

DIFERENCIACION DE ESPECIES CONGENERICAS DE HAEMONCHUS MEDIANTE FUNCIONES DISCRIMINANTES

Differentiation of congeneric species of *Haemonchus* by discriminant functions

Gustavo A. Morales *

Luz A. Pino **

Alexis Bravo ***

* Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad del Zulia,
Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

** Facultad Experimental de Ciencias,
Universidad del Zulia,
Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

*** Núcleo Universitario Rafael Rangel,
Universidad de Los Andes,
Trujillo, Estado Trujillo, Venezuela

RESUMEN

Mediante el uso del Análisis Discriminante aplicado a una serie de criterios morfométricos clásicos en la descripción de nematodos fueron puestas en evidencia tanto variaciones intraespecíficas de *H. contortus* en relación al hospedador (ovejas o cabras), así como también la existencia de diferencias entre las especies gemelas *H. placei* y *H. contortus*. La validez de la especie *H. similis* fue confirmada.

Palabras claves: Análisis discriminante, efecto hospedador, especies gemelas, *H. contortus*, *H. placei*, *H. similis*.

ABSTRACT

By mean of Discriminant Analysis using some classical descriptive morphological criteria in nematoda, it was determined the intraspecific variation of *H. contortus* in relation with the host (goats or sheep) and the differences between the sibling species *H. placei* and *H. contortus*. The validity of the specie *H. similis* was confirmed.

Key words: Discriminant analysis, host effects, sibling species, *H. contortus*, *H. placei*, *H. similis*.

INTRODUCCION

Dentro del género *Haemonchus*, las especies *H. placei* y *H. contortus* han sido objeto de fuertes controversias desde hace largo tiempo, llegándose incluso a desconocer la validez de la primera de las especies mencionadas, ya que morfológicamente *H. placei* y *H. contortus*, podrían ser consideradas como especies gemelas, si nos ajustamos a la definición suministrada por

Blandin^[3], y Genermont^[10]. En un trabajo de revisión sobre el género *Haemonchus*, Gibbons^[11], reconoce a tan solo 9 especies como válidas, entre las que incluye a *H. contortus* y *H. similis*, ya que para dicha autora, *H. placei* es sinónima de *H. contortus*. Sin embargo, los planteamientos de la autora antes mencionada son fuertemente cuestionados por Whitlock y Lejambre^[34], quienes defienden y justifican con sólidos argumentos biosistemáticos, no sólo la validez de la especie *H. placei*, sino también la de los ecotipos de *H. contortus*.

En vista de lo anteriormente expuesto, consideramos de interés hacer un estudio morfométrico comparativo y la definición de criterios útiles para el discernimiento entre tres especies congénicas de *Haemonchus*: *H. similis*, *H. placei* y *H. contortus*.

MATERIALES Y METODOS

Los nematodos utilizados en el presente estudio forman parte de la colección de helmintos del Laboratorio de Ecología de Parásitos del Núcleo Universitario "Rafael Rangel" de la Universidad de Los Andes, Trujillo (Venezuela).

La información sobre los hospedadores (bovinos, ovinos y caprinos), zonas de procedencia, método de necropsia parasitaria, recolección de nematodos y cargas parasitarias por animal examinado son suministradas en otras publicaciones, Morales, Pino y Perdomo^[24], Morales y col.^[25,26], Pino y col.^[29], Pino y Morales^[31], Morales y Pino^[27]; Pino y Morales^[31]; Pino y col.^[30]; Morales^[28].

MORFOMETRIA

Las medidas de los parásitos fueron realizadas con un microscopio calibrado y provisto de tubo de dibujo, según las recomendaciones de Locquin y Langeron^[18]. Los criterios morfométricos retenidos son de clásica utiliza-

ción en la descripción de nematodos, Morales^[21]. Largo total, distancia de los deiridios al ápice, largo de las espículas y distancia de la base del gancho a la punta de la espícula. Este último criterio es de particular importancia en el género *Haemonchus*, Gibbons^[11].

ANÁLISIS DE LOS DATOS

Los datos morfométricos obtenidos fueron sometidos a la prueba estadística multivariada del Análisis Discriminante. El Análisis Discriminante es un método que permite estudiar las diferencias entre dos o más grupos de objetos con respecto a varias variables simultáneamente. Mediante dicho análisis se busca la separación de grupos conocidos sobre la base de una serie de descriptores métricos discriminantes que tienen como finalidad la ubicación de un objeto nuevo en uno u otro grupo, mediante la utilización de funciones discriminantes, las

cuales no son más que la combinación lineal de los mencionados descriptores que maximizan las diferencias entre grupos y minimizan la variabilidad al interior de cada grupo Legendre y Legendre^[15]; Klecka^[13].

RESULTADOS

En la TABLA I, podemos observar que para la especie *H. similis*, todos los individuos fueron bien clasificados, mientras que para *H. placei*, el porcentaje de especímenes bien ubicados fue tan sólo del 42%. En el caso de *H. contortus*, aislado de caprinos, este porcentaje alcanzó al 60% y para *H. contortus* recuperado de ovinos, se llegó a un 45%, resultando en un 62% el porcentaje total de individuos bien clasificados.

Al realizar los cálculos empleando valores corregidos en relación al largo total del parásito, es decir con proporciones corporales, nuevamente *H. similis*, alcanzó

TABLA I
ANÁLISIS DISCRIMINANTE LINEAL PARA LAS SIGUIENTES ESPECIES CONGÉNICAS
DE HAEMONCHUS: *H. SIMILIS*, *H. PLACEI*, *H. CONTORTUS* DE CAPRINOS (c)
Y *H. CONTORTUS* DE OVINOS (o)

Medidas	Funciones Discriminantes Lineales			
	<i>H. similis</i>	<i>H. placei</i>	<i>H. contortus</i> (c)	<i>H. contortus</i> (o)
Constante	-61,21	-78,98	-95,43	-87,60
Largo Total	0,69	1,61	2,23	1,96
Deiridios-Apice	83,94	89,59	94,98	89,26
Espícula 1	95,97	153,03	158,55	167,41
Espícula 2	62,16	57,80	69,06	58,29
Distancia 1	48,56	-137,99	-112,98	-192,93
Distancia 2	475,01	304,71	213,74	261,23
Resumen de Clasificación				
N° de Parásitos Estudiados	30	19	35	40
N° de Parásitos Bien Clasificados	30	8	21	18
Porcentaje de Casos Bien Clasificados	100%	42,1%	60%	45%
Total de Casos				
N.T.	N° casos de ubicación correcta			% de casos de clasificación correcta
124	77			62,1%

Distancia 1 = Distancia de la base de la barba a la punta de la espícula 1.

Distancia 2 = Distancia de la base de la barba a la punta de la espícula 2.

N.T. = Número total de parásitos estudiados.

TABLA II
**ANALISIS DISCRIMINANTE LINEAL PARA LAS PROPORCIONES CORPORALES
(DIMENSIONES CORREGIDAS EN BASE AL LARGO TOTAL)
DE LAS SIGUIENTES ESPECIES CONGENERICAS DE HAEMONCHUS:
H. SIMILIS, H. PLACEI, H. CONTORTUS DE CAPRINOS (c) Y H. CONTORTUS DE OVINOS (o)**

Medidas	Funciones Discriminantes Lineales			
	H. similis	H. placei	H. contortus (c)	H. contortus (o)
Constante	-65,1	-47,9	-42,8	-45,2
Deiridios-Apice	1.250,6	1.121,1	1.113,7	1.077,0
Espícula 1	197,7	846,1	727,2	934,5
Espícula 2	1.838,8	1.477,7	1.526,4	1.431,7
Distancia 1	2.513,5	-355,0	122,8	-906,7
Distancia 2	3.174,3	249,5	-1.118,2	-429,3

Resumen de Clasificación				
N° de Parásitos Estudiados	30	19	35	40
N° de Parásitos Bien Clasificados	30	9	19	25
Porcentaje de Casos Bien Clasificados	100%	47,4%	54,3%	62,5%

N.T.	Total de Casos	
	N° casos de ubicación correcta	% de parásitos bien clasificados
124	83	66,9%

Distancia 1 = Distancia de la base de la barba a la punta de la espícula 1.
Distancia 2 = Distancia de la base de la barba a la punta de la espícula 2.

N.T. = Número total de parásitos estudiados.

el 100% de individuos bien clasificados, *H. placei*, subió al 47% y *H. contortus* de caprino cayó a un 54%, mientras que *H. contortus* de ovino subió al 63%, llegando al 67% el porcentaje total de individuos bien clasificados, TABLA II. En la TABLA III, se muestran los resultados del análisis sin considerar a la especie *H. similis*, y se constata que el porcentaje de individuos bien clasificados descendió a un 59,6%.

DISCUSION

La simple observación morfológica de las espículas permite la separación de *H. similis* de *H. placei* y de *H. contortus*, mas no de estas dos últimas especies entre sí; lo cual es debido a que las especies gemelas son morfológicamente muy difíciles de distinguir. Sin embargo, en variados casos la observación morfológica minuciosa

pone de manifiesto la existencia de pequeñas variaciones entre ellas, Devilliers y Mahe^[9]. Nuestros resultados destacan la importancia de la distancia de la base de la barba o gancho a la punta de la espícula como criterio morfométrico en la diferenciación de especies congénicas de *Haemonchus*, mostrando inclusive su interés en la distinción de individuos de la misma especie pero procedentes de diferentes especies hospedadoras. Al excluir del análisis discriminante a *H. similis*, el porcentaje de parásitos bien clasificados disminuyó, lo cual es debido a que estos resultados fueron afectados por dos factores de mucho peso, como son la presencia de especies gemelas y de variaciones intraespecíficas debidas al efecto hospedador.

Para Genermont^[10], la adquisición de barreras de aislamiento reproductivo no dependen obligatoriamente de la presencia de fuertes divergencias en el plano morfológico, ya que si esas barreras se hacen presentes y la divergencia morfológica es débil, la especiación conduce a la aparición de las especies gemelas.

Para Gibbons^[11], *H. placei*, no es una especie válida, ya que la considera sinónima de *H. contortus*, no reconociendo dicha autora la validez de las variedades y subespecies de *H. contortus* creadas en base a variaciones de la morfología de la región vulvar y al porcentaje de cada morfotipo hembra en el seno de la población estudiada.

Sin embargo, para otros autores la información aportada por los recursos de la taxonomía clásica no son suficientes para la definición de una especie, sobre todo si se trata de especies gemelas y/o polimórficas, Daskalov^[6]; Lancaster y cols.^[14]; Morales^[21]; Morales y Cabaret^[22,23], planteando estos autores la necesidad de utilizar los recursos de la taxonomía experimental cuando estas situaciones se presentan. Especies del género *Haemonchus*, han sido estudiadas cariológicamente, Bremner^[4], en su constitución genética, Daskalov^[7], además de existir interesantes publicaciones sobre hibridación y determinación de barreras reproductivas entre *H. contortus* y *H. placei*, Daskalov^[6]; Lejambre^[16,17] que llevan a considerar a ambas especies como válidas, tal como lo sostienen con

abundantes evidencias Whitlock y Lejambre^[34]. El caso de *H. similis* y su separación neta de *H. placei* y *H. contortus*, no amerita mayor discusión, ya que no existen dudas acerca de su validez como especie, ni desde el punto de vista morfológico, Trayassos^[33]; Gibbons^[11] ni biológico, Blanchin y col.^[2].

El hecho de que el porcentaje de individuos bien clasificados de *H. placei* de bovinos, *H. contortus* de caprinos y *H. contortus* de ovinos sea relativamente bajo y su clara diferenciación con *H. similis*, es explicable debido a que el análisis discriminante, al igual que otros métodos utilizados en la taxonomía numérica, es sólo una cuantificación y un refinamiento de la información aportada por la taxonomía clásica; Sokal, 1974, citado por Macko^[19]. Sin embargo, la obtención de funciones discriminantes que permiten la separación entre *H. placei* y *H. contortus*, está en concordancia con lo planteado por Devilliers y Mahé^[9], quienes sostienen que la observación morfológica minuciosa (en nuestro caso morfométrica) de especies gemelas pone de manifiesto la existencia de variaciones entre ellas. Por otra parte, nuestros resultados evidencian

TABLA III
ANÁLISIS DISCRIMINANTE LINEAL PARA LAS ESPECIES
H. PLACEI, H. CONTORTUS (c) DE CAPRINOS Y H. CONTORTUS (o) DE OVINOS

Medidas	Funciones Discriminantes Lineales		
	H. placei	H. contortus (c)	H. contortus (o)
Constante	— 66,24	— 79,86	— 73,25
Largo Total	1,17	1,72	1,45
Deiridios-Apice	79,95	83,43	79,60
Espícula 1	103,84	105,87	116,17
Espícula 2	71,56	84,76	73,91
Distancia 1	— 121,14	— 35,86	— 197,46
Distancia 2	293,84	189,90	250,75
Resumen de Clasificación			
Nº de Parásitos Estudiados	19	35	40
Nº de Parásitos Bien Clasificados	10	20	26
Porcentaje de Casos Bien Clasificados	52,6%	57,1%	65,0%
Total de Casos			
N.T.	Nº casos de ubicación correcta	% de casos de clasificación correcta	
94	56	59,6	

Distancia 1 = Distancia de la base de la barba a la punta de la espícula 1.

Distancia 2 = Distancia de la base de la barba a la punta de la espícula 2.

N.T. = Número total de parásitos estudiados.

también la existencia de diferencias morfológicas intraespecíficas en *H. contortus*, en relación al hospedador del cual fueron aislados los parásitos, lo cual podría explicarse considerando la influencia del efecto "Hospedador", como lo demostraron para esta especie los estudios izoenzimáticos de Hermoso y col.^[12], y con otros nematodos Trichostrongyloideos, el tamaño de las espículas y variaciones en las proporciones corporales, Becklund y Walker^[1].

Lo anteriormente expuesto, nos lleva a destacar los riesgos de la aplicación mecánica de este tipo de análisis, ya que si trabajamos con especies polimórficas, la especie principal y su(s) morfo(s) resultaría(n) al igual que en la taxonomía clásica especies diferentes. Morales^[21]; Morales y Cabaret^[22,23]; Cabaret y col.^[5]; Pino y Morales^[32]. A manera de conclusión, consideramos a la taxonomía numérica y en particular al análisis discriminante de una gran utilidad para la separación de individuos pertenecientes a especies congénicas y para el establecimiento de los criterios de mayor importancia que ayuden a discernir entre especies gemelas, además, es un método también útil para poner de manifiesto las variaciones intraespecíficas debidas al efecto hospedador. Por otra parte, este tipo de estudio confirma una vez más la importancia de los métodos de la taxonomía experimental, la cual al analizar el comportamiento genético-reproductivo, nos ofrece una herramienta de gran valor en la definición de especies problemáticas, Genermont^[10]; Devilliers y Mahé^[9]; Mayr^[20].

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] Becklund, W. y Walker, M. Nomenclature and morphology of *Ostertagia trifurcata* Ransom, 1907, with data on spicule lengths of five stomach worms of ruminants. The Journal of Parasitology; 57:508 - 516. 1971.
- [2] Bianchin, I., Melo, H. y Gomes, A. O ciclo parasitário do *Haemonchus similis*. Pesq. Agropec. Bras.; 16: 895 - 899. 1981.
- [3] Blandin, P. Les criteres morphologiques. Memoire de la Société Zoologique de France; 40:15 - 63. 1980.
- [4] Bremmer, K. Cytological studies on the specific distinctness of the ovine and bovine 'strains' of the nematode *Haemonchus contortus* (Rudolphi) Cobb (Nematoda: Trichostrongylidae). Austral. J. Zool.; 3:312 - 323. 1955.
- [5] Cabaret, J.; Morales, G. y Durette-Desset, M. Caracterisation de *Teladorsagia circumcincta* et *T. trifurcata*. II Aspects morphologiques. Ann. Parasitol. Hum. Comp.; 61:55 - 64. 1986.
- [6] Daskalov, P. On the reproductive isolation between *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803), Cobb, 1898 and *Haemonchus placei* (Place, 1893), Ransom, 1911. Bulletin of the Central Helminthological Laboratory; 10:11 - 17. 1965.
- [7] Daskalov, P. *Haemonchus contortus*: New data on its genetic constitution. Experimental Parasitology; 37:341 - 347. 1975.
- [8] Daskalov, P. Reproductive relations between the different morphologic forms of *Ostertagia circumcincta* complex. The Third European Multicolloquium of Parasitology, Cambridge, Inglaterra. 1980.
- [9] Devilliers, Ch. y Mahe, J. Mécanismes de l'évolution animale. Masson, Paris. 1980.
- [10] Genermont, J. Les mécanismes de l'évolution. Dunod Université, Paris. 1979.
- [11] Gibbons, L. Revision of the genus *Haemonchus*. Cobb, 1898 (Nematoda: Trichostrongylidae). Systematic Parasitology; 1:3 - 24. 1979.
- [12] Hermoso, R., Valero, A. y Monteoliva, M. Electroenfoque de las proteínas solubles y electroforesis de isoenzimas en *Haemonchus contortus*, Rudolphi, 1803. Revista Ibérica de Parasitología. Vol. Extra: 301 - 306. 1982.
- [13] Klecka, W. Discriminant analysis. Sage Publications, Beverly Hills, U.S.A. 1988.
- [14] Lancaster, M., Hong, C. y Michel, J. Polimorphism in the Trichostrongylidae, en "Concepts in nematode systematic", editado por Stone, A., Platt, H. y Khalil, L.; p. 293 - 302. Academic Press, Londres. 1983.
- [15] Legendre, L. y Legendre, P. Ecologie numerique. I. Le traitement multiple des données écologiques. Masson, Paris. 1979.
- [16] Lejambre, L. Hybridization studies of *Haemonchus contortus* (Rudolphi, 1803) and *H. placei* (Place, 1893) (Nematoda: Trichostrongylidae). International Journal for Parasitology; 9:455 - 463. 1979.
- [17] Lejambre, L. Pre-matings barriers in hybrids *Haemonchus*. International Journal for Parasitology; 13:371 - 375. 1983.
- [18] Locquin, M. y Langeron, M. Manuel de microscopie. Masson, Paris. 1978.
- [19] Macko, J. On the subspecies in parasites with respect to helminths. Folia Parasitologica; 30:107 - 116. 1983.
- [20] Mayr, E. La biologie de l'évolution. Hermann, Paris. 1981.
- [21] Morales, G. Caractérisation morphologique, biologique et épidémiologique de *Teladorsagia circumcincta* et *T. trifurcata*. Tesis Doctoral (Sciences de la Nature). Université Pierre et Marie Curie (Paris VI), Francia. 1983.
- [22] Morales, G. y Cabaret, J. Morfometría comparada entre machos de una especie polimórfica: caso de *Teladorsagia circumcincta* y *T. trifurcata* (Nematoda, Trichostrongylidae). Acta Científica Venezolana; 36:341 - 344. 1985.
- [23] Morales, G. y Cabaret, J. Determinación de las relaciones polimórficas entre *Teladorsagia circumcincta* (Stademann, 1894) y *Teladorsagia trifurcata* (Ransom, 1907) en condiciones experimentales. Mem. Inst. Oswaldo Cruz; 80:85 - 90. 1985.
- [24] Morales, G., Pino, L. A. y Perdomo, L. Comparación de la infestación natural por helmintos en ovinos y caprinos de zonas áridas de Venezuela. Rev. Fac. Ciens. Vets. U.C.V.; 32:63 - 76. 1985.
- [25] Morales, G., Pino, L. A., Aldana, E., Perdomo, L. y Molina, E. Comparación entre las comunidades de nematodos parásitos de ovinos y caprinos criados en zonas áridas de Venezuela. Mem. Inst. Oswaldo Cruz; 81:185 - 190. 1986.
- [26] Morales, G., Pino, L. A., Aldana, E., Perdomo, L. y Molina, E. Caracterización microecológica de nematodos parásitos presentes en caprinos de zonas áridas de Venezuela. Mem. Inst. Oswaldo Cruz; 81:199 - 205. 1986.

- [27] Morales, G. y Pino, L. A. Eco-epidemiología de *Haemonchus contortus bahiensis*, ecotipo presente en ovinos de zonas áridas de Venezuela. Mem. Inst. Oswaldo Cruz; 82:359-369. 1987.
- [28] Morales, G. Epidemiología y sinecología de los helmintos parásitos de ovinos y caprinos de zonas áridas del estado Lara (Venezuela). Trabajo de ascenso a la categoría de Profesor Titular, Núcleo Universitario "Rafael Rangel", Universidad de Los Andes, Venezuela. 1988.
- [29] Pino, L. A.; Morales, G., Aldana, E., Perdomo, L. y Molina, E. Caracterización microecológica de los nematodos parásitos de ovinos de zonas áridas de Venezuela. (Un nuevo criterio para el control). Rev. Iber. Parasitol.; 46:395 - 401. 1986.
- [30] Pino, L. A.; Morales, G., Perdomo, L. y Aldana, E. Epidemiología de nematodos gastroentéricos de ovinos de zonas áridas de Venezuela. Turrialba; 38:13 - 18. 1988.
- [31] Pino, L. A. y Morales, G. Una aproximación al conocimiento del equilibrio hospedador parásito entre *Haemonchus contortus bahiensis* Grisi, 1974 y *Capra hircus* en zonas áridas de Venezuela. Rev. Fac. Cienc. Vets. U.C.V.; 34:67 - 81. 1987.
- [32] Pino, L. A. y Morales, G. Análisis discriminante de *Teladorsagia circumcincta* y su morfo *T. trifurcata*. Primer reporte sobre su presencia en Venezuela. Revista Científica, 1 (2): 20-25. 1991.
- [33] Travassos, L. Contribucoes para o conhecimento da fauna helmintológica brasileira. Mem. Inst. Oswaldo Cruz; 13:5 - 135. 1921.
- [34] Whitlock, L. y Lejambre, L. On the taxonomic analysis of the genus *Haemonchus*, Cobb, 1898. Systematic Parasitology; 3:7 - 12. 1981.

EVENTOS CIENTIFICOS INTERNACIONALES

Fecha	Evento	Lugar
02 - 07, agosto, 1992	I Congreso Mundial de Juventudes Científicas.	San Juan, Puerto Rico
10 - 13, august, 1992	International Workshop on Pasteurellosis in Production Animals.	Bali, Indonesia
16 - 16, august, 1992	1st. AMIVEQ International Symposium of Equid Veterinary Medicine.	Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil
23 - 27, august, 1992	12th. International Congress on Animal Reproduction.	The Hague, The Netherlands.
13 - 17, septiembre, 1992	43º Reunión Anual de la Asociación Europea de Producción Animal.	Madrid, España
21 - 25, septiembre, 1992	I Congreso Mundial de Razas Autóctonas y Criollas de Ganado	Zafra, Extremadura, España
05 - 09, october, 1992	XIII Pan American Congress of Veterinary Sciences.	Santiago, Chile
25 - 27, noviembre, 1992	III Reunión sobre Investigaciones en Producción Ovina en el Cono Sur.	San Carlos de Bariloche, Argentina
12 - 17, julio, 1993	XIII Reunión de ALPA (Asociación Latinoamericana de Producción Animal).	Santiago, Chile
28, june - 2nd., july, 1993	VII Animal Production World Conference.	Edmonton, Canada
Date to be announced, 1995	25th. World Veterinary Congress.	Yokohama, Japón