, dispuestos paralelamente. La posibilidad de que la división centromérica anteceda a la segunda metafase también fue apuntada por DAVIS (1956).

La existencia, en todas las metafases-I visualizadas en uno de los machos, de un bivalente portador de un segmento heterocromático (gap) ostensible que separa una porción cromófila, sugiere, si se da por válida la hipótesis, de que todos los cromosomas son acrocéntricos, que el individuo en cuestión es heterozigoto para un gran segmento de heterocromatina intercalar, situado en uno de los cromosomas del correspondiente par (dibujo).

B-cromosomas

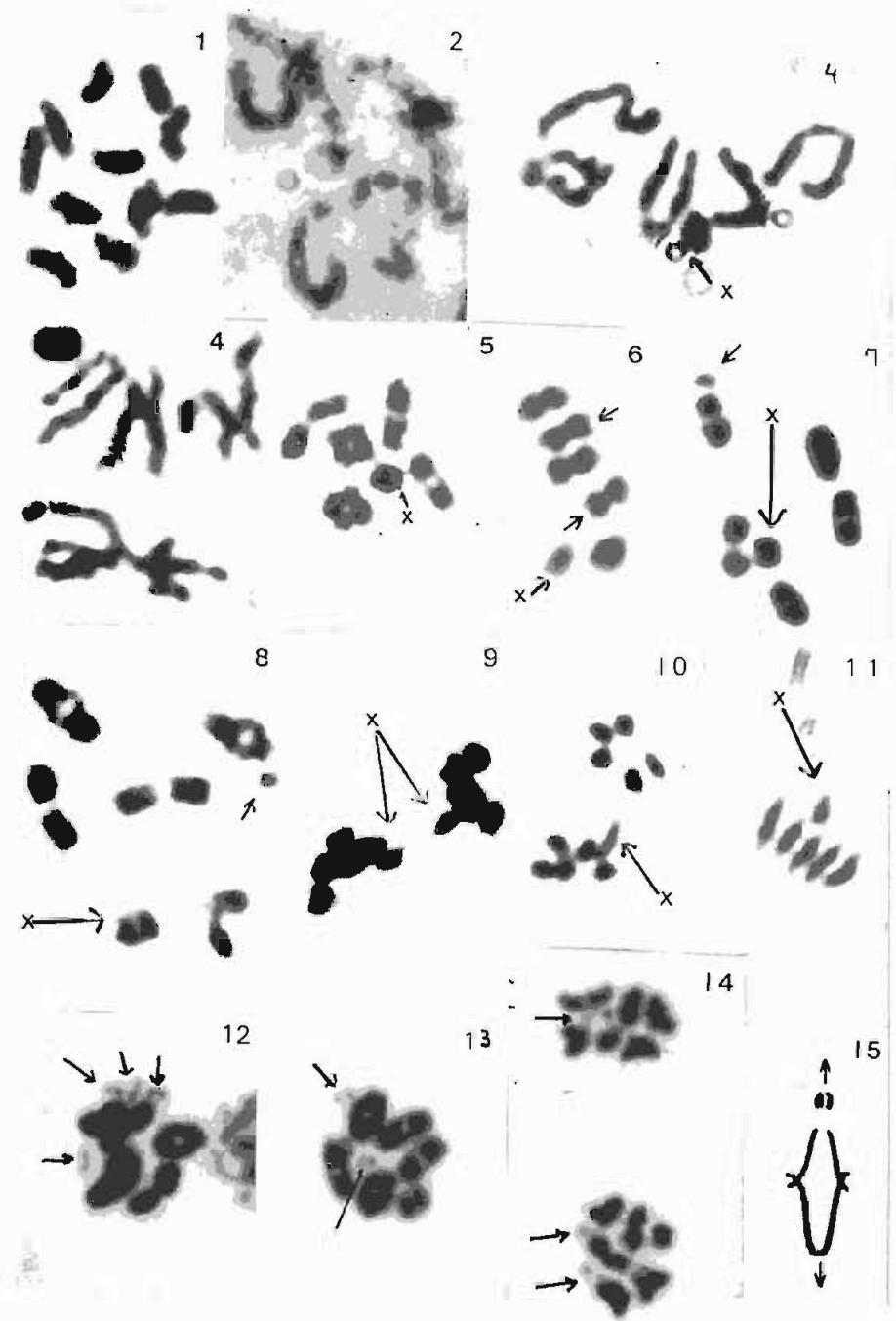
Resulta particularmente interesante el hallazgo de B-cromosomas en un macho de *H. contortus* encontrado en el hospedador *Capra hircus*. Hasta hace poco tiempo, en la literatura, no existían referencias sobre la existencia de estos cromosomas en nematodos. Ello no es demasiado sorprendente, si se tiene en cuenta el escaso número de especies de estos parásitos estudiados cariológicamente hasta el presente momento y a las nada despreciables dificultades, que este material ofrece para el análisis de sus cromosomas y ciclos celulares.

Entre las pocas referencias que conocemos sobre B-cromosomas en nematodos se encuentran la de VALERO y PRETEL (1979), que hacen alusión a una especie, *O. Marshallagia marshalli*, perteneciente a la misma familia que *H. contortus*. Es de esperar que a medida que los estudios cariológicos se vayan extendiendo a un mayor número de especies, vayan también aumentando el número de hallazgos de cromosomas accesorios, ya que estos se conocen en un gran número de taxones tanto en el reino vegetal como animal (PUERTA, 1975), MUNTZING (1974), JONES (1975).

El número de accesorios observados en los núcleos espermáticos del único espécimen portador variaba de 2 a 5. Es verdad que su recuento no siempre ha sido una tarea sencilla, debido a su carácter heterocromático, mínimo tamaño y fácil solapamiento con los cromosomas A. De todos modos, como muestran las fotografías, la presencia de elementos cromófilos accesorios y su carácter de B-cromosomas, establecido en base a su número, tamaño, morfología y comportamiento meiótico irregular es irrefutable.

REFERENCIAS

- BREMNER, K. C. (1955).—Cytological studies on the specific distinctness of the ovine and bovine "strains" of nematode *Haemonchus contortus* (Rudolph, 1803) (Nematoda: Trichostrongylidae). *Australian Journal of Zoology*, 3: 312-323.
- DAVIES, D. R. (1956).—The structure of the centromere in relation to metabolic activity. *Chromosoma*, 8: 221-228.
- GONZALES, J. C. y SANTIAGO, M. (1969).—Estudio cariotipo de *Haemonchus contortus* de ovinos e bovinos no Rio Grande do Sul. *Revista de Medicina Veterinaria (Sao Paulo)*, 4: 276-280.
- GOSWAMI, U. (1976, publ. 1979).—Chromosomes during fertilization in nematodes. *Research Bulletin of the Panjab University*, 27: 217-218.
- HENDERSON, S. A. (1961).—The chromosomes of the British Tetrigidae (Orthoptera). *Chromosoma*, 12: 553-572.
- JOHN, B. (1957).—The chromosomes of zooparasites II. *Oswaldocruzia filiformis* (Nematoda: Trichostrongylidae). *Chromosoma*, 9: 61-68.
- LEWIS, K. R. y SCUDDER, G. C. (1958).—The chromosomes of *Dicranocephalus agilis* (Hemiptera: Heteroptera). *Cytologia*, 23: 92-104.
- LIMA-DE-FARIA, A. (1956).—The role of the kinetochore in chromosome organisation. *Hereditas*, 42: 85-160.
- THRELKELD, W. L. and HENDERSON, M. E. (1940-1941).—Spermatogenesis and oogenesis in *Haemonchus contortus* a nematode worm parasite in the fourth stomach of ruminant animals. *The Virginia Journal of Science* (Abstracted), 2: 172.
- VALERO, A. y PRETEL, A. (1979).—Estudios cariológicos en *Marshallagia marshalli* Ransom, 1907 (Nematoda: Trichostrongylidae). *Revista Ibérica de Parasitología*, 39: 119-122.



LAMINA I

EXPLICACION DE LA LAMINA 1

- Fig. 1.—Metafase mitótica $2n=11$ acrocéntricos.
- Fig. 2-14.—Meiosis.
- Fig. 2.—Paquitene. Nótese la falta de compacidad de los bivalentes.
- Fig. 3, 4.—Díplotene.
- Fig. 5.—Metafase-I con 5-II más X.
- Fig. 6.—M-A-I. Nótese las atenuaciones céntricas.
- Fig. 7, 8.—M-A-I. Bivalente con "gap".
- Fig. 9.—A-T-I. X segrega ecuacionalmente, post-reducción.
- Fig. 10.—A-T-I. X sin dividir, pre-reducción.
- Fig. 11.—M-A-II.
- Fig. 12, 13.—Metafase-I, con B-cromosomas.
- Fig. 14.—M-II con B-cromosomas.
- Fig. 15.—Interpretación del bivalente de las Fig. 7 y 8.