

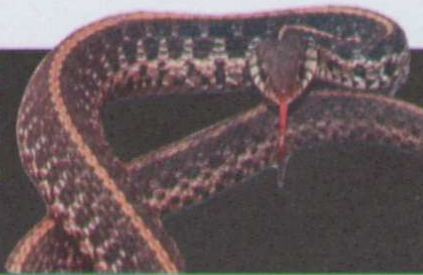
Rastreado las Huellas de la Lombriz: ¿Porqué las víboras sacan la lengua

Y SABOREAN A LAS LOMBRICES?

Dr. Martín Gerardo Rodríguez ¹

"Un naturalista sería feliz si no tuviera que escribir sus observaciones."

Charles Darwin



"Una investigación comienza con una pregunta y abre una red de avenidas, las cuales hay que ir construyendo para crear una línea de investigación"

RESUMEN

El presente artículo tiene como objetivo, inducir al análisis de una revisión de la literatura científica en el campo de la Biología de las lombrices y las víboras. En él hago una revisión del tema y pretendo enseñar algunas pautas que un investigador debe reconocer en el proceso de revisión de un tema, necesario para plantear su pregunta de investigación en forma racional. Primeramente hice una recopilación de algunos artículos relacionados con las víboras y las lombrices. Enseguida, expongo los principales logros encontrados en cada uno de ellos y cuestiono al lector para que se ubique en el análisis de la literatura y el estado actual del tema. Finalmente, complemento el artículo dando una respuesta a la pregunta del título y señalando algunos conceptos asociados con el tema.

RASTREANDO LAS HUELLAS DE LA LOMBRIZ

Kubie y Halpern (1975) estudiaron el comportamiento de la víbora en un laberinto tipo Y, vs el rastro de la lombriz de tierra y encontraron que las víboras acertaban en un 80% de los intentos de rastreo. Posteriormente, Kubie en 1978 hace un estudio en un laberinto de elección múltiple para investigar porqué a las serpientes les atrae el olor de las lombrices y sacan la lengua. El encontró que cuando se ponían lombrices a deslizarse en el laberinto, el rastro que dejaban era seguido por las víboras y si éste era retirado, se perdía la capacidad de seguir la trayectoria. En otro experimento, se estudió el efecto de la concentración del lavado del rastro y se encontró que las víboras incrementaron el número de veces que movían la lengua. Años más tarde, Halpern y otros investigadores se dedicaron a caracterizar los componentes del rastro de la lombriz de tierra y repitieron sus estudios, ahora poniendo el extracto de la lombriz de tierra en una caja de Petri y cerrando los conductos nasales de la víbora, en estos experimentos encontraron que las víboras respondieron de la misma forma, independientemente de que se les hubieran cerrado los conductos nasales. Por otro lado, trataron el extracto de la lombriz con calor y

¹ Departamento de Fisiología y Farmacología. Centro de Ciencias Básicas. UAA. Teléfono 01 (449) 9108424 Fax 01 (449) 9108401.

Corro electrónico: romag18@hotmail.com

soluciones ácidas o básicas para modificar el pH, reportaron que no hubo cambio significativo en la respuesta de las víboras. También hicieron separaciones del lavado de la lombriz con solventes orgánicos como el alcohol, la acetona y el cloroformo. El extracto que se preparó con cloroformo presentó una actividad atrayente hacia las víboras. Dicho extracto resultó positivo cuando se le adicionó un reactivo que se une a las proteínas (Prueba de Bradford, Reformato 1983). En otro artículo, el grupo describió que los extractos acuosos de la lombriz tienen actividad en las víboras y que la ebullición por 4 hs no afecta la actividad estimulante. Además, dan evidencias de que en realidad es una proteína (F2) con un peso molecular >67 kDa y una fracción pequeña <3 kDa sin actividad estimulante llamada F4 (Halpern 1984).



Figura 1. Imagen de la víbora y de la lombriz en la cual los investigadores basaron su línea de investigación. La víbora es conocida también como culebrilla común, mide al nacer uno 20 cm y de adulta llega a medir 130 cm. Vive en Norteamérica, se alimenta principalmente de lombrices, ranas y sapos, sus métodos de cacería son: mirar a su presa, levantar su cuello y emboscar a su presa. Su dieta es principalmente carnívora. Lombriz de tierra cuyo peso es 70% de proteína, su alimento es la materia orgánica vegetal y su crecimiento es rápido y hay unas 10000 especies (figuras obtenidas de Zimmerman 2002).

Ellos analizaron el efecto de tratamiento ácido o alcalino del lavado acuoso de las lombrices y encontraron que la actividad se perdía en un tiempo corto cuando se cambiaba el pH, tal efecto lo atribuyeron a la destrucción del componente F2 (Kischenbaum 1985).

En su búsqueda por identificar el componente activo, estudiaron la cutícula de la lombriz y encontraron que esta capa que recubre a la lombriz, tiene actividad estimulante y su composición de aminoácidos fue igual a la del colágeno de la cutícula (Kirschenbaum 1986).

Jiang y cols. (1989) continuaron con el aislamiento y la caracterización de la proteína, sin embargo, esta vez no hicieron lavados de lombriz sino que estimularon la secreción de la lombriz e hicieron un análisis químico. Observaron que en el moco de la lombriz hay una sustancia con propiedades de alarma y la nombraron feromona de alarma. La feromona tiene una actividad atrayente hacia las lombrices pero no para las víboras. Las propiedades de esta molécula fueron: masa mayor que 139 Da, pero menor que 1 kDa, la solubilidad fue mayor en agua $>$ Dimetil-sulfóxido $>$ Metanol $>$ 2-Propanol $>$ Acetona; la sustancia fue termoestable y retuvo su actividad biológica cuando se calentó a 100 °C por 1 h. La feromona de alarma presentó la emisión de luz (fluorescencia) bajo iluminación con luz ultravioleta.

Al siguiente año publicaron otro artículo donde mencionaban que la secreción tuvo una coloración amarilla y con actividad estimulante hacia las víboras. Purificaron una glicoproteína con masa molecular de 20 kDa y una proporción de 2:1 proteína/ carbohidratos. Además demostraron una alta actividad atrayente hacia las víboras (Jiang y col. 1990). En otro reporte hicieron mención al aislamiento de ocho proteínas, dándole importancia a la de 20 kDa, que tiene tres grupos sulfhídricos necesarios para su actividad, y la presencia de otra proteína de bajo peso molecular de 3 kDa (Wang 1993).

El mismo grupo reportó en 1993 estudios electrofisiológicos donde evaluaron la respuesta eléctrica de neuronas del bulbo olfatorio a vapores de acetato de amilo, butanol y lavado de lombriz. Encontraron que las víboras son sensibles a dichos compuestos volátiles cuando son liberados en corrientes de vapor. Más

tarde reportaron que las víboras hicieron una discriminación de los olores donde participó el nervio principal olfatorio y que la detección de un olor no dependió principalmente del sistema vomeronasal. En este mismo año, otro investigador fuera del grupo (Waters RM 1993) estudió el rastreo de olores de extractos de lombriz y encontró una dependencia entre la respuesta a detectar el olor y la concentración del extracto de lombriz en un sistema de laberinto de dos vías.

Análisis del artículo.

- ¿Cuál fue la primera observación que condujo a Kubie a estudiar las víboras?
- ¿Quién le siguió en sus investigaciones?
- ¿Quién es el líder del grupo de investigación?
- ¿Cuáles es el tema principal de las investigaciones del grupo?
- ¿Cuál fue la contribución de Waters al tema de investigación?
- ¿Cuántos años les ha llevado el estudio del rastro de la lombriz?
- ¿Cuántos artículos de investigación han publicado en el campo?
- ¿Con qué enfoque podrías suponer que publicaron los siguientes años?

¿Crees que la línea de investigación ya no tendrá más preguntas?

Si quieres conocer las respuestas a estas preguntas envíame un correo electrónico y te daré las respuestas.

El porqué una víbora come lombrices es porque se estimula el órgano vomeronasal. ¿Pero qué es el órgano vomeronasal? Es una estructura anatómica que se encuentra en la nariz y tiene una función quimiosensorial, la cual fue primeramente descrita en la cabeza del venado *Cervus sp* (Figura 2) y en el embrión de una víbora. Las neuronas que captan los olores se conectan con el bulbo olfatorio accesorio. Esta estructura no es exclusiva de las víboras, ya que primeramente se describió en un venado y posteriormente en los mamíferos domésticos como el gato, la vaca, la cabra, el caballo, el puerco y la oveja. En cuanto al hombre, se sabe que existe en el desarrollo embrionario, pero cuando crece y llega a la edad adulta tiende a desaparecer, limitando así la capacidad perceptiva de los olores. La presencia y función han quedado demostradas en la reproducción de los mamíferos, donde participa en el reconocimiento de las feromonas que se despiden durante el apareamiento y el comportamiento social.

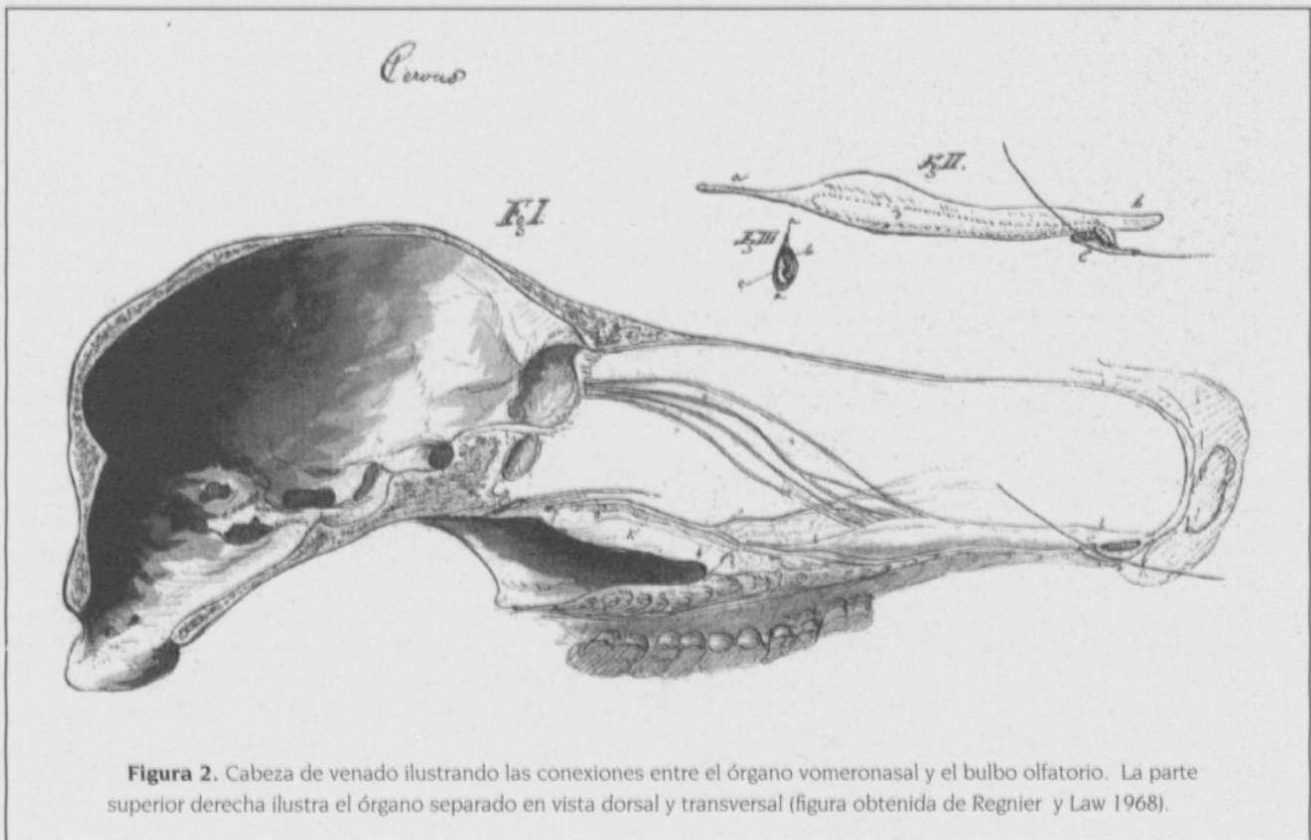


Figura 2. Cabeza de venado ilustrando las conexiones entre el órgano vomeronasal y el bulbo olfatorio. La parte superior derecha ilustra el órgano separado en vista dorsal y transversal (figura obtenida de Regnier y Law 1968).

FEROMONAS

La comunicación olfatoria es probablemente una de las más antiguas y quizás la más eficiente empleada por los animales. Así el poder olfatorio ha quedado atestiguado por cada uno de nosotros, quienes hemos visto cómo un perro localiza a una hembra en celo, o cómo una hembra virgen atrae a la manada a grandes distancias.

Como se mencionó arriba, estos investigadores aislaron una sustancia que atrae a las lombrices, por lo que podría ser considerada una feromona. A continuación se describe brevemente el concepto y su clasificación. Karlson y Butenandt (1936) propusieron el nombre de feromona, para definir a los compuestos químicos que posibilitan a los miembros de la misma especie comunicarse unos con otros. El término se deriva del griego "ferien" que significa acarrear y de hormonan (que excita o estimula). De aquí que no sea lo mismo, feromona que hormona. Las hormonas son producidas por glándulas endocrinas y liberadas internamente para actuar con un tejido blanco dentro del organismo, mientras que las feromonas son producidas y descargadas a través de conductos externos y su función se realiza sobre

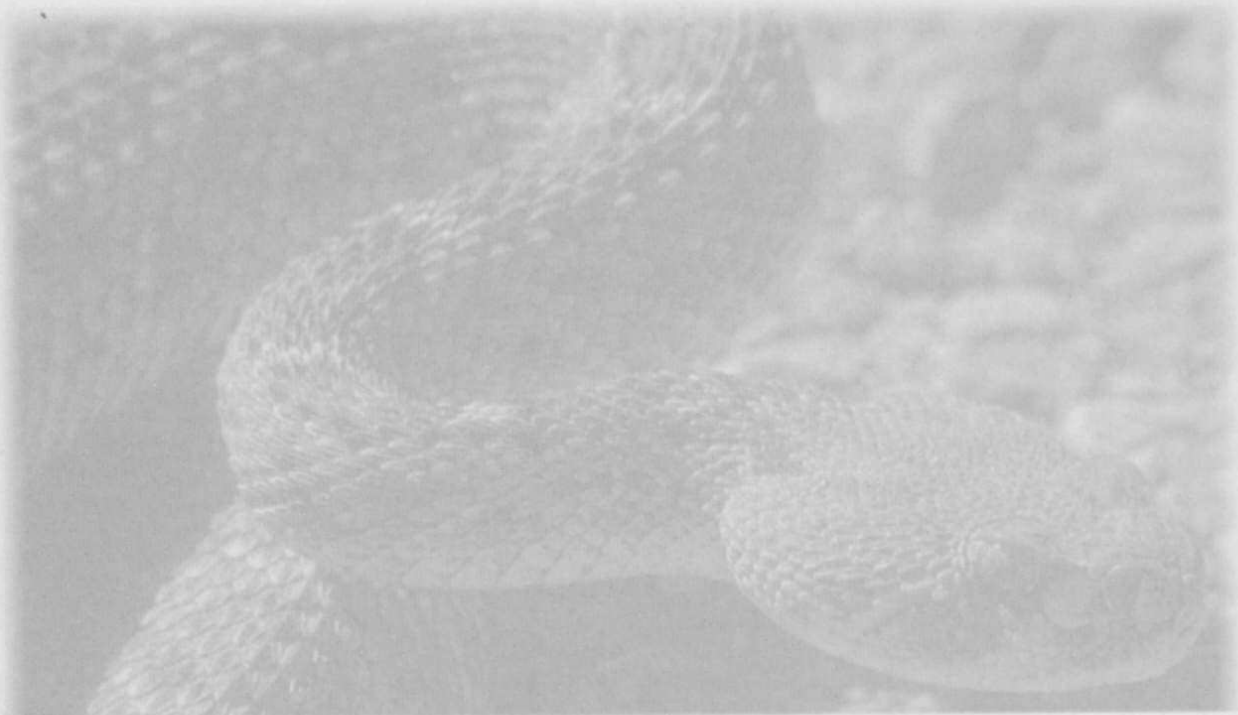
otros miembros de la misma especie, no sobre el propio individuo (Regnier y Law 1968).

Las feromonas afectan el sistema nervioso central por estimular o retardar los comportamientos de los miembros de la especie. La naturaleza química de la comunicación requiere que las feromonas sean compuestos volátiles que se evaporen y viajen en el aire para llegar al sistema vomeronasal. Las feromonas pueden clasificarse en: sexuales, de alarma y de reclutamiento.

Feromonas sexuales son sustancias principalmente con actividad estimulante sobre el apareamiento de animales de ambos sexos. Como en el caso de las abejas y la reina madre, donde ésta evita que la comunidad llegue a un estado fértil.

Feromonas de alarma son sustancias usadas para avisar a otros miembros del peligro. El ejemplo lo tenemos en este artículo.

Feromonas de reclutamiento son usadas principalmente para reclutar a los miembros con la finalidad de hacer una tarea específica. Esto sucede con las hormigas donde la clase reclutadora incita a las recolectoras por medio de la liberación del compuesto químico 2-heptanona.



BIBLIOGRAFÍA

1. Dobing K-J., and D. Trotter. "Estructure and function of vomeronasal organ". *The J. Exp. Biol.* 1998, 201:2913-2925.
2. Halpern M, Schulman N, Scribani L, Kirschenbaum DM. "Characterization of vomeronasally-mediated response-eliciting components of earthworm wash-II". *Pharmacol Biochem Behav.* 1984 Oct;21(4):655-62.
3. Inouchi J, Wang D, Jiang XC, Kubie J, Halpern M. "Electrophysiological analysis of the nasal chemical senses in garter snakes". *Brain Behav Evol.* 1993;41(3-5):171-82.
4. Jiang XC., Wang D, and M. Halpern. "Isolation and characterization of alarm pheromone from electric shock-induced earthworm secretion". *Pharmacol Biochem Behav.* 1989 Oct;34(2):213-21.
5. Jiang XC., Inouchi J., Wang D., and M. Halpern. "Purification and characterization of a chemoattractant from electric shock-induced earthworms secretion. Its receptor binding, and signal transduction through the vomeronasal system of garter snakes". *J. Biol. Chem.* 1990 May 265 (15):8736-9744.
6. Kirschenbaum DM., Schulman N., Yao P., and M. Halpern. "Chemo-attractant for the garter snake: characterization of vomeronasally-mediated response-eliciting components of earthworm. Wash-III". *J Comp Physiol Part B: Biochem and Mol. Biol...* 1985 82(3):447-453.
7. Kirschenbaum DM., Schulman N., and M. Halpern. "Earthworms produce a collagen-like substance detected by the garter snake vomeronasal system". *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1986 Mar 83:1213-1216.
8. Kubie J, Halpern M. "Laboratory observations of trailing behavior in garter snakes". *J Comp Physiol Psychol.* 1975 Sep;89(7):667-74.
9. Kubie JL, Garter snake trailing behavior: "effects of varying prey-extract concentration and mode of prey-extract presentation". *J Comp Physiol Psychol.* 1978 Apr;92(2):362-73.
10. Reformato LS., Kirschenbaum DM., and M. Halpern. "Preliminary characterization of response-eliciting components of earthworms extract". *Pharm. Biochim. Behav.* 1983 Feb 18(2):247-254.
11. Regnier FE., and JH Law. "Insect pheromones". *J. Lipid Res.* 1968, 9:541-561.
12. Wang D, Jiang XC, Chen P, Inouchi J, Halpern M. "Chemical and immunological analysis of prey-derived vomeronasal stimulants". *Brain Behav Evol.* 1993;41(3-5):246-54.
13. Waters RM. "Odorized air current trailing by garter snakes, *Thamnophis sirtalis*". *Brain Behav Evol.* 1993;41(3-5):219-23.
14. Zimmerman, R. 2002. "Thamnophis sirtalis" (On-line), *Animal Diversity Web*. Accessed September 09, 2004 at http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Thamnophis_sirtalis.html.

GLOSARIO

<i>Cutícula.</i>	Capa más externa que recubre el cuerpo de las lombrices y de animales invertebrados.
<i>Da.</i>	Abreviación de la palabra Dalton apellido del químico John Dalton fundador de la química atómica moderna. El Dalton se define como la unidad más pequeña para expresar masas atómicas y masas de moléculas grandes. De tal forma, que cuando son masas grandes le adicionamos el prefijo kilo =1000 y obtenemos la palabra kilodalton = kDa.
<i>Glicoproteína.</i>	Es una proteína que tiene azúcares unidos a su estructura.
<i>Carbohidratos.</i>	Sustantivo aplicado en química para nombrar en general a los azúcares.
<i>2-heptanona.</i>	Sustancia química producida por algunos insectos, irritante a la piel del hombre, pero que actúa como feromona en hormigas.