

*Excmo. Sr. Director,  
Excmas. Señoras y Excmos. Señores Académicos  
Señoras y Señores,*

Es para mi un honor haber sido designado por esta Real Academia de Farmacia del Instituto de España para pronunciar el discurso de apertura del Curso del año 2000. Esta designación obedece al turno rotatorio establecido en esta Corporación y este curso siguiendo normas preceptivas me ha correspondido a mí. Aceptando gustoso dicha obligación, que además de ser un honor es un deber de todo Académico, me siento complacido al cumplir con esta responsabilidad. Espero y así me he esforzado, que las palabras que voy a dirigirles tengan la altura científica adecuada y despierten el máximo interés de esta distinguida concurrencia

Hace unos años, en 1992, leí en esta Corporación, en este mismo estrado, mi discurso de ingreso como Académico de Número. Fue un día para mí inolvidable. Entonces hablé acerca de un tema para mí fascinante: “Moléculas y Materia viva”. Expuse la importancia de las biomoléculas en la constitución de la materia viva existente y la participación de moléculas precursoras muy simples en la aparición de los organismos vivos en las más tempranas edades de la tierra que habitamos.

Siguiendo mi interés por el conocimiento del papel de las moléculas biológicas, esta vez he elegido el tema del papel de algunas de estas moléculas en la comunicación entre los diversos organismos de la misma especie o de especies diferentes, tanto entre individuos del reino animal como del reino vegetal y tanto en seres unicelulares como pluricelulares. Es decir, órdenes y respuestas siguiendo un lenguaje químico. Compuestos químicos diversos pero no determinados al azar, sino codificados genéticamente se liberan por ciertos seres vivos y son captados por otros seres vivos mediante receptores también genéticamente codificados. Estos compuestos químicos liberados y captados se transportan a través del medio ambiente líquido o gaseoso y a una cierta distancia física que separa a los organismos “emisores” y “receptores”.

La comunicación química está ampliamente difundida en el reino animal, habiendo sido muy estudiada en insectos y existiendo nueva

información en otros invertebrados así como en vertebrados. Como ya se ha indicado se conocen cada vez más datos acerca de esta comunicación entre especies del reino vegetal.

Ya era conocido al final del siglo XIX, que sustancias emitidas por un organismo influían en el comportamiento de otros. El naturalista francés Fabre, usó polillas hembras trituradas, para atraer a machos de la misma especie. Hacia 1890 ya muchos entomólogos eran conocedores del dimorfismo sexual expresado en las antenas de las polillas y creían que las antenas plumosas del macho tenían receptores sensibles a estímulos químicos procedentes de la hembra.

Ya en pleno siglo XX los tres premios Nobel, fundadores de la etología, el austriaco Konrad Lorenz, el holandés Nikolaas Tinbergen y el alemán Karl von Frisch señalaron mecanismos básicos con los que la programación genética ayuda directamente a la supervivencia, tanto del individuo como de la especie, y a la adaptación de los animales; entre ellos los estímulos señal, llamados también liberadores o desencadenantes, que no son necesariamente los visuales o acústicos, táctiles o incluso eléctricos sino los olorosos, dependientes de compuestos químicos, que emitidos por hembras resultan clave para atraer a los machos. Estas moléculas son medios de comunicación biológica que influyen en el comportamiento animal. Fueron llamadas feromonas y definidas en un principio como sustancias olorosas producidas por un animal que afectan a la conducta de otros animales.

## Moléculas y comunicación biológica

En el año 1959 Karlson y Lüscher (1) acuñaron el término Feromona (2) (3) (4), expresando así un compuesto químico que producido y segregado por un animal ejerce en otro animal de la misma especie una respuesta de comportamiento o fisiológica, mediante una correlación humoral entre individuos. Valgan como ejemplos los compuestos de atracción sexual de insectos que segregados por las hembras son percibidos a grandes distancias por los machos. De una mariposa del género *Bombix* (la mariposa del gusano de seda) se aisló por primera vez -en 1959- la sustancia química que originaba este tipo de comunicación. Se había descubierto la primera feromona, el *bombicol*, compuesto químico alifático de 16 C, con dos dobles enlaces y una función alcohólica primaria.

Las feromonas son probablemente percibidas a través del sentido del olfato por muchos animales. Es también muy probable que sólo unas pocas moléculas por célula sensorial sean suficientes para que tenga lugar su efecto o reacción. Se han encontrado sustancias atrayentes en otras mariposas, escarabajos, cucarachas, hormigas y también en arácnidos.

Las feromonas sirven también para marcar huellas en las hormigas así como para permitir su reconocimiento a distancia. También en animales superiores son operativas ciertas feromonas; en el verraco (cerdo macho no castrado) un esteroide androgénico, derivado de la testosterona, la 5- $\alpha$ -androsterona, sirve de feromona sexual, permitiendo el reconocimiento a distancia por su olor característico. Entre las feromonas se pueden incluir compuestos químicos muy diversos; ésteres volátiles de alcoholes de elevado peso molecular, como el mencionado *bombicol*, actúan como atrayentes sexuales de las hembras para los machos de determinados insectos: acetato de *cis*, *cis*— y *cis*, *trans* - 7,11-hexadecadienilo y acetato de *cis*-11-tetradecenilo (el isómero *trans* tiene mayor poder atrayente). Puesto que más de una especie usa el mismo atrayente es posible que machos de distintas especies puedan distinguir entre diferentes proporciones de isómeros o de mezclas de sustancias estrechamente relacionadas.

En líneas generales se puede decir que feromona es una sustancia “olorosa” producida por un animal que afecta a la conducta de otros animales. Su modo de actuar puede ser análogo al de las hormonas dentro

del propio organismo. Son mensajes químicos específicos de una célula a otra que provocan o estimulan ciertas funciones. Pero, como se ha indicado antes, los feromonas tienen un sentido más amplio: son moléculas estimulantes a distancia, razón por la cual nos podríamos atrever a llamarlas con una denominación que emplea un prefijo muy usual en estos tiempos, como es “tele” (distancia), lo que en nuestro caso sería “telemoléculas”; y además no sólo actúan en animales sino que también mecanismos análogos de efectos interindividuales e incluso interespecíficos se han descrito en bacterias, levaduras y plantas superiores.

Las feromonas están presentes en todo el conjunto de seres vivos y son probablemente, la forma más antigua de comunicación. La compleja ameba *Dictyostelium*, por ejemplo, usa una sustancia atrayente para individuos de su especie con fines reproductores. En insectos, ya se ha indicado, se han descrito multitud de comportamientos debidos a la presencia de tales feromonas. Es conocido cómo las hembras de determinados insectos segregan sustancias químicas atrayentes para los machos (lagarta y escarabajo). Algunas de estas sustancias se usan actualmente como trampas para insectos indeseables, ya que con ellas se puede desorientar a los machos y así eliminarlos. Insectos sociales como las hormigas emplean feromonas que indican el rastro que conduce a los alimentos y otras que provocan ataques contra enemigos o señalan la necesidad de huir. Varias especies de invertebrados mediante feromonas han roto el código de las hormigas; así la chinche asesina, deja rastros de olor falso y se come a las hormigas que siguen el rastro. Gran variedad de arácnidos, parásitos o simbioses producen las feromonas típicas de las larvas de hormigas viviendo así dentro del hormiguero consumiendo a menudo sus huevos y larvas.

Engaño parecido ocurre en ciertas especies vegetales. Algunas orquídeas tropicales producen feromonas sexuales de ciertas avispas, cuyos machos, atraídos, intentan aparearse sin éxito con unas flores parecidas a las hembras, consiguiendo así transportar el polen de una flor a otra y favoreciendo así la polinización entomógama.

La feromonas son también comunes en los vertebrados, que segregan feromonas que marcan sus territorios cuyos olores son detectados por machos a grandes distancias y alteran su comportamiento. Es conocido que hembras de perros, a las que no se las han extirpado los ovarios, atraen a

machos sin castrar desde un kilómetro de distancia. Otros tipos de olores, de naturaleza química variable, sirven para identificar a cada especie animal. En el hombre se ha observado que el sudor adquiere determinado olor a partir de la pubertad, sugiriendo que determinadas feromonas pueden afectar alguna vez al comportamiento.

Así pues podemos resumir que feromonas son sustancias segregadas hacia el exterior del cuerpo que son percibidas por un segundo individuo de la misma especie (probablemente por el olfato) afectándole en su conducta específica.

Pero antes de seguir adelante es conveniente hacer ciertas precisiones acerca de las feromonas y del grupo de estimulantes biológicos en el que se pueden incluir. El nombre de feromona alude de alguna manera a hormona en el sentido más amplio. Se entiende por hormona una sustancia química que producida en el cuerpo tiene un efecto regulador específico sobre la actividad de ciertas células de un órgano u órganos determinados. Desde este punto de vista una hormona es una sustancia química que producida en un órgano de un ser vivo actúa en otro lugar del cuerpo del mismo individuo, ejerciendo su función en determinadas células. Estas sustancias actúan en el propio individuo que las produce transportándose desde el lugar de producción al de acción a través de un medio interno que puede ser en los animales la sangre. Estos sistemas internos se denominan endocrinos. Por otra parte existen otras sustancias que producidas en determinados lugares se transporta al lugar de acción pero su función se realiza fuera de los sistemas internos. A este tipo de secreción se le denomina secreción externa o exocrina, siendo un ejemplo los jugos pancreáticos digestivos que se vierten al intestino delgado y constituyen un vertido al exterior donde no interviene ningún transportador interno. Este tipo de secreción no provoca ningún efecto sobre el comportamiento del individuo, ya que no se ejerce sobre ninguna célula, tejido u órgano. Existe otro sistema de comunicación o transporte entre células próximas que se llama el sistema paracrino, o de regulación paracrina, como es el caso de ciertas citoquinas, que segregadas por una célula ejercen su función en diferente célula situada en su proximidad y que posee los receptores adecuados.

El caso de las feromonas se puede referir a un tipo de secreción externa de sustancias químicas que estimulan distintos procesos en otros

individuos de la misma o distinta especie. En estos casos el producto químico se segrega al exterior, al ambiente, es transportado a una cierta distancia y es percibido por órganos receptores de otros individuos. Por esa razón algunos autores definen las feromonas como señales químicas transportadas por el aire (*airborne chemical signal*) que liberadas por un individuo al medio ambiente afectan a la fisiología o al comportamiento de otros miembros de la misma especie.

Además de la comunicación auditiva o visual, en el caso de las feromonas los organismos transmiten mensajes químicos de información entre individuos. La afrenta ruidosa nasal de la mofeta, el perro con su nariz inclinada hacia abajo persiguiendo su presa; la gata advirtiendo su disponibilidad sexual para los machos que no ve (pero que oye), todos ellos son ejemplos conocidos de comunicación química entre animales. Law y Regnier (5) proponen el nombre de “sustancias semioquímicas” (“semio” = señal o marca) nombre que puede no tener una relación etimológica pero que se puede recordar fácilmente y puede resultar de gran utilidad.

La comunicación semioquímica se puede dividir en dos grandes clases: a) entre individuos de la misma especie (intraespecíficas) y b) entre individuos de distintas especies (interespecíficas). Las sustancias semioquímicas cuya transmisión favorece adaptativamente a las especies que las producen son llamadas “alomonas”, mientras que aquellas que favorecen al receptor son denominadas “kairomonas”. El término “feromona” generalmente se aplica para la comunicación dentro de la misma especie.

Los animales se comunican entre sí en relación con sus necesidades de alimento, de protección y de reproducción, principalmente. Los predadores son frecuentemente atraídos por su presa a través del olor, y algunas posibles presas responden al ataque con un diverso arsenal de sustancias químicas defensivas. Los insectos sociales usan feromonas de alarma para su defensa colectiva y feromonas de refuerzo y de reclutamiento con el fin de incrementar la eficacia de la defensa; otros explotan estos sistemas de feromonas para trastornar a insectos sociales. El uso de señuelos sexuales está ampliamente difundido desde hongos a mamíferos. Aunque muchos animales tienen desarrollados sistemas de comunicación extensivos basados en señales auditivas, o visuales o ambas, conviene no descartar sin embargo el uso de señales químicas.

Para ciertos propósitos las señales químicas pueden ser medios más eficientes y eficaces de transferencia de información. Existe pues un conjunto de compuestos químicos bien caracterizados en su estructura, así como en su tipo de mensaje. La mayor parte de estas moléculas son compuestos de peso molecular más bien bajo, siendo muchas de ellas derivadas de ácidos grasos o de terpenos. Por su tipo de mensaje se pueden clasificar en feromonas sexuales, de alarma, de reclutamiento y de agregación.

En cuanto a su composición se pueden citar compuestos alifáticos tan sencillos como el ácido valérico del gusano de la remolacha azucarera (*Limonius californicus*) compuestos aromáticos muy simples tales como el fenol encontrado en la hembra del escarabajo (*Costelitra zealandicca*) y el benzaldehído de la polilla (*Leuconia impura*). En el gorgojo del algodón se han encontrado compuestos alicíclicos derivados del ciclobutano y del ciclohexano que actúan como feromonas sexuales del macho. Una gran variedad de compuestos alifáticos de entre 10 y 18 carbonos con algún doble enlace y con función alcohólica primaria, o su éster acético, o aldehídica o ácida han sido encontrados en una gran variedad de mariposas, polillas o escarabajos. En mohos del género *Allomyces* se ha encontrado una feromona sexual derivada del ciclohexeno unida a una cadena alifática insaturada con un grupo carbinol, la cual es denominada “sirenina”.

El hecho de encontrarse en la misma especie varias feromonas con la misma función confirma la hipótesis antes mencionada de que tal vez su acción se deba a la presencia conjunta de varios compuestos químicos en unas determinadas proporciones.

Entre las feromonas de alarma se ha descrito un conjunto de compuestos correspondientes a distintas familias de insectos. Entre éstos se pueden distinguir hidrocarburos lineales saturados como el undecano (C11), el tredecano (C13), pentadecano (C15) encontrados en hormigas. Cetonas C7, C9, C11 en himenópteros, juntamente con terpenoides (cital y citronelal) con función aldehído. Terpenos cíclicos como  $\alpha$ -pineno, terpinoleno y limoneno también se han hallado en otras familias de insectos. Algunos de estos terpenos se presentan en plantas, siendo posible que algunos animales capten sustancias vegetales que usan como feromonas (6).

También se ha descrito que la liberación del atrayente sexual de la hembra de la polilla de la seda *Antherecea polyphenus* es estimulada por el

compuesto trans-2-hexenol de las hojas de los árboles hospedadores, un ejemplo más de colaboración feromonal entre distintas especies, incluso entre individuos pertenecientes a reinos taxonómicos distintos.

Entre feromonas reclutantes es importante mencionar cómo en la abeja (*Apis mellifica*) operan como tales los terpenoides geraniol, geranial y geranoico, juntamente con el nerol y el ácido nerólico. Por otra parte en las termitas se ha observado que opera el hexanoico, es decir, el ácido caproico, compuesto abundante en la mantequilla y la grasa de coco.

Hemos indicado al principio en el título de este discurso el término “feromona” que podríamos llamar “moléculas telecrinas”. Si comparamos el término “telecrina” con los conocidos efectos de las citoquinas podemos establecer una cierta analogía en el modo de acción de éstas. Las citoquinas son segregadas (de resultas de una nueva síntesis) por tipos específicos de células en respuesta a estímulos inducidos. Estas moléculas de naturaleza proteica se unen a receptores específicos en las superficies de las células diana, provocando cambios bioquímicos que dan por resultado una transducción de señales. En algunos casos estas señales van dirigidas al núcleo celular causando cambios en la expresión genética.

Las hormonas peptídicas clásicas también cumplen estas condiciones indicadas en la definición de citoquinas, pero por acuerdos convencionales no están clasificadas como citoquinas, ya que están producidas por órganos específicos endocrinos, mientras que las citoquinas pueden ser producidas por más de un tipo de células y en un gran número de tejidos.

En muchos aspectos son similares, las citoquinas y las clásicas hormonas peptídicas ya que actúan después de ser secretadas por las células productoras y tienen que unirse para ello a los receptores de las células diana. Los efectos resultantes en el interior de la célula diana son llevados a cabo por la transducción de la señal a través de la membrana plasmática.

La naturaleza de la célula diana para una particular citoquina está determinada por la presencia de receptores específicos. Éstos pueden pertenecer a la superficie de la misma célula que produce la citoquina. En este caso se produce un efecto autocrino (regulación de la actividad celular por su propio producto). Las moléculas estimulantes de este efecto pueden denominarse “moléculas autocrinas”. Las citoquinas pueden actuar alternativamente en otros tipos de células distintas a las productoras; si estas

células diana están muy próximas a las células productoras se habla de un efecto paracrino, por “moléculas paracrinas”. Pero las células dianas pueden estar situadas en distintas partes del cuerpo, o en otros órganos y tejidos, dando origen a un tipo de regulación análogo al modo de acción de las hormonas polipeptídicas; en estos casos las citoquinas son vertidas al medio interno (por ejemplo el torrente sanguíneo) y son transportadas a las células diana. Aquí podemos hablar del sistema endocrino, propiamente dicho, y por tanto de los efectos producidos por las “moléculas endocrinas” antes mencionadas,

En relación con lo expuesto, si consideramos las feromonas como sustancias químicas producidas por células de glándulas específicas de individuos que vertidas al exterior ejercen sus efectos reguladores en células diana de otros individuos situados a una distancia física de aquéllos, podríamos hablar también de secreción exocrina.

Pero éste no es el caso, ya que estas moléculas exocrinas no actúan sobre las células vivas sino sobre productos celulares. Así pues las feromonas, a las que nos referimos, son sustancias químicas producidas por individuos que influyen en el comportamiento o funciones fisiológicas de otros situados a cierta distancia, razón por la cual podríamos llamarlas moléculas telecrinas o telemoléculas

A estas feromonas, por el sólo hecho de que se transportan por medios no biológicos (por el ambiente) de unos organismos a otros, y por ser principalmente sustancias volátiles (de masa molecular relativamente baja) se las ha llamado “airborn chemical signal”. Sin embargo, se han encontrado otras sustancias estimulantes que ejercen su función en medio acuoso, como ocurre con ciertos peces. El caso de sustancias volátiles producidas y segregadas por ciertas glándulas animales para ser transportadas por el aire hacia el lugar de acción (receptores de otros individuos de la misma especie) contrasta con lo que hemos referido anteriormente sobre la naturaleza peptídica de las citoquinas y de ciertas hormonas peptídicas del eje hipotálamo-hipofisario. Parece ser que el carácter volátil de ciertas feromonas obliga a la necesidad de una estructura lipófila más bien que hidrófila. No obstante el efecto telecrino en medio acuoso parece hacer necesaria una estructura química más hidrófila que facilite su solubilidad en agua y su transporte.

Hemos indicado anteriormente que las feromonas operan con acción estimulante en diversos tipos de organismos vivos: desde bacterias a animales superiores y el hombre, pasando por hongos, plantas superiores y animales invertebrados. Es decir, en ambos reinos, animal y vegetal, se ha descrito la operatividad de feromonas, secreciones de acción a distancia (5).

#### PRODUCCIÓN, LIBERACIÓN Y TRANSMISIÓN DE FEROMONAS

Generalmente las mencionadas feromonas, se sintetizan en determinadas glándulas externas. En insectos hembras se encuentran en glándulas que están situadas en la membrana intersegmental de los segmentos del abdomen. El contenido de estas glándulas se vierte al aire. La mariposa macho del género *Danaus* posee unas estructuras en forma de cepillo que liberan la feromona. Los pelos de este cepillo golpean las antenas de la hembra, obligando a ésta a posarse sobre la vegetación y a quedarse quieta para que tenga lugar la copulación. De esta forma, exprimiendo los pelos de las glándulas provocan así la salida de partículas que contienen las feromonas afrodisíacas (6).

En mamíferos, las feromonas se producen en los genitales o en zonas muy próximas. La hembra del *Macacus rhesus* segrega en la vagina una sustancia que estimula la respuesta sexual del macho.

Volviendo a los insectos, donde más se han investigado las feromonas y sus efectos, se conoce que existen tres tipos de glándulas que las producen y liberan: a) glándulas mandibulares; b) glándula anal y c) glándula del aguijón. A través de las mandíbulas ciertos insectos descargan el contenido de sus glándulas sobre el enemigo que queda así marcado como agresor. A través del aire se difunde la feromona alarmando al resto de la comunidad. A altas concentraciones la feromona actúa con un doble papel, de alarma y defensas ya que la feromona expelida resulta irritante.

El aguijón es otro medio de liberación de feromona. La glándula de veneno produce sustancias químicas de alarma que son descargadas juntamente con el veneno. La avispa dispersa su veneno conteniendo la feromona de alarma y la abeja deja trazas de acetato de isoamilo en el lugar de la picadura induciendo a otras abejas a picar en el mismo sitio. El ácido fórmico de la hormiga funciona como sustancia de alarma y como material defensivo. Con respecto a la biosíntesis de feromona cabe destacar que está

muy relacionada con los precursores de ácidos grasos o precursores. En insectos concretamente se han encontrado que el ácido mevalónico es compuesto intermediario en la biosíntesis de feromonas de alarma, compuestos que se ha encontrado en plantas (7), lo que hace suponer que algunos animales acumulan sustancias vegetales que usan como feromonas.

Una gran variedad de parámetros influyen la liberación de feromonas sexuales, entre ellos el momento del día, el tiempo meteorológico y otros factores como la presencia de una planta para la puesta de huevos por los insectos o la presencia de un compuesto químico que estimule la liberación de feromona de atracción sexual como ocurre en el caso de la polilla de la seda, con el trans-2-hexenol de las hojas de los árboles hospedadores.

La dispersión y transmisión de feromonas ha sido objeto de estudios profundos. Se han realizado modelos matemáticos que predicen la dispersión de un compuesto volátil desde un punto de acuerdo con las leyes de difusión simple. Si el aire está tranquilo y no tiene lugar absorción o reacción con otra sustancia, la concentración de feromona en un lugar remoto de la fuente productora es función de la velocidad de emisión molecular, del coeficiente de difusión, de la distancia de la fuente y del tiempo de iniciación de la emisión. Bossert y Wilson (8) han calculado la concentración mínima de feromona necesaria para provocar una respuesta de conducta en un animal receptivo. La concentración mínima se conoce como la concentración umbral de comportamiento. Así pues se puede calcular la distancia idónea para la comunicación, el tiempo necesario para la transmisión de la señal, y la duración de ésta. Considerando el cociente entre la velocidad de emisión (Q) y la concentración umbral (K) se puede deducir que algunas feromonas pueden alcanzar un radio de transmisión máximo de 0,6 cm, mientras para otras la distancia efectiva es de 60 cm. Algunas feromonas de atracción sexual tienen valores mucho más altos. El tiempo requerido para que la señal se debilite con respecto a un receptor a cierta distancia de la fuente de emisión también está relacionado con la "ratio" Q/K. Por ejemplo en la hormiga *Acantomyops claviger* la feromona de alarma que tiene un Q/K de  $10^3$ - $10^5$  el radio de transmisión efectivo es de 10 cm. La señal tarda 2 minutos en alcanzar los 10 cm y 8 minutos en debilitarse. Si el Q/K fuese tan alto para esta comunicación como lo es para

la feromona sexual, una señal de alarma de una hormiga duraría días y la colonia de hormigas estaría en constante estado de alarma.

En el aire la volatilidad de la molécula es un factor importante para mantener velocidades razonables de emisión. La mayor parte de las feromonas transmitidas por el aire tienen un peso molecular entre 80 y 300. En el agua la solubilidad juega un papel importante. Las feromonas sexuales de los protozoos *Volvox* y *Paramecium* resultan ser proteínas. Es probable que el arrastre de compuestos sea tan diverso como la comunicación química en el aire. Por ejemplo, en el hongo del agua *Allomyces*, es un sesquiterpeno oxigenado, la feromona sexual; sin embargo la feromona de agregación del *Dictyostellium discoideum*, ameba del fango, es el AMP cíclico. Es interesante tener en cuenta el coeficiente de difusión para la transmisión de señales químicas. El coeficiente de difusión para feromonas transmitidas por el aire llega a estar entre los límites de  $10^{-1}$  a  $10^{-2}$   $\text{cm}^2/\text{s}$  mientras que los mismos compuestos en el agua presentan coeficientes de difusión sensiblemente más bajos de  $10^{-5}$   $\text{cm}^2/\text{s}$ . También el tiempo necesario para alcanzar el radio de transmisión máximo de la feromona es 1000 veces mayor y la caída de la señal llega a ser aun 10000 veces mayor. Es interesante sin embargo destacar que el radio de transmisión es el mismo tanto en el aire como en medio acuoso. Todos estos datos se refieren a situaciones ideales, en los que el medio ambiente que rodea al organismo permanece estático. Se ha demostrado que la atracción sexual surte efecto con frecuencia a distancias de muchos metros y que se ve ocasionalmente favorecido por el viento, que forma una corriente de olor desde la fuente productora, en el caso de los compuestos que son arrastrados por el aire.

#### PERCEPCIÓN DE FEROMONAS

Se han descrito dos tipos de feromonas según el tiempo que tardan en ejercer su efecto. Si éste es inmediato, se llaman “liberadoras”; si el efecto sobre el comportamiento se demora se las llama “cebadoras”. Las feromonas de alarma son de acción inmediata (liberadoras) mientras que las que segrega la abeja reina para impedir el desarrollo del ovario de las abejas obreras es del tipo cebador. La conducta del organismo provocada por la feromona de acción inmediata es muy variada, por ejemplo las polillas al percibir el olor del compuesto de atracción sexual a gran distancia de la

fuelle de emisión vuelan contra la corriente que emana de la fuente. Si por ejemplo vuelan fuera de la corriente hacia una zona con un nivel de olor por debajo del umbral comienzan a virar al azar hasta detectar de nuevo la feromona para volar de nuevo contra el viento. Cuando se aproximan a la fuente productora, el gradiente de la concentración de feromona es lo suficientemente ascendente como para permitir una orientación osmotáctica, que capacita al animal en vuelo para localizar rápidamente al animal productor de la feromona. En muchos casos hay más de una feromona implicada en el comportamiento del apareamiento sexual.

Por ejemplo, una especie de polilla, inicia su cortejo debido a la secreción por la hembra de una feromona de atracción sexual. En consecuencia, el macho vuela hacia la hembra y descarga su glándula abdominal, lo cual es seguido de la copulación. La feromona del macho es una feromona estimulante específica que funciona juntamente con la de atracción sexual para impedir cruces de especies. Las sustancias feromonales de atracción sexual de las hembras de las mariposas reinas vírgenes resultan ser el ácido 9-ceto-2-decenoico y otros compuestos no conocidos. La feromona de la mariposa reina macho consta al menos de dos componentes, dos de los cuales provocan respuestas eléctricas en las antenas de las hembras. Infinidad de casos se pueden referir acerca del comportamiento animal bajo los efectos de feromonas. Se puede admitir que las feromonas de alarma provocan dos tipos de respuesta en insectos, de vuelo o de agregación. Por ejemplo la hormiga *A. claviger* produce la feromona de alarma que provoca agregación, pero como se encuentra en altas densidades de población segrega un conjunto de sustancias de defensa que tienen por objeto defenderse en el lugar del ataque.

Otros insectos que viven en bajas densidades de población, producen bajas concentraciones de sustancia de defensa lo que hace menos práctico quedarse y luchar. También se ha demostrado en la hormiga *A. claviger* que la llegada de una feromona de alarma no parece provocar en el receptor una propagación de la señal de alarma, por reacción en cadena en la colectividad. Esta hormiga no libera sus feromonas de alarma hasta que entra en contacto con el estímulo primario de alarma, actuando la feromona que percibe como feromona de acción lenta, como cebadora.

El proceso de la percepción de la feromona por los distintos organismos envuelve mecanismos muy diferentes que pueden explicarse por

diversos modelos o teorías. Por ejemplo, la teoría de la forma de la sustancia olorosa de Amoore (9) está relacionada con el modelo llave-cerradura de la especificidad enzimática. Por otra parte el modelo de proteína receptora de Riddiford (10) se basa en la hipótesis de la proteína que se une al estrógeno al modelo de inducción represión de Gilbert y Miller-Hill (11).

En bacterias (12) se ha estudiado ampliamente la percepción, siendo estos hallazgos muy importantes para ser extrapolados a sistemas más complejos, tales como receptores del gusto de la lengua de animales y las patas de las moscas, receptores nasales animales y de antenas de las polillas etc.

Las feromonas en animales constituyen en general un proceso olfatorio en lo que se refiere a percepción, aunque en algunos casos puede ser gustatorio, en especial en los casos de transmisión en medio acuoso de sustancias no volátiles. En animales superiores los receptores olfatorios son nasales o vomeronasales. En animales inferiores los receptores están localizados principalmente en las antenas, especialmente en los insectos, como se ha indicado antes.

Con respecto a receptores en animales superiores, y en relación con los sistemas implicados, se ha estudiado la posibilidad del órgano vomeronasal o del órgano olfatorio en el reconocimiento de la feromona.

En reptiles, puede ser importante el órgano vomeronasal (13) como un curioso y adicional órgano químico sensorial, que participa también en una variedad de respuestas de conducta en serpientes, lagartos. Sin embargo en ratones y en la mayor parte de las especies es todavía desconocida su función. El vómer en los animales superiores (14), es un hueso fino que forma la parte posterior y posteroinferior del tabique nasal; está articulado con los huesos etmoides y esfenoides y con los dos huesos maxilares y palatinos. Relacionado con este hueso se ha descrito la existencia del órgano vomeronasal como una estructura química receptiva situada en la base del septo nasal de la mayor parte de los vertebrados terrestres.

Estructuralmente el sistema vomeronasal es muy similar al sistema olfatorio principal. Funcionalmente el sistema olfatorio principal y el sistema vomeronasal juegan diferentes papeles en la ejecución de ciertos comportamientos propios de cada especie, que dependen de las señales químicas emitidas por miembros de la misma especie o por otras especies predatoras. Este órgano fue descubierto a principios del siglo XIX,

habiéndose realizado estudios ocasionales en la primera mitad del XX. Sin embargo el interés de este órgano se reveló hacia los años 70. Previamente en las décadas de los 50 y de los 60, endocrinólogos especialistas en comportamiento habían estudiado varios efectos de feromonas en ratones. Estimulantes químicos de la orina que eran activos, dejaban de serlo cuando los ratones eran privados de sus bulbos olfatorios. En 1970 se demuestra que el efecto de las feromonas era dependiente de un sistema funcional olfatorio. Al mismo tiempo se conoce que las neuronas bipolares del epitelio olfatorio terminaban en la capa glomerular del bulbo olfatorio principal y que las neuronas bipolares del órgano vomeronasal terminaban en el bulbo olfatorio accesorio; sin embargo se prestó escasa atención al hecho de que los bulbos olfatorios son parte de SNC y no simplemente una parte de la ruta olfatoria y que la bulbectomía olfatoria denervaba tanto el sistema olfatorio principal como el accesorio.

Desde el punto de vista anatómico se ha podido observar que mientras el epitelio olfatorio se alinea con el aspecto posterior dorsal de la cavidad nasal y es fácilmente accesible a las moléculas olorosas del aire, en la mayor parte de los vertebrados el órgano vomeronasal está incluido en un divertículo nasal, embriológicamente alejado de la cavidad nasal. En casi todos los mamíferos este órgano es un tubo en forma de cigarro que está dentro de una cápsula ósea ubicada a lo largo del eje ventral del septo nasal. La parte posterior del tubo es ciega, mientras que la anterior se relaciona a través de su propio conducto con el conducto naso-palatino, permitiendo así la comunicación con las cavidades nasal, oral, o ambas.

El órgano vomeronasal posee un lumen creciente en su sección transversal, con una pared lateral convexa que se alinea con un epitelio estratificado no sensorial y con una pared media cóncava que se alinea con un epitelio especializado neurosensorial.

Generalmente este órgano está presente en los vertebrados terrestres y ausente en algunos vertebrados acuáticos (peces); y ausente o vestigial en algunas formas adultas de especies voladoras o arbóreas (pájaros).

Atendiendo a una sistemática, se puede admitir que las variaciones en el desarrollo del órgano vomeronasal pueden estar relacionadas con el nicho ecológico. Entre los lagartos se ha observado una amplia variación en el desarrollo del órgano vomeronasal; en las especies arbóreas está ausente o muy poco desarrollado, mientras que en las especies cavadoras el órgano

está excepcionalmente bien desarrollado. También se han encontrado variaciones entre los prosimios y primates. Prosimios y primates inferiores poseen un órgano vomeronasal altamente desarrollado. Los platirrininos, por el contrario lo tienen muy reducido pero funcional, mientras que los catarrinos adultos carecen de dicho órgano. En humanos se observa también el órgano vomeronasal tanto en la fase fetal como en el adulto. Se ha demostrado la mediación del órgano vomeronasal en el efecto de las feromonas cebadoras, de acción lenta. Estas feromonas cebadoras son compuestos químicos segregados por un individuo, que tienen efecto endocrinológico sobre otros miembros de la misma especie. Así pues se ha descrito la supresión del estro en hembras de ratón enjauladas, completamente juntas, la inducción del estro y su sincronismo producido por el olor del macho, la aceleración de la pubertad en hembras producida por el olor del macho y la interrupción de la gestación en hembras causada por el olor de un macho extraño. En todos estos casos está implicado el órgano vomeronasal mediante conexión de éste con los bulbos olfativos accesorios hacia la amígdala corticomedia y hacia el hipotálamo neuroendocrino Keverne (14) sugiere que todas las feromonas cebadoras inducen una alteración del recambio de la dopamina hipotalámica, que afecta a su vez a la liberación de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) y al factor inhibidor de la prolactina.

También se ha estudiado la participación del órgano vomeronasal en los efectos de feromonas liberadoras o señalizadoras de acción inmediata. En comunicaciones intraespecíficas que ocurren en situaciones que no implican retrasos en las respuestas que son propias de los cambios endocrinos, se ha demostrado que también interviene el órgano vomeronasal.

Así pues se ha estudiado el comportamiento sexual del hámster, demostrándose que tanto el sistema vomeronasal y el sistema olfativo principal son sensibles a la feromona sexual femenina, y que la sección del nervio vomeronasal reduce el estímulo necesario para el apareamiento del macho. También se ha estudiado el comportamiento sexual de otras especies de mamíferos, como el ratón, el cobaya etc., y de otros vertebrados como los reptiles ya descritos.

El órgano vomeronasal también se ha visto implicado en un conjunto de comportamientos no sexuales, como respuesta de un individuo

al olor de otros de la misma especie. Por ejemplo en ciertas especies de serpientes, el olor de algunos individuos produce en los de su misma especie comportamientos de agrupación o de localización de sitios más protegidos o abrigados.

Experimentos de extirpación de la lengua, cierre por sutura de los conductos vomeronasales o enervación del órgano vomeronasal, provocan severas deficiencias en la agrupación o en la localización de refugios.

Muy recientemente se ha estudiado en mamíferos (15) la detección de feromonas mediada por el sistema vomeronasal descrito. Empleando genes diana para visualizar el patrón de proyección de axones de neuronas sensoriales vomeronasales en el bulbo olfatorio accesorio se ha podido aclarar que neuronas que expresan un receptor específico se proyectan hacia múltiples glomérulos que residen dentro de dominios espacialmente restringidos. Esto indica la existencia de un mapa sensorial en el bulbo olfatorio accesorio y que la supervivencia de neuronas sensoriales del órgano vomeronasal requiere la exposición de receptores a feromonas. Además se han observado que existen glomérulos individuales en el bulbo olfatorio accesorio que reciben impulsos de un tipo de neurona sensorial. Estas observaciones indican que la organización de los aferentes sensoriales de lórgano vomeronasal es tajantemente diferente de la del sistema olfatorio principal, diferencias que tienen implicaciones importantes en relación con la lógica de la codificación olfatoria en el órgano vomeronasal. Esto se puede relacionar con el ser humano y la percepción cognitiva de los olores, que provoca distintas respuestas de comportamiento y adaptación. En el hombre el olfato es un sentido provocativo, un sentido capaz de despertar durables emociones, memorias y pensamientos. En la mayor parte de los mamíferos dos amplias categorías de sustancias olorosas evocan distintas respuestas de comportamiento. La mayor parte de estas sustancias olorosas suministran información sobre el universo en amplios rasgos dando como resultado los comportamientos que pueden ser fácilmente modificados por aprendizaje y experiencia y permiten así adaptar al organismo a cambios ambientales.

Por otra parte una clase distinta de indicadores químicos, las feromonas, desencadenantes innatas, responde con comportamientos estereotipados y neuroendocrinos, que son únicos en la especie y no son fácilmente modificables por la experiencias. Las feromonas suministran

información acerca del estado social y sexual de otros miembros de las especies y permiten comportamientos innatos como son los rituales de apareamiento, o la agresión territorial. El carácter instintivo de estas respuestas sugiere que las vías neurales activadas por feromonas están genéticamente programadas permitiendo una oportunidad de discernir la ligazón mecánica es decir la ligazón existente entre la respuesta mecánica ante el reconocimiento del olor y respuesta de específica comportamiento.

En vertebrados terrestres la percepción de estas dos categorías de información olfatoria es mediada por dos órganos anatómica y funcionalmente distintos: a) el epitelio olfatorio principal (MOE) y b) el órgano vomeronasal (VNO). Las neuronas sensoriales del MOE reconocen compuestos volátiles y proyectan sus axones hacia el bulbo olfatorio principal, la primera estación en el proceso de la mayor parte de la información olfatoria. En vertebrados las feromonas son fundamentalmente no volátiles y son reconocidas por neuronas sensoriales especializadas que residen dentro del VNO, una estructura tubular ciega, que se abre en el aspecto ventral del septo nasal. Las neuronas del VNO están totalmente separadas del MOE y se proyectan hacia el bulbo olfatorio accesorio, el centro de procesamiento inicial de la información de la feromona.

#### RECEPTORES EN LAS ANTENAS DE LOS INSECTOS

En los insectos, invertebrados artrópodos, se ha estudiado la recepción de feromonas a través de las antenas. Schneider (16) ha descrito receptores de feromonas en una variedad de antenas de insectos. Éstos consisten usualmente en varios tipos de “sensillae” (sensiles) o estructuras nerviosas apropiadas para interactuar con sustancias químicas. Dendritas de las células nerviosas se extiende hacia polos sensoriales, concavidades o placas descansando sobre la superficie externa. Las moléculas olorosas penetran por orificios especiales alcanzando las membranas de las dendritas; este proceso puede ser facilitado por la presencia de proteínas de unión o por solventes. Las moléculas llegan al fluido que baña las dendritas, donde pueden interactuar con la membrana causando el inicio de una respuesta eléctrica. Varios receptores que verifican su encendido en un breve espacio de tiempo dan lugar a una señal que puede ser detectada como una actividad eléctrica de una antena aislada (electroantenograma) o como una respuesta

de comportamiento del animal. Las estructuras de receptores aparecen en el ciclo sexual o de las etapas de la vida, cuando el animal los necesita. Por ejemplo, los receptores de atrayentes sexuales de la cucaracha americana *Periplaneta americana*, sólo se presentan en la fase adulta de los machos. La forma ameboide del *Dictyostelium discoideum* llega a ser 100 veces más sensibles al AMP cíclico en el momento de la agregación. Aunque se conoce relativamente poco acerca de la reacción física o química que ocurre a nivel de los sitios de los receptores, Riddford ha intentado estudiar este problema. Partiendo de la hipótesis de que los machos de las polillas de la seda contienen en sus antenas una proteína receptora que puede dar lugar al atrayente sexual, intentó bloquear el sitio de unión o separar la proteína de la antena. La respuesta del macho de *Antherea pernyi* a la feromona sexual se retrasó de 1 a 6 horas por exposición a vapores de formaldehído o lavando las antenas con tampón con urea o detergentes. Además sometiendo a electroforesis con gel de poliacrilamida los eluatos de antenas se observaron varias bandas de proteínas. Se observó que los machos de *A. pernyi* y otras especies más mostraban una banda proteica (banda  $\alpha$ ) que no presentaban los eluatos de antenas hembras. Suponiendo que las feromonas son derivados de ácidos grasos, se inyectó a las hembras con  $^3\text{H}$ -acetato y luego se expusieron los machos en recipientes cerrados juntamente con las hembras marcadas. Después de dos horas las antenas de los machos fueron lavadas con tampón, y después de concentración y diálisis, fueron sometidas a electroforesis. En dos de ocho experimentos apareció la banda  $\alpha$  de proteína marcada con  $^3\text{H}$ . Esto permite suponer, con las reservas apropiadas, que puede existir un complejo feromona-proteína del receptor fuertemente unida. Por otra parte, Schneider ha encontrado que el 25% de las moléculas de bombicol tritiado de concentración relativamente baja en corriente de aire se absorben por las antenas del *Bombyx mori* (mariposa del gusano de seda). Probablemente las proteínas observadas por Riddford que absorben la feromona tienen como función transportar las moléculas de feromona al receptor o destruir el exceso de moléculas de feromona.

#### FEROMONAS EN EL REINO VEGETAL

Se han estudiado sustancias de atracción que provocan concentración o agregación de microorganismos en torno a una determinada

sustancia; fenómeno que ha sido definido como quimiotaxis, dentro de los procesos estimulares que operan en las células. Se conoce que las células libres semovientes (bacterias, protozoos, algas unicelulares, zoosporas, gametos de plantas y animales) son sensibles a estímulos reaccionando a éstos generalmente con movimientos y a veces con un acto secretor. Los movimientos locomotores de las células libres dirigidos por estímulos del medio se conocen como taxis o tactismos. Cabe distinguir entre tipos de tactismos o taxis: fototaxis, termotaxis, tigmotaxis (contactos), geotaxis y galvanotaxis (corriente eléctrica) pudiendo ser positivas y negativas (17).

### **Bacterias**

Entre las bacterias, los organismos más antiguos en la escala evolutiva, se han detectado movimientos accionados por los flagelos. Estudios con *Escherichia coli* (18), empleando cepas salvajes y mutantes han mostrado claramente las respuestas de estos microorganismos moviéndose hacia compuestos químicos determinados (que no guardan relación con sus productos del metabolismo) y su relación con análogos estructurales químicos. Se demuestra que la atracción quimiotáctica no es dependiente de la permeasa para estos compuestos. Así mismo se demuestra que pueden presentar quimiotaxis para azúcares (p.ej. glucosa, galactosa, ribosa) y para aminoácidos (aspartato y serina). Hay experimentos que muestran que la ribosa es detectada por un receptor distinto al de la glucosa o galactosa. Mutantes que no detectan glucosa o galactosa pueden reconocer ribosa. Por otra parte, la glucosa no bloquea la quimiotaxis hacia la serina y el aspartato y experimentos recíprocos indican que el aspartato no impide la quimiotaxis hacia los azúcares. Estos y otros experimentos ponen de manifiesto que existen receptores independientes para azúcares, y aminoácidos y receptores comunes para análogos estructurales como aspartato y glutamato, (experimento de competición entre ellos) y galactosa y fucosa. Se ha estudiado cuántos quimiorreceptores pueden encontrarse en una bacteria. En *E. coli* se han descrito cinco: D-glucosa, D-galactosa, D-ribosa, L-asp (L-Glu), L-serina (L-cys, L-Ala, Gly). En otras bacterias pueden encontrarse además receptores especializados para detectar luz, gravedad o temperatura, ya que estos estímulos permiten respuestas tácticas. Se ha estudiado el posible papel de las permeasas en la quimiorrecepción en

bacterias. Se ha sugerido que los quimiorreceptores se encuentran localizados en algún lugar en la parte externa de la célula, ya que mutantes que han perdido el sistema de transporte mantienen la capacidad de recepción de algunos compuestos químicos.

El cómo actúan estos receptores ha sido objeto de profundas investigaciones y sugerencias, se ha propuesto que el gradiente de concentración del compuesto químico provoca un cambio en la orientación de los flagelos, cambios que pueden producirse en la membrana celular incluyendo cambio conformacional o cambio en potencial de membrana. En protozoos (19), se han observado tales cambios de potencial antes del cambio de orientación de sus cilios o de la emisión de luz.

Todo esto indica que los cambios se propagan a lo largo de la membrana alcanzando a todos los flagelos. De hecho la base del flagelo está en íntima asociación con la membrana celular; de esta manera los flagelos podrían responder con cambios de orientación llevando a cabo la reacción contraria. Se han aislado unos 40 mutantes de *E. coli* que han perdido la capacidad quimiotáctica, pero que sin embargo conservan su motilidad. Todo esto indica que una simple mutación no puede dejar inactivados todos los receptores, siendo probable que sean defectuosos en cualquier etapa más allá de la quimiorrecepción.

De todo lo expuesto se desprenden implicaciones en la biología del comportamiento y en la neurobiología. Todo lo estudiado a este respecto en bacterias podría extrapolarse al comportamiento en animales superiores.

Los quimiorreceptores de bacterias están relacionados posiblemente con los sitios de recepción química en los receptores de las células animales, de tal manera que los conocimientos adquiridos en procariotas pueden servir de base para conocer los mecanismos de recepción del olor, del gusto y de otras sensaciones. Si existe una señal eléctrica que transmite información desde el receptor bacteriano a los flagelos, igualmente puede producirse un cambio en el potencial de membrana en organismos superiores como puede ser la respuesta del músculo a impulsos nerviosos. Así pues los estudios en bacterias pueden aportar una serie de conceptos y hechos con aplicación a investigaciones de fenómenos más complejos en organismos superiores.

Siguiendo con el tema de feromonas en relación con los quimiorreceptores bacterianos, se ha investigado el papel de las mismas en interacciones entre bacterias (20) éstas se comunican a través de feromonas

excretadas, señales que provocan varios tipos de respuesta entre las que se pueden citar: bioluminiscencia, factores de virulencia, desarrollo de cuerpos fructíferos, esporulación, metabolismo secundario y transferencia de plásmidos. Especialmente se ha estudiado la biología de algunos de estos sistemas haciendo especial mención a la lactonas de N-acil-L-homoserina (AHLs) que se han encontrado en diversas bacterias Gram negativas, así como a las feromonas sexuales de *Enterococcus faecalis* que están muy probablemente restringidas a especies bacterianas Gram positivas. Entre los sistemas regulados por AHLs se encuentran los de bacterias luminosas, donde se identificaron por primera vez. Cuando algunas especies bacterianas como *Vibrio* y *Photobacterium*, se congregan inducen la síntesis de proteínas que las capacitan para la emisión de luz. Las AHLs también actúan en sistemas no relacionados con la luminiscencia.

Estas AHLs son producidas por proteínas del tipo Lux I, difunden libremente a través de la membrana celular acumulándose en el medio. Cuando se acumulan grandes cantidades extracelulares estas señales activan un regulador de la respuesta intracelular del tipo Lux R para inducir la transcripción de al menos un operón que incluye un gen del tipo Lux I.

Existen bastantes analogías entre diferentes activadores transcripcionales, tales como Lux R (*Photobacterium fischeri*; también conocido como *Vibrio fischeri*), Tra R (*Agrobacterium tumefaciens*), Las R (*Pseudomonas aeruginosa*) y Yen R (*Yersinia enterocolitica*), que sirven para definir una superfamilia Lux R, de reguladores de respuestas. Se conocen unos diez de estos reguladores que se sabe que están inducidos por AHLs. Además pertenecen a esta superfamilia los activadores transcripcionales de *Rhizobium meliloti*, *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*. También existe una superfamilia Lux I, de proteínas generadoras de señal (sintetizadora de AHL) habiéndose descrito un número de diez proteínas.

Un tema a investigar es por qué bacterias como *P. Fischeri* emiten luz cuando la densidad de población bacteriana supera  $10^7$ /ml (lo que significa una concentración de AHL  $> 10^{-9}$  M).

También se ha sugerido que las enzimas inducidas por feromonas contribuyen a la nutrición bacteriana en los órganos luminosos simbióticos a juzgar por el tiempo de generación comparado con el que se obtiene en crecimiento en un medio rico.

En *Vibrio harveyi* se ha observado que una feromona no sólo regula la bioluminiscencia sino que también induce la formación de poli-3-hidroxi-butirato, que puede servir como fuente de energía para mantener la viabilidad celular en estado estacionario de crecimiento.

También en *Erwinia carotovora* (una bacteria patógena de plantas) parece ser que opera una expresión de enzimas líticas de paredes celulares, inducidas por estímulos llevados a cabo por feromonas (21).

Se han descrito feromonas sexuales en *Enterococcus faecalis* en experimentos con plásmidos conjugativos. Las feromonas sexuales son excretadas por una estirpe de *E. faecalis* (carente de plásmidos) siendo percibidas por estirpes donadoras que poseen un plásmido que codifica feromonas sexuales. Así se induce la producción de una adhesina (sustancia de agregación), que conduce a estimular la conjugación. Al menos seis, aunque probablemente más, feromonas son producidas por *E. faecalis*. Las feromonas sexuales bacterianas son péptidos lineales hidrofóbicos de 7 u 8 aminoácidos, que probablemente son sintetizados en ribosomas. Son altamente activos, 1-10 moléculas/células ( $\approx 10^{-11}$  M) son suficientes para ejercer la inducción. Péptidos inhibidores codificados por plásmidos de feromonas sexuales tienen un 25% a 50% de similaridad con los péptidos inductores, lo que sugiere que en *E. faecalis* hay receptores específicos para feromonas.

De lo expuesto se puede deducir que sólo actúan feromonas en los casos en los que han podido detectarse (emisión de luz, producción de factores de virulencia, formación de cuerpos fructíferos y agregación).

Actualmente se especula con la posibilidad de que puedan existir otros sistemas que capaciten a las bacterias para obtener información sobre otras de su clase. Hasta el momento sólo se han detectado AHLs en bacterias Gram negativas.

En bacterias antiguas (arqueobacterias) no se han encontrado feromonas. El comportamiento de agrupación en masa de *Proteus mirabilis* pudiera muy bien estar regulado por feromonas, y por supuesto el glutamato extracelular parece que juega un papel importante (aquí volvemos a la quimiotaxis por aminoácidos).

El mecanismo bioquímico de señalización parece implicar la existencia de proteínas quinasas de tipo eucariótico. Es conocido que Ser-proteína-, Thr-proteína- y Tyr-proteína quinasas juegan un papel esencial en

la transducción de señales en organismos, en una escala que va desde las levaduras a los mamíferos (eucariotas) (22). En los últimos años se ha identificado en bacterias un conjunto de genes que codifican proteínas quinastas de tipo eucariótico, lo que sugiere que tales enzimas están ampliamente difundidas en procariotas. Su estudio indica que las proteínas quinastas de tipo eucariótico juegan papeles importantes en la regulación de la actividad celular en bacterias, tal como diferenciación celular, patogenicidad y metabolismo secundario. Estas proteínas quinastas bacterianas presentan cierta semejanza estructural con las procedentes de levaduras. La mayor parte de las vías de transducción de señales en bacterias están compuestas de dos proteínas (vías de transducción de señales de dos componentes): una His quinasa y un regulador de respuesta. Todas las His-quinastas se basan en los conocidos módulos conservados, como bases para las quinastas, mientras que los reguladores de respuesta poseen al menos tres residuos conservados (dos Asp y una Lys). His-quinasa se autofosforila mediante ATP, transfiriendo el grupo fosfato al Asp del regulador, sin necesidad de ATP. Es característico de esta transducción de señales su simplicidad y eficiencia. En relación con las bacterias se han descubierto en eucariotas mecanismos parecidos a los que operan en bacterias. En levaduras y en plantas se han hallado genes que codifican vías de transducción de señales de dos componentes (23). En eucariotas una señal es generalmente transmitida mediante una cascada de fosforilación o defosforilación de proteínas antes de alcanzar la diana final. Los estudios de la vía de MAP-quinasa en levadura así lo confirman. Unas seis vías que contienen MAP-quinasa se han identificado como participantes en la regulación de varios procesos, desde la función celular a la sensibilidad osmótica (24).

La presencia de proteínas quinastas de tipo eucariótico en bacterias puede relacionarse con la capacidad para llevar a cabo procesos biológicos en los que están implicadas interacciones célula-célula como ocurre en eucariotas pluricelulares. Puesto que las proteínas de tipo eucariótico encontradas en la bacteria del suelo *Mixococcus xantus* parecen estar implicadas en una compleja morfogénesis multicelular de carácter social tal como la formación de cuerpos fructíferos conteniendo mixosporas, así como las cianobacterias del género *Anabaena*, que forman un filamento multicelular capaz de diferenciar células especializadas (heterocistos) para

la fijación de nitrógeno, todo parece indicar que la mayor parte de las proteínas quinasas de tipo eucariótico halladas en bacterias están implicadas en la transducción de señales requeridas para la interacción célula-célula y/o diferenciación celular, sin excluir otras funciones. Desde el punto de vista evolutivo hay que considerar que *M. xantus* y las especies de *Anabaena* están situadas en las primeras etapas de la evolución y no se conoce que interactúen con células eucarióticas. Por tanto, es muy poco probable que los genes que codifican las proteínas quinasas de tipo eucariótico en estas bacterias sean el resultado de una transferencia horizontal de gen de eucariotas; esto sugiere que las proteínas quinasas de tipo eucariótico encontradas en bacterias existiría ya antes de la divergencia procariotas-eucariotas.

Los casos de *Mixococcus xantus* y de las especies de *Anabaena* que generan cuerpos fructíferos y filamentos multicelulares, en condiciones de falta de nutrientes, sugieren que deben existir señales de célula a célula que induzcan la formación de asociaciones pluricelulares. Aquí puede estar implicado algún otro compuesto químico de comunicación intercelular. Se ha demostrado en poblaciones bacterianas un comportamiento de grupo que requiere comunicación intercelular por señales producidas por las propias células. Un aspecto que se está considerando cada vez más en el mundo de la microbiología, es que las bacterias, aunque unicelulares, son también criaturas sociales que forman asociaciones multicelulares. En algunos casos, como se ha indicado en las cianobacterias filamentosas, estas asociaciones implican la diferenciación o especialización de células individuales dentro de la población (25). Estas interacciones desafían las ideas de las bacterias como órganos unicelulares, ya que representan una división del trabajo realmente pluricelular. Con todo, organización multicelular y comportamiento coordinado pueden tener lugar también en poblaciones homogéneas de bacterias que no exhiben división del trabajo. En estas circunstancias las bacterias se diferencian como parte de una “reacción de masa” en la que la población como un conjunto único altera su morfología, fisiología o comportamiento. Un ejemplo de esta clase de comportamiento de grupo es la diferenciación masificada de células, migración y consolidación que ocurre con la especie *Proteus mirabilis* (26). Está demostrado que para iniciarse una reacción de grupo o masa bacteriana es necesario que se establezca una determinada densidad de población y de

esta manera las células se disponen a distribuir la labor necesaria o juntar ese conjunto unificado de bacterias. Para estos fines las bacterias han desarrollado unos mecanismos de comunicación que las capacitan para percibir su densidad de población y regular adecuadamente su expresión genética. Uno de estos mecanismos reguladores más extendidos es la percepción del “quórum” (cantidad crítica y necesaria, como ocurre en las juntas o asambleas humanas). Este “quórum” servirá como modelo de señalización intercelular y de regulación del comportamiento de grupo.

A pesar de la diversidad de los sistemas de señalización intercelular existentes en bacterias es necesario discernir aspectos de regulación genética dependientes de la densidad de población. Esta regulación se realiza mediante acumulación de uno o más compuestos señalizadores producidos por las mismas células y vertidos al entorno (27). Tras su liberación estas señales químicas difunden hacia fuera de las células siendo indetectables por una célula individual o por bacterias presentes con densidad de población relativamente baja. Solamente cuando las bacterias están a una densidad de población relativamente alta o están dentro de un ambiente confinado, la señal se acumula alcanzando el umbral de concentración requerido para la activación de los genes adecuados. Este tipo de regulación representa por tanto un mecanismo de percepción ambiental que permite la comunicación intercelular de bacterias que pueden no estar en íntimo contacto físico.

Así por ejemplo, los *Enterococos* son regulados por señales externas en orden a su conjugación; los *Mixococcus* son regulados en su motilidad; y especies del género *Streptomyces* controlan así su esporulación y producción de antibióticos. Estos sistemas cuentan con feromonas peptídicas, (*Enterococcus*), aminoácidos específicos (*Mixococcus*) y butirolactonas (*Streptomyces*) como señales moleculares extracelulares. Por el contrario, cuando se trata de bacterias Gram negativas las moléculas señalizadoras son un conjunto de metabolitos de N-acil homoserinlactona, llamados “autoinductores”. Las funciones reguladas por estos autoinductores, en sus aspectos fisiológico y de comportamiento, son muy diversas, pero no obstante obedecen a otra regla general de regulación genética dependiente de la densidad de población. La mayoría de las veces, son funciones adaptativas, o casos ventajosos, sólo cuando está presente una masa suficiente de bacterias, es decir un “quórum”.

Funciones tan diversas como las de bioluminiscencia, conjugación, producción de antibióticos y virulencia requieren un número mínimo de células para ser efectivas y por tanto son reguladas con mayor eficiencia a nivel de población. Los componentes funcionales para la regulación de grupo se han estudiado a nivel genético. Se ha demostrado que en sistemas bacterianos (sensores del entorno o medio ambiente) se requieren al menos dos componentes, uno de ellos del estímulo transductor/sensor y un segundo que actúa como regulador de la respuesta. En algunos casos se requiere un tercer componente en forma de un generador de la señal (28).

En *Vibrio fischeri*, se ha estudiado el mecanismo de la bioluminiscencia, en la que intervienen dos genes reguladores. El primero, lux I, codifica la sintasa que cataliza la formación del autoinductor N-acil-homoserin-lactona, actuando como generador de señal. El segundo gen, lux R, codifica una proteína que realiza las funciones transductor/sensor y regulador de respuesta. En relación con las diferentes N-acil-homoserin lactonas autoinductoras producidas por bacterias Gram negativas, es de destacar que existe un grupo de estos compuestos, perfectamente identificados, que son análogos estructurales y producidos por diversas especies bacterianas conocidas. Sería prolijo especificar cada uno de los casos, pero conviene indicar que su función varía según la especie bacteriana; por ejemplo en *V. fischeri* regulan la bioluminiscencia; en *Agrobacterium tumefaciens* controlan la conjugación, en *Erwinia carotovora*, la producción de exoenzimas, en *Pseudomonas aureofaciens*, la producción de antibióticos fenazínicos, en *Rhizobium leguminosarum* (bv. *viciae*) regula los genes de la rizosfera y la inhibición del crecimiento; finalmente en *Serratia liquefaciens* regulan la diferenciación de las células de la masa celular agrupada.

También en este sentido hay que considerar las posibilidades de señalización interespecíficas en relación con el aspecto ecológico que significa la percepción del “quórum” de masa celular necesario, lo cual tiene una amplia repercusión en el mundo microbiano. Debido a que, como hemos indicado antes, diferentes especies bacterianas producen idénticos autoinductores, estas señales pueden ser percibidas no sólo por las especies productoras sino por otras especies no relacionadas. De esta manera resulta posible que determinadas bacterias puedan efectivamente “espiar” a sus vecinas y modular su comportamiento en respuesta a la presencia de otras

especies. Hace ya casi dos décadas que se observó que una variedad de bacterias marinas liberaban señales extracelulares que activaban la luminiscencia en *Vibrio harveyi*. Más recientemente se ha demostrado que la producción de antibióticos fenazínicos se restauraba en un mutante deficiente de *P. aureofaciens* debido a exudados de otras bacterias del suelo. La especie *Pseudomonas aeruginosa* activa mediante sus exudados la virulencia de una bacteria oportunista patógena humana, *Burkholderia ceparia* (29). Estos datos indican que las señales autoinductoras estructuralmente relacionadas constituyen situaciones normales de diversos hábitats microbianos y que bacterias muy diversas y poco afines son capaces de responder a señales heterólogas. Así por ejemplo, el caso descrito de la exaltación de la virulencia de *B. ceparia* por productos de *P. aeruginosa* es una prueba de la regulación coordinada de la virulencia en una especie oportunista por la presencia de otras más virulentas en el mismo ambiente hospedador.

Es muy importante considerar que las bacterias, mediante los autoinductores que producen son capaces de actuar no sólo sobre otras bacterias sino sobre sus propios hospedadores eucarióticos. Se ha demostrado que las células epiteliales humanas producen la señal inmune interleuquinas 8 en respuesta directa al autoinductor de *P. aeruginosa* (N-3-oxo-dodecanoil-homoserina-lactona) aunque esta respuesta requiera concentraciones extremadamente altas ( $> 10 \mu\text{M}$ ).

Todo lo indicado en bacterias revela elocuentemente la existencia de un lenguaje químico que induce comportamientos de todo tipo y entre individuos separados entre sí. Se trata de moléculas estimuladoras que, vertidas por unas células al entorno, son percibidas por otras de la misma o de distinta especie e incluso por otros tipos de células más evolucionadas como pueden ser las células eucarióticas. No cabe duda de que en estos casos operan moléculas del tipo de feromonas, moléculas telecrinas o telemoléculas.

## **Levaduras**

Desde el descubrimiento de las proteínas G como componentes altamente conservados de los sistemas señalizadores y su participación en un vasto conjunto de receptores en mamíferos (30) y el gran número de

genes que codifican las distintas subunidades de la proteína G, se ha atribuido a esta proteína una complejidad hasta ahora no prevista. Se ha identificado esta proteína G en plantas (31), nematodos (32), *Drosophila* (33), *Dictyostelium* (34), levaduras (35). Todo ello indica que en eucariotas estas proteínas G están implicadas en sistemas señalizadores de mecanismos reguladores celulares. Concretamente en levaduras, la proteína G se ha mostrado como participante en la respuesta celular a feromonas. Mediante estudios genéticos en *Saccharomyces* se han podido conocer las vías de señalización mediadas por la proteína G. Ya previamente se conocían muchos de los componentes implicados en las respuestas a feromonas de las levaduras, mediante aislamiento de mutantes estériles; sin embargo más recientemente se han conocido muchos genes que codifican receptores de feromonas, subunidades de proteína G, y componentes de la cadena de señales, incluyendo quinasas y factores de transcripción.

El aislamiento de mutantes estériles ha permitido la elucidación de los componentes envueltos en el proceso de conjugación o apareamiento celular en levaduras. Además de los mutantes defectivos en conjugación, el locus regulador que determina si una célula es de tipo *a*,  $\alpha$  o *a*/ $\alpha$  ha sido determinado, mostrando la mayor parte de los mutantes estériles defectos bien en la producción de feromona o en la respuesta a la misma lo que indica la importancia de estos procesos para la conjugación celular. Es interesante destacar que para la obtención de mutantes estériles es necesaria la mutación en dos genes. La existencia de feromonas en levadura se dedujo de la capacidad de las células  $\alpha$  de crecimiento vegetativo de inducir cambios morfológicos en células *a* sin que se establezca contacto alguno célula-célula, lo cual sugería que las células  $\alpha$ , segregaban una o más feromonas. Sobrenadantes de cultivos celulares de células *a* y  $\alpha$  inducían la detención del ciclo celular y la aglutinación, así como los cambios morfológicos inherentes (36). En relación con estos procesos se han estudiado los factores correspondientes a cada tipo de célula  $\alpha$  o *a*.

El llamado factor  $\alpha$  fue el primero en caracterizarse, respondiendo en su estructura a un péptido de 13 aminoácidos, y con capacidad de inducir en células *a* todas las respuestas. Son dos genes: MF $\alpha$ 1 y MF $\alpha$ 2, los que codifican precursores de 165 y 120 aminoácidos respectivamente con repetición lineal de factor  $\alpha$  o factor  $\alpha$ -análogo. Cuando mutan ambos genes

(desaparición o destrucción) resulta factor  $\alpha$  indetectable y un defecto de conjugación, lo que indica que no hay otros genes funcionales para el factor  $\alpha$ . Los precursores del factor  $\alpha$  son translocados a la clásica ruta de secreción donde son glicosilados y procesados para producir el factor  $\alpha$  *maduro*.

Con respecto al factor *a*, su estudio este ha sido más complicado ya que tiene una gran hidrofobicidad, debido a una modificación lipídica. Se ha demostrado que consiste en dos péptidos de 12 aminoácidos que difieren entre sí por la sustitución de un único aminoácido. Ambos tienen la Cys como aminoácido C-terminal que resulta modificado por farnesilación y carboximetilación. Como para el factor  $\alpha$ , en este caso también dos genes, MFa1 y MFa2, codifican los correspondientes precursores de 34 y 36 aminoácidos, cada uno de los cuales contiene una única secuencia de factor *a* que corresponde a cada uno de los dos péptidos. Estudios con mutantes han demostrado que el mecanismo de secreción del factor *a* es distinto al convencional. El precursor sufre un proceso proteolítico y la modificación en el residuo Cys. Una proteína codificada por otro gen, STE6, es esencial para la producción del factor *a*, ya que al igual que otras proteínas de membrana, interviene en el bombeo hacia fuera de la célula del factor *a*, en un proceso ATP-dependiente. Este descubrimiento explica la farnesilación del factor *a*, dando por resultado su localización en la cara interna de la membrana donde entra en contacto con el producto del gen STE6, que lo transporta a través de la membrana plasmática (37).

A este respecto es interesante considerar si esta forma de secreción se presenta también en eucariotas superiores.

La respuesta a las feromonas, inicialmente, implica una paralización de las células sin gemar, en la fase G1 del ciclo celular, acompañada de cambios morfológicos e inducción de la aglutinación. Habiéndose aislado genes envueltos en el proceso de conjugación, resulta evidente que muchos de ellos están inducidos por feromonas. Para la respuesta a feromonas las células *a* y  $\alpha$  segregan feromonas peptídicas, llamadas *a*- y  $\alpha$ -factor, que se unen a los receptores de los conjugantes opuestos; al parecer interacciona con ambos receptores una proteína G. En la secuencia de pasos entre los componentes necesarios para activar la ruta, se incluyen quinasas y factores de transcripción, los cuales inducen muchos aspectos de la conjugación y de

la respuesta a feromona. Paralización del ciclo celular ocurre al parecer por inhibición de los componentes necesarios para traspasar el START, es decir la G1 ciclina y Cdc 28 quinasa. También hay que considerar la capacidad de una célula para discriminar entre el conjugante potencial basado en la posibilidad de producir feromona. En las células  $a$ , se ha demostrado que el mecanismo opera a través del receptor Ste 2, pero también puede ocurrir independientemente de la mediación de la proteína G.

Después de la respuesta a feromonas, antes mencionadas, células  $a$  y células  $\alpha$ , pueden fusionarse unas con otras para generar un cigoto que produce yemas diploides. Como respuesta a feromonas se inducen muchos componentes implicados en variados aspectos de este proceso. La secreción tiene lugar por las células morfológicamente cambiadas, tipo "Shmoo", como respuesta a la feromona opuesta, que puede actuar como un mecanismo de localización de los componentes envueltos en dicha respuesta y en la discriminación de la célula con la que se va a verificar la fusión.

Se ha observado que para que ocurra la fusión celular en el proceso de conjugación, la pared celular tiene que degradarse, y esto ocurre en presencia de feromona, especialmente las células de tipo "Shmoo". Genes de fusión FUS 1 y FUS 2 se activan por feromona jugando un papel en la fusión celular. Fus 1 es una proteína de membrana que localiza a la célula tipo "Shmoo" después de la inducción por feromona y al cuello del cigoto después de la fusión. La proteína Fus 2, parece jugar un similar papel que la proteína Fus 1, codificada por FUS 1. De esta manera después de la fusión se forma un cigoto diploide con un único núcleo  $a/\alpha$ . En este proceso de fusión también interviene la feromona en la formación del huso y en la conexión de los microtúbulos que promueven la migración de los núcleos, el uno hacia el otro para producir un solo núcleo diploide, interviniendo aquí los cuerpos polares del huso. Otro gen, el KAR3, que se necesita para la estructura y función de los SPB (cuerpos polares del huso) en las células vegetativas, es también fundamental para la fusión nuclear dentro del cigoto. Este gen, el KAR3 es también activado por feromona. Así pues por alteración y activación de los componentes nucleares que operan en la división de las células vegetativas puede originarse la fusión nuclear, y es aquí donde ejercen un papel muy importante las feromonas de una y otra célula, los receptores correspondientes y los genes que resultan influidos por

las feromonas de las células, que se atraen, se modifican morfológicamente y se fusionan.

El estudio de las feromonas en levadura encierra una serie de consideraciones de capital importancia biológica. Los estudios genéticos de los factores que intervienen en las respuestas a las feromonas que inducen el proceso de conjugación celular y fusión nuclear tras haber sido reconocidas células opuestas  $a$  y  $\alpha$  por sus feromonas específicas (factores  $a$  y  $\alpha$ ) y sus receptores pueden llevar al conocimiento de la secuencia de los pasos en la cadena que conduce a sus efectos sobre el ciclo de división celular y su paralización en orden a los procesos de conjugación celular y fusión nuclear. La secuenciación de los genes que participan en la secreción de feromonas, por ejemplo el factor  $a$ , y la estructura primaria de la proteína que codifica el gen STE6, indican que existe una gran similitud con una proteína de mamífero, Mdv, y que contribuye a la resistencia multidroga, mediante un bombeo ATP-dependiente de las drogas compuestas. Estos datos pueden contribuir a elucidar los mecanismos de acción de proteínas similares en organismos superiores. El conjunto de pasos implicados en el torrente de señales inducidas por la acción de feromonas, estudiados en levaduras en el proceso de fusión, lleva aparejado la inducción de genes para producción de feromona, de respuesta a feromona, de aglutinación, de fusión celular y fusión nuclear, después de haber intervenido previamente una serie de componentes, entre ellos quinasas y otros factores que inducen la paralización del ciclo de división celular en el paso G1. Todo indica lo compleja que resulta la transmisión de señales para que tenga lugar la fusión celular que implica un proceso tan importante como es el comportamiento sexual. Unos pequeños péptidos, con una secuencia determinada, son capaces de ser reconocidos por unos receptores proteicos, codificados por otros genes en otras células y como consecuencia desatar una cadena de acontecimientos bioquímicos que conducen al comportamiento sexual de estos organismos unicelulares. Son moléculas de masa molecular relativamente baja que liberadas, al medio por unas células, son reconocidas por otras estableciendo una comunicación química, una comunicación entre células separadas, mediante moléculas vertidas al medio ambiente que rodea a las células, una llamada a distancia, una telecomunicación por “telemoléculas” que producen unos estímulos de comportamiento, a través de lo que podríamos llamar sistemas “telecrinos”.

## PLANTAS SUPERIORES

Dentro del reino vegetal podemos distinguir organismos unicelulares y pluricelulares. De organismos unicelulares se han descrito algunos casos de bacterias y levaduras, con algunas consideraciones detalladas. Resulta casi imposible dentro de los límites de esta disertación ahondar en todos los distintos aspectos que implica el amplio reino vegetal. Es por ello por lo que haremos alguna referencia a casos de algunas plantas superiores. Las plantas superiores están enraizadas en el suelo, por lo que los distintos individuos que forman una población están limitados en cuanto a desplazamiento o agregación. No obstante se pueden comunicar entre sí mediante mediadores químicos, estableciendo normas de comportamiento comunitario. Se puede citar casos, el ya descrito en la introducción en que determinada especie vegetal presenta flores con colores variados que asemeja y atraen a la avispa, al mismo tiempo que segregan una sustancia tipo feromona de atracción sexual. Las avispas se sienten atraídas por unas flores y estimuladas por unas feromonas favoreciendo así la polinización de las flores (polinización entomógama). Esto es un caso de comunicación aleloquímica, por estar implicados en interacciones interespecíficas (38). De estos fenómenos de comunicación aleloquímica se han descrito casos de *alomonas* que producen respuestas favorables al productor de la feromona como es el caso descrito y de *Kairomona* que favorece al receptor de la señal química (39).

Otro caso de feromona vegetal de plantas superiores es la secreción por las plántulas de cereales de unos compuestos volátiles que atraen a avispas parásitos, enemigas naturales de ciertas orugas de la remolacha; estas orugas segregan volicitina (N-17-hidroxiolenol-L-glutamina) cuando atacan las plantas jóvenes de cereales, produciendo lesiones que responden segregando los compuestos volátiles atrayentes de avispas, que las defienden del ataque por las mencionadas orugas. La volicitina es un componente clave de una cadena de señales químicas y procesos bioquímicos que regulan interacciones tritróficas entre plantas, insectos herbívoros y enemigos naturales de los herbívoros (40).

Los árboles también se comunican. Parece ser que también los árboles utilizan mensajes químicos para comunicarse entre sí, cosa que se ha

demostrado en las acacias del transvaal (África del sur). Cuando son objeto de agresión por animales herbívoros, estas acacias son capaces de prevenir a distancia a los árboles de su especie que las rodean. Para ello las hojas de las acacias agredidas liberan al aire una sustancia volátil que es percibida por los árboles cercanos. En pocos minutos todos estos árboles de acacia, situados en un perímetro de unos cincuenta metros han desarrollado sistemas de defensa; sus hojas se han vuelto tóxicas al triplicar la cantidad de taninos que contienen. Las jirafas que circundan esas zonas no ingieren las hojas de estas acacias para evitar sus efectos tóxicos. Esto mismo se descubrió en observaciones realizadas en antílopes criados en cautividad. Estos animales presentaban una alta tasa de mortalidad, encontrándose en su estómago gran cantidad de hojas de acacia sin digerir. Los antílopes morían envenenados por los taninos de las acacias “informadas” (41).

Se ha sugerido el etileno como el presunto producto volátil que informa a las especies de acacia. Es conocido que el etileno es una de las moléculas reguladoras más sencillas de las plantas superiores. Su función y actividad afecta a un conjunto de procesos fisiológicos así como a respuesta a distintas situaciones de estrés. La producción de etileno se incrementa en situaciones que alteran las condiciones ambientales de las plantas superiores: agentes físicos, como heridas, sequedad, encharcamientos etc... compuestos químicos como metales pesados y herbicidas, efectos biológicos tales como ataques por insectos o infecciones por hongos, bacterias y virus. Se sabe que el etileno es una fitohormona coordinadora y reguladora de muchos procesos de crecimiento y senescencia de las plantas. La biosíntesis del etileno en plantas se conoce perfectamente en cada una de sus etapas enzimáticas y sus intermediarios metabólicos. Estudios genéticos han dilucidado algunos aspectos de su función bioquímica. Se han encontrado receptores del etileno, habiéndose relacionado los componentes de los receptores (proteínas al parecer asociadas al retículo endoplásmico y al aparato de Golgi) con las diferentes respuestas de los tejidos vegetales a este hidrocarburo (42).

En relación con los mecanismos de defensa en condiciones ambientales adversas (estrés) se ha demostrado que como respuesta a agresiones físicas, químicas y biológicas, se pueden inducir, mediante el aumento de la producción de etileno, la síntesis de la fenilamina amonio liasa, chalcona sintasa, glucanasas y quitinasas. La enzima fenilalanina

amonioliasa (PAL) cataliza la transformación de fenilalanina en ácido cinámico, a partir del cual se sintetizan derivados fenólicos.

Los derivados cinámicos realizan funciones ecológicas importantes. Por su aroma pueden actuar de repelentes de herbívoros; por otra parte al ser precursores fenólicos pueden dar lugar a taninos hidrolizables o tanoides. Estos compuestos son polímeros de ácido gálico o elágico esterificados con azúcares. Los taninos reaccionan con las salivas y las otras glicoproteínas bucales produciendo un efecto astringente, actuando así como disuasorios nutritivos para los herbívoros y presumiblemente tóxico. Todo esto puede producirse por el efecto desencadenante del etileno, compuesto muy volátil, fitohormona de amplio espectro, que se produce en situaciones de estrés y que puede comunicar a través del aire su función a otros árboles como es el caso de las acacias. Habida cuenta que en los procesos de defensa vegetal están implicadas sustancias como furanocumarinas procedentes del ácido o-hidroxicinámico (compuesto fenólico) que realizan función protectora en rutáceas y umbelíferas, actuando como fitoalexinas, y que estas cumarinas y furanocumarinas desempeñan funciones ecológicas en plantas, en las relaciones alelopáticas como disuasorios nutritivos, y que el etileno está implicado en estas situaciones de estrés, se puede ahondar más en el concepto de que este hidrocarburo (el hidrocarburo con doble enlace más sencillo) por su carácter volátil pueda ejercer su efecto en otras plantas actuando como fitoalexina (43).

En relación con lo descrito para el etileno, se pueden citar numerosos sesquiterpenos cíclicos que tienen actividad fitoalexina; comúnmente los sesquiterpenos se acumulan con los monoterpenos formando parte de esencias. Su síntesis es desencadenada por elicitores fúngicos (43).

## FEROMONAS EN EL REINO ANIMAL

### **Invertebrados**

En el reino animal siguiendo la escala evolutiva podríamos citar a título de ejemplo: feromonas en invertebrados desde los más primitivos en la escala zoológica a los más complejos.

## **Protozoos**

En los protozoos (seres unicelulares) ya se han citado casos de receptores que obedecen a un gradiente de concentración de un determinado compuesto químico que provoca cambios de orientación en relación con alteraciones en potencial de membranas y que influyen en los ciclos (19,20). Como hemos indicado antes, estos fenómenos de quimiotaxis, que pueden interpretarse como una comunicación por moléculas, al igual que ocurre en bacterias, también tienen lugar en individuos de la escala zoológica más primitiva demostrando así respuestas a moléculas sencillas en cuanto a su comportamiento.

En la ameba *Dyctiostelium discoideum* se ha encontrado una feromona atrayente sexual, como se ha indicado anteriormente.

## **Helmintos**

También se conocen casos de comunicación química en gusanos. En el nematodo *Caenorhabditis elegans* se ha descrito un tercer estado larvario especializado que tiene larga vida y es resistente a agresiones. Esta larva se forma en respuesta a una elevada concentración de una feromona segregada constitutivamente por el nematodo.

Se han identificado más de veinte genes como necesarios para la respuesta a la feromona, entre ellos se incluyen los que codifican la producción de feromona, exposición de las terminaciones sensoriales neuronales al medio ambiente, integridad estructural y funcional de esas terminaciones sensoriales y la capacidad de esas neuronas sensoriales para hacer la adecuada producción.

Establecen los autores un modelo especulativo para explicar la respuesta de la feromona: Dos tipos de neuronas (ADF y ASI) son sensores de las feromonas que reprimen la formación de la larva duradera en ausencia de feromona y la desreprimen en presencia de la feromona. Esta inducción de la feromona inductora de la formación de la larva duradera, es una muestra de la intervención de las feromonas en la defensa de estos nematodos frente a un medio ambiente hostil (44). En esta especie de

*Caenorhabditis elegans* se han encontrado también feromonas que regulan la densidad de población, que son las llamadas epidiéticas (5).

También en helmintos se ha estudiado la comunicación y la naturaleza química de feromonas, especialmente de atracción sexual.

En nematodos se ha puesto de manifiesto el carácter hidrofílico de la feromona sexual femenina, en especies del género *Panagrelus*, *Heterodera* y *Pelodera* (45). Por otra parte, en trematodos se han encontrado factores lipofílicos, especialmente esteroides libres o esterificados, como se ha demostrado en especies de los géneros *Leucochloridiomorfa*, *Amblosoma*, *Echinostoma*, *Schistosoma*.

También se han estudiado en helmintos los órganos o estructuras que están implicados en la producción y liberación de feromonas. En nematodos (*Nematospiroides*, *Aspicularis* y *Ascaris*) se ha puesto de manifiesto que es la región vulvar la implicada en la secreción feromonal femenina y que las secreciones de la glándula caudal del macho atraen a las hembras. Concretamente, en la especie *Ascaris suum* los machos son atraídos por los órganos sexuales femeninos y las hembras son atraídas hacia los testículos y el fluido corporal del macho (46), lo que indica que los órganos genitales son el lugar de producción de feromonas en ambos sexos.

Receptores y quimiorreceptores han sido también estudiados en helmintos, tanto en nematodos (Asquelmitos) como en trematodos (Platelmintos). En nematodos, se han descrito los afidios, que son invaginaciones en forma de saco, ciegas, situadas en la cabeza del animal, uno a cada lado y que contienen los receptores sensoriales. En la región caudal de algunos nematodos se encuentran los llamados fásmidos, glándulas unicelulares que se abren separadamente, a cada lado de la cola. Estos fásmidos son estructuras glandulosensoriales para la quimiorrecepción muy bien desarrolladas en los nematodos. Las neuronas sensoriales de la cabeza del nematodo forman agrupaciones llamadas sensiles. En cada sensil las neuronas terminan en un canal incluido dentro de dos células no neuronales, las células envolventes y recipientes. Las neuronas localizadas en canales que penetran en la cutícula se consideran como quimiorreceptores (47). Se ha comentado cierta similitud entre los quimiosensibles de los nematodos y las células olfatorias de los vertebrados. Jansson et al. (48) propusieron un mecanismo de quimiorrecepción en nematodos que comienza por la unión del atrayente químico a los

carbohidratos de la superficie cefálica, que son exudados por los afidios o sensiles. Ciertas pectinas actúan como mediadores en la inhibición de la quimiotaxis, como se ha observado en *C. elegans* (49). Por otra parte se han encontrado receptores que contienen manosa y que están implicados en la quimiorrecepción del nematodo *Trichostrongylus colubriformis* (50).

En trematodos son escasos y dispersos los estudios sobre recepción de estímulos químicos. Estudios de microscopía electrónica y de tinción ligera a la plata han demostrado que estos helmintos tienen varios tipos de papilas sensoriales que probablemente juegan un papel en la quimiorrecepción, papilas uni y multiciliadas. Investigaciones diversas realizadas en *Schistosoma* fundamentalmente, no permiten presentar clara evidencia acerca de la participación de tales receptores en interacciones entre machos y hembras. Ensayos con lectinas y con inmunoglobulinas y análisis de los carbohidratos de la superficie de *Schistosoma* no han podido disipar las dudas existentes (45).

En cuanto a los datos existentes en helmintos se pueden citar especies de *Heterodera* en las que se han demostrado la existencia de feromona femeninas que atraen a los machos, y que son compuestos no volátiles. Su función depende de la edad del macho y de la concentración de la feromona, existiendo una concentración óptima para la máxima respuesta.

En virtud de las respuestas intra o interespecíficas se ha propuesto la división del género *Heterodera* y subgéneros en varias especies. En estudios de *Heterodera glycines* se ha ensayado “in vitro” el comportamiento de los machos frente a la feromona de la hembra, poniéndose de manifiesto que cuando el macho se comporta con círculos y espirales frente al estímulo, se encuentra ante una feromona, no siendo así el caso en la quimiotaxis que no presenta espirales o círculos alrededor del estímulo (51). En la especie *Nippostrongylus brasiliensis* también se han realizado diversos estudios de comportamiento, así como una parcial purificación de las feromonas de ambos sexos. Utilizando la técnica de cromatografía de filtración en gel de homogenizados de machos y hembras se han separado dos fracciones con actividad. Una, con un peso molecular superior a 500, se obtuvo de extracto acuoso de ambos sexos y era atrayente para los dos sexos. Una segunda fracción de peso molecular inferior a 400 se encontró en extractos de hembras y era atrayente sólo para los machos. También se ha extraído y purificado el “nipolure” la feromona de agregación de los gusanos hembras

mostrando que esta feromona es un polipéptido de punto isoelectrico 7.3 (52).

En la especie *Caenorhabditis elegans*, además de la feromona que induce la formación de larva duradera en respuesta a las inclemencias del medio ambiente, se ha estudiado la atracción quimiotáctica de este nematodo por nucleótidos cíclicos, aniones, cationes, y valores alcalinos de pH. Estos gusanos se orientan hacia el gradiente siendo la respuesta clinotáctica. En este nematodo se ha estudiado la feromona que influye en la entrada y salida del estado larvario de larga duración, demostrándose que incrementa la frecuencia de la formación de la larva e inhibe la recuperación. Esta feromona se ha descrito como un compuesto análogo a los ácidos grasos, aunque ha sido sólo parcialmente purificada.

En trematodos, se han realizado también estudios sobre feromonas. En ensayos “in vitro” con *Schistosoma* se ha puesto de manifiesto que machos adultos emiten feromonas que atraen a las hembras (53), indicándose que dichas feromonas sexuales o tienen carácter lipídico (*S. Mansoni*) o el lípido que contienen sirve como transportador o solvente (54). Estudios histoquímicos (55) han indicado que la liberación de lípidos en estos parásitos se ve afectada por la presencia de otros gusanos. También en trematodos, pero en el grupo de los cestodos, aunque no hay clara evidencia de la influencia de feromonas, se ha sugerido que éstas están probablemente implicadas en el comportamiento y fenómenos sexuales de algunas especies (58).

Se han descrito casos en cestodos que sugieren la presencia de una comunicación química en estos organismos, aunque no existe mucha información disponible. Se ha indicado que la localización de *Himenolepis diminuta* está determinada por el gradiente de 5-hidroxitriptamina (57). También parecen ser feromonas los factores de agrupamiento; sustancias segregadas por estos gusanos son inhibidores de agregación de individuos de su especie. Experimentos con timidina  $^3\text{H}$  en *H. diminuta* han demostrado este fenómeno (58).

Con respecto al comportamiento de parásitos para el encuentro del lugar adecuado, se han realizado también investigaciones que demuestran una atracción química y una migración de nematodos fitoparásitos hacia las raíces de ciertas plantas (59).

También están involucrados factores químicos en la búsqueda del lugar de asentamiento de zooparásitos, como ocurre con el *Ancylostoma caninum* que es atraído por un componente de bajo peso molecular del suero del perro, lo que ayuda a encontrar la vena para entrar en el animal hospedador.

Algunos nematodos emplean kairomonas (interespecíficas) que favorecen al receptor. Por ejemplo un nematodo de insectos, *Bursaphelencus xylophilis*, es atraído por el mircenol, un terpeno que es también atrayente de insectos (60).

Imposible sería resaltar más datos acerca de feromonas dentro de los invertebrados no artrópodos. Seguro que existen muchos más datos no descritos aquí. Lo expuesto es sin embargo una muestra de la implicación de feromonas en el comportamiento de estos animales, lo que significaría una comunicación entre animales individualizada a través de un lenguaje químico, un lenguaje molecular, que se realiza entre organismos emisores y receptores. Hace unos cincuenta años los primeros estudios se realizaron en insectos, como se ha mencionado al comienzo de esta disertación. No cabe duda de que donde más se ha investigado es en el aspecto entomológico y concretamente en el campo de los helmintos hay un retraso de unos cincuenta años. Sin embargo, como puede deducirse de la bibliografía, existen numerosas referencias que avalan las investigaciones sobre feromonas en estos animales. Hace unos diez años se habían ya purificado parcialmente y caracterizado dos feromonas de helmintos.

En el nematodo hembra *Nippostrongylus brasiliensis*, se aislaron las dos referidas feromonas, de las cuales una era probablemente un hidrocarburo de unos 375 D y otra era un péptido de moderada polaridad, de 600 D. En trematodos hay menos información pero parece ser que las feromonas en estos animales son sustancias lipófilas, probablemente esteroides. Se ha experimentado en helmintos la transferencia de feromonas, empleando técnicas diversas para su colección, aislamiento y bioensayos, que por supuesto han de ser superadas. En nematodos se han realizado estudios sobre feromonas en relación con la concentración; en trematodos estos estudios son más escasos.

En *Fasciola hepática* se ha estudiado el comportamiento diverso que presentan estos organismos en su etapa juvenil. Sin embargo la información

sobre el análisis del comportamiento en nematodos sobrepasa la que se tiene sobre trematodos.

Es conveniente pensar en nuevos modelos de parásitos que sean adecuados para los estudios de feromonas en helmintos. Por ejemplo hay especies de trematodos de los géneros *Schistosomatium* y *Trichobilarzia* que son dimórficas, fáciles de mantener en el laboratorio y que alcanzan la madurez sexual en un tiempo más corto que otro esquistosoma. Pueden constituir un mejor modelo para estudios de comunicación química que los esquistosomas que infectan al ser humano.

Es necesario ahondar más en la purificación y caracterización química de los atrayentes de helmintos. Se pueden recoger productos de excreción-secreción de gusanos para explorar su actividad potencial como feromona, procedimiento que requiere en primer lugar la purificación y caracterización, lo que exige el esfuerzo conjunto de analistas químicos y especialistas en helmintología. Hacen falta nuevas formas de abordar para el control de la helmintiasis. Un buen conocimiento de las feromonas que regulan la atracción sexual, en nematodos y trematodos, o su apareamiento y agregación permitirá encontrar medios inmunológicos o quimioterapéuticos que interfieran la comunicación por feromonas. Medios preventivos de apareamiento de gusanos eliminarían la patología asociada a la producción de huevos en helmintos tales como los esquistosomas e impedir que se complete el ciclo vital de la mayor parte de los helmintos.

## **Insectos**

Siguiendo el orden taxonómico dentro de los invertebrados se va a tratar la implicación de las feromonas en insectos. Precisamente del *filum* artrópodos, son los insectos los organismos más estudiados referente al comportamiento animal inducido por comunicación química entre individuos de la misma o distintas especies (61) (62). Ya en la primera mitad del siglo XX estudios con lepidópteros e himenópteros sugirieron que las hembras de estos insectos emitían sustancias químicas que atraían a machos de la misma especie. Insectos hembras u órganos específicos se extrajeron con solventes orgánicos para obtener supuestos atrayentes químicos, que fueron purificados por métodos cromatográficos para separar sustancias que atraían a machos de la misma especie. Gran cantidad de

insectos tenían que ser procesados para obtener cantidades mínimas del compuesto químico atrayente. Dos atrayentes bien conocidos y caracterizados son el *bombicol* de la mariposa de seda y el *giplur* de la lagarta.

Como se ha indicado en la introducción y en las generalidades sobre liberación, transmisión y percepción de feromonas son los insectos las especies más estudiadas en el reino animal, por diversos factores: facilidad de obtener grandes poblaciones de algunas especies, el interés que despiertan los comportamientos de determinados insectos, unos con efectos beneficiosos y otros perjudiciales, y finalmente la gran variedad, diversidad y cantidad de especies que presenta esta clase taxonómica, que los hacen muy adecuados para un gran conjunto de investigaciones.

En insectos se ha observado una regulación hormonal, habiéndose descrito dos clases principales de hormonas: 1) las verdaderas hormonas producidas por glándulas epiteliales, ecdisona y hormona juvenil y 2) hormonas neuropeptídicas producidas por células neurosecretoras. Miembros de este grupo regulan el desarrollo fisiológico y el comportamiento en insectos. Se conocen datos con detalles sobre aislamiento, identificación, relación estructura-función, modo de acción, biosíntesis, inactivación, metabolismo y efectos “feed back” de hormonas implicadas a) en la regulación metabólica, b) en la estimulación o inhibición de la actividad muscular, c) en la regulación del oscurecimiento y cambios de color y finalmente d) en el control de la reproducción, crecimiento y desarrollo, en el que están envueltas diversas hormonas de la ecdisis, del cuerpo alado del estado juvenil, de la eclosión y neuropéptidos activantes de la biosíntesis de feromonas. Todavía en los últimos años de esta década se percibe que existe una gran laguna tanto en el estudio de los receptores, que está en su primera fase, como en los estudios funcionales de factores ya bien establecidos (63).

Se ha indicado con gran énfasis que la evidencia química es necesaria tanto en la endocrinología de insectos como en la fisiología sensorial para comprender bien la acción de las hormonas y feromonas a nivel molecular. Se han sintetizado feromonas y hormonas marcadas con isótopos radioactivos y se han usado para identificar las proteínas de unión de los tejidos de los insectos. Análogos estructurales modificados químicamente, incluyendo inhibidores enzimáticos, son herramientas usadas

para modificar covalentemente el aceptor específico o el sitio catalítico. Tales agentes pueden suministrar orientaciones para el diseño de alteradores de crecimiento y de apareamiento, mediante manipulación de interacciones de las señales químicas con macromoléculas importantes fisiológicamente (64).

Diversos autores (63) señalan la necesidad de realizar un esfuerzo conjunto para continuar la investigación en los campos indicados, y hacer avanzar el conocimiento hacia el uso de hormonas de insectos como salvaguarda y manejo de moléculas específicas en relación con plagas de insectos.

No obstante, está ampliamente reconocido que la mayoría de las feromonas identificadas hasta el presente son feromonas de insectos.

Como muestra podemos indicar, que al menos la naturaleza química y la función de cuatro atrayentes de insectos son muy bien entendidas. La identificación de éstas, representa un alarde técnico de gran magnitud. Es conocido que el bombicol es la feromona sexual de la hembra de la mariposa de la seda. El bombicol es un alcohol alifático de 16 átomos de carbono. Tiene dos dobles enlaces ( $\Delta_{10,12}$ ) hexadecadien (10,12) ol. Para obtener 12 mg de ésteres de bombicol fueron necesarias 250.000 mariposas de la especie *Bombix mori*.

Para obtener 20 mg de glyplure, feromona de la mariposa lagarta fueron necesarias 500.000 mariposas hembras. Cada mariposa contiene 0,01  $\mu$ g de glyplure, una cantidad inferior a la millonésima del peso del cuerpo de la mariposa. El glyplure es como el bombicol un di-alcohol alifático (1,10) de 16 átomos de carbono, con doble enlace en 7 y esterificado con ácido acético en la función alcohólica secundaria del carbono 10. Otros autores extrajeron unos 12 mg de la feromona atrayente sexual femenina de 10.000 hembras vírgenes y la caracterizaron como 2,2 dimetil-3-isopropilidenciclopropilpropionato. En la abeja funciona una feromona que juega un importante papel controlando el enjambre. La abeja reina regula el ciclo reproductivo de la colonia segregando por sus glándulas mandibulares una sustancia que se ha identificado como el ácido 9-cetodecanoico. Cuando las abejas obreras ingieren esta sustancia, se inhibe el desarrollo de sus ovarios y también la capacidad de producir células reales que caracterizan a las nuevas reinas. Bajo ciertas condiciones las abejas obreras liberan el terpeno geraniol, un alcohol de un agradable aroma, que transmitido por el aire atrae

a otras obreras ampliando así la información de la danza típica de las abejas, indicadoras del descubrimiento de nuevas fuentes de alimentos o de nuevos lugares para anidar. Por otra parte, cuando una obrera pica a un intruso, descarga además del veneno, pequeñísimas cantidades de una secreción de las glándulas unicelulares próximas al aguijón. Esta es la responsable, como saben los apicultores, de la tendencia a picar el mismo punto. El conjunto atrayente ha sido identificado como isoamilacetato que tiene su olor característico a plátano.

Se han identificado las estructuras químicas de las feromonas más conocidas, bombycol, glyplure, la feromona de la cucaracha americana y la de la abeja reina. Si se consideran las fórmulas químicas se pueden hacer algunas generalizaciones acerca de sus características. En primer lugar parece ser una condición para una feromona atrayente sexual el tener en su estructura entre 10 y 17 átomos de carbono y un peso molecular entre 180 y 300, que es el margen encontrado hasta el momento en los atrayentes identificados. Solamente compuestos con ese tamaño o algo mayor pueden cumplir dos conocidos requisitos: estricta especificidad (sólo miembros de una especie pueden reaccionar frente a ellos) y alta potencia. Compuestos de menos de cinco carbonos, con peso molecular menor de 100 no pueden agruparse en un número suficiente de formas diferentes para ofrecer una molécula distintiva para todos los insectos dispuestos a anunciar su presencia. Parece ser una regla, al menos en insectos, que la potencia de atracción aumenta con el peso molecular, dentro de unos límites. Ensayados un conjunto de ésteres en insectos, como moscas, moléculas de doble peso molecular presentaban un aumento de eficiencia 1000 veces superior. Por otra parte las moléculas no pueden ser demasiado grandes y complejas, puesto que entonces serían muy difíciles y prohibitivas para poder ser sintetizadas por el insecto. También, dado el carácter volátil de éstas, el aumento del tamaño molecular disminuiría su volatilidad y por consiguiente su difusibilidad. Además se puede predecir que las feromonas de alarma en insectos tienden a ser de peso molecular más bajo que las de atracción sexual. También se ha demostrado que entre las hormigas, en relación con las feromonas de alarma, existe poca especificidad; cada especie reacciona fuertemente a la sustancia de alarma de otras. Además, una señal química de alarma que va a ejercer principalmente su influencia dentro de los límites

del nido, no necesita la potencia estimulante de un atrayente sexual, ni tampoco la estricta especificidad de especie.

Por esta razón se admite que las moléculas pequeñas satisfacen los propósitos de alarma. Se ha demostrado que en los insectos sociales, de cada siete sustancias de alarma, seis tienen 10 o menos átomos de carbono y una tiene 15.

Hemos indicado al comienzo de este capítulo que en insectos, es donde más se ha estudiado y encontrado respuestas a una comunicación química; pero es más, se sabe que entre los insectos es donde más casos de agrupaciones de comunidades se dan. Estos son los insectos sociales, cuyo estudio ha sido objeto en los últimos años de gran interés y dedicación. Las avispas sociales, las abejas, las termitas y las hormigas, todas ellas se comunican en la oscuridad de sus nidos y se conoce que tienen avanzados y poderosos receptores químicos. Se han aplicado técnicas experimentales especiales que han permitido identificar feromonas en estos insectos, en especial en las hormigas; se han encontrado glándulas especializadas, reservorios de estas moléculas y se han observado sus efectos sobre el comportamiento de las castas obreras, que son las más numerosas y las que más necesitan una guía informativa continuada.

Hormigas de todas las clases están dotadas de un sistema exocrino glandular excepcionalmente bien desarrollado. Un ejemplo lo constituye la hormiga roja (fire ant) *Solenopsis saevissima*, en relación con las sustancias de rastreo. Era ya conocido que la secreción de estas sustancias (feromonas) servía sólo como una guía limitada para las hormigas obreras y que tenía que ser incrementada por otras señales en el interior del hormiguero. Hoy se conoce que la sustancia de rastreo es extraordinariamente versátil. En la mencionada hormiga funciona para activar y guiar a las obreras en la búsqueda de alimentos y de lugares para nuevos nidos. También contribuye como una señal de alarma que emiten las obreras en situación de peligro. La huella que deja la hormiga roja consiste en una sustancia que segrega la glándula de Dufour, y que es vertida al suelo a través del aguijón por contactos directos e intermitentes. Esta feromona actúa en primer lugar para atraer a las hormigas obreras. Éstas, al encontrar el atrayente, se desplazan automáticamente contra el gradiente al foco de emisión, alejándose del hormiguero en dirección lineal. Esta respuesta las lleva a las fuentes de alimentos o nuevos sitios donde anidar, donde ha quedado la huella. Se ha

llevado a cabo la extracción de la feromona de las glándulas de Dufour de animales recién muertos y se han creado huellas artificiales. Se observó cómo grupos de hormigas obreras seguían fielmente dichas huellas alejándose del nido a lo largo de rutas arbitrarias marcadas en círculo en dirección al hormiguero (65).

La feromona es una sustancia más bien volátil, que vertida de forma natural por una hormiga obrera difunde por debajo de la concentración umbral durante dos minutos, por lo que las hormigas pueden seguir la huella sólo la distancia que ellas pueden recorrer en esos dos minutos. Aunque se limita la distancia de comunicación (40 cm), esto tiene dos ventajas que lo compensan. La más importante es que las huellas viejas no útiles no se prolongan, lo que confundiría a las obreras. En segundo lugar, la intensidad de la huella dejada por la hormiga es indicadora de la cantidad de alimento encontrado y la rapidez con que se está agotando.

Volviendo al tema del conocimiento de las estructuras químicas de ciertas feromonas, es conveniente resaltar que algunas sustancias que actúan como atrayentes sexuales, cuya estructura ha sido mencionada, presentan en su molécula algún carbono asimétrico. Esto crea la pregunta de cuál de los estereoisómeros es la forma activa. Por ejemplo, el gyplure, descrito por Wilson corresponde al compuesto 7-hexadecen-1,10 diol 10 acetato, aislado en principio por Jacobson y colaboradores. Posteriormente estos autores (66) denominan gyplure al cis-9-octadecen-1,12 diol 12 acetato y nombran gyptol al compuesto "cis" anteriormente mencionado. En 1967 Eiter et al. (67) demuestran que dichos compuestos eran inactivos como feromona. Ello obligó a Jacobson a reinvestigar este hecho y confirmar que efectivamente los citados compuestos eran inactivos y que la actividad encontrada en el gyptol original era debida a la presencia de trazas de otra sustancia con actividad biológica extraordinariamente alta. En 1970 Bierl et al. (68) aislaron de *Pontheria dispar* o *Lymantria dispar*, la mariposa lagarta europea de gran tamaño, colectada en España, un compuesto identificado como cis-7,8-epoxi-2-metiloctadecano, para el que propusieron el nombre de "dispalure" (en vez de gyplure). Este compuesto se sintetizó *in vitro* demostrándose en experimentos de laboratorio y de campo que era activo a cantidades tan bajas como  $2 \times 10^{-12}$  g. A título de curiosidad se puede mencionar que esta mariposa se denomina vulgarmente "gypsomoth", que

traducido sería mariposa o polilla gitana. La especie más difundida en España es *Euproctis chryorroea*.

Estos datos ponen de manifiesto las precauciones que hay que tener a la hora de extraer, purificar y caracterizar compuestos biológicamente activos como señalizadores químicos, procesos que deben ser extremadamente rigurosos para permitir sin lugar a duda obtener compuestos altamente purificados, es decir, puros y libres de trazas de otros. Es posible que sean cantidades infinitesimales que figuran como trazas o “impurezas”, los compuestos activos que se han de obtener puros para identificarlos y caracterizarlos. También es interesante estudiar la relación entre constitución química y actividad biológica. Una especie de hormiga, la *Iridomyrmex pruinosus*, utiliza 2-heptanona como feromona de alarma. Usando compuestos relacionados químicamente con la 2-heptanona se ha demostrado claramente que la respuesta en cuanto al comportamiento de este insecto, aunque lejos de ser exclusiva de la 2-heptanona es, sin embargo, específica para un restringido número de compuestos (69). Entre las teorías actuales de la olfacción, la teoría estereoquímica parece adecuarse a los datos experimentales. Se han ensayado 49 cetonas y 35 sustancias no cetónicas con respecto la respuesta de alarma que provocan o inducen. Además de en *Iridomyrmex pruinosus*, se han estudiado en otras dos especies: *Pogonomyrmex baduns* y *Atta texana*. Los resultados demuestran la necesidad para su actividad de un determinado tamaño y de una determinada forma molecular. A la vista de la forma y tamaño, se puede predecir cuáles van a ser los compuestos activos. Se han investigado una serie de cetonas isómeras y homólogas. La hormona natural, 2-heptanona, contiene una cadena carbonada plana y en zig-zag de donde se proyecta el átomo de oxígeno en la posición 2. Se observa que hay compuestos con siluetas y tamaños parecidos. Los análogos estructurales pueden variar ligeramente, en longitud de cadena, en la posición de grupo cetona o con aparición de un doble enlace.

Así por ejemplo, las 2-alcanonas lineales con menos de 5 o más de 10 átomos de carbono son virtualmente inactivas como feromonas. Las alcanonas cíclicas, no tienen actividad alguna, ni siquiera la cicloheptanona. Sin embargo, admitiendo que se mantenga la forma de la 2-heptanona, se pueden tolerar marcadas variaciones químicas sin que se pierda la actividad biológica. Por ejemplo sustituyendo el grupo metileno 3 de la cadena por un

oxígeno resulta el éster n-butilacetato que es tan activo como la 2-heptanona. Otra sustitución por oxígeno del metileno 6, ya lejos en la cadena, da lugar al 2-etoximetilacetato, compuesto que es también muy activo. De lo expuesto se puede deducir la gran especificidad de las feromonas de atracción sexual y la estrecha relación entre su estructura química (espacial, tamaño molecular, forma etc.) y su función, encontrándose actividad para un conjunto muy reducido de análogos estructurales. Sería interminable exponer todo lo que se ha investigado sobre feromonas en insectos. Baste señalar que además de los trabajos en hormigas se han realizado estudios de los efectos de feromonas sobre el comportamiento en otras especies de insectos, como por ejemplo, cucarachas y termitas. En todos estos tipos de insectos se han encontrado feromonas que actúan como marcadores de huella (se ha indicado previamente), sustancias de alerta (muchas de ellas son terpenos), afrodisiacas, sustancias de agregación y atrayentes sexuales (de las cuales al menos seis han sido aisladas e identificadas química y biológicamente) y otras. Se ha encontrado un feromona llamada seducina, producida por el macho de la cucaracha *Nauphoeta cinerea*, que no sólo atrae a la hembra sino que actúa paralizándola, manteniéndola en posición alargada adecuadamente para el apareamiento sexual. Como se ha indicado al principio se han estudiado las glándulas productoras de feromonas de distinto tipo, especialmente en hormigas. Ya se mencionó la glándula de Dufour, productora de la feromona de alarma. También se debe citar la glándula de Pavan, que segrega también en la hormiga la feromona huella.

El mundo de la comunicación molecular entre individuos de la misma especie separados entre sí por un espacio físico (aire, agua, etc.) es amplísimo, complejo e interrelacionado. En el coleóptero *Dendroctonus pseudotsugae* la hembra produce un enmascaramiento de la feromona, después de que el macho haya emitido el estridor característico, impidiendo la agregación de los escarabajos en vuelo pero no la paralización de los machos, en un proceso de interacción entre un comportamiento inducido química y acústicamente. Este enmascaramiento es considerado como un mecanismo de supervivencia por medio de la regulación del ataque en un momento crítico del comportamiento previo al apareamiento (70). Por otra parte, terpenos tales como  $\alpha$ -pineno, canfeno y limoneno, y oleoresinas de abeto actúan igual que la feromona producida por el intestino de la hembra

que perfora al árbol hospedador. Esto parece indicar que la feromona de atracción sexual es un producto de naturaleza terpénica del abeto hospedador del escarabajo y que la feromona del intestino de la hembra probablemente sea de naturaleza terpénica, como resultado de una asimilación de los terpenos del árbol por la hembra. Ya se ha demostrado en otros casos cómo determinados insectos aprovechan determinados productos de los vegetales para emplearlos intactos o transformarlos en sus propias feromonas.

Sobre cierto enmascaramiento de feromonas, también existen casos en otros insectos como la abeja (*Apis mellifica*). Abejas sometidas a un estímulo nocivo (shock eléctrico) aumentaban su umbral de resistencia a este estímulo cuando se trataban previamente con isopentil acetato, que es la principal feromona de alarma producida por el aguijón de este insecto. Este efecto es contrarrestado por tratamiento con naloxona, conocido antagonista de endorfinas. Estos resultados sugieren que en la abeja opera un sistema opioide endógeno activado por isopentil acetato que es responsable de la modulación de la percepción de estímulos nociceptivos. La analgesia inducida frente al estrés nocivo en la abeja que se defiende reduce su probabilidad de retirada, aumentando así su eficacia frente al enemigo (71). Varios autores abundan en la necesidad de concentrar esfuerzos para realizar y continuar investigaciones en el campo de las hormonas de insectos, entre las que se incluyen neuropéptidos producidos por células neurosecretoras que activan la biosíntesis de feromonas (63). Relacionando esto con el caso citado de las abejas, puede ser también que neuropéptidos inducidos por la anoxia actúen a su vez como inductores de la feromona de alarma.

Los insectos tienen un supersentido (72); apareamiento y localización del hospedador son sistemas modelos para aplicar y sacar provecho de las interacciones olfatorias. Los insectos tienen un desarrollado sentido de la olfacción. Su agudeza olfatoria es similar a la de muchos otros animales y puede aun relacionar planta con planta señalizadas mediante sustancias químicas volátiles. La olfacción en insectos es más fácil de investigar que en otros animales. Existen técnicas basadas en estudios electrofisiológicos sobre el sistema nervioso central de los insectos que se pueden aplicar sin producir el tipo de estrés y crueldad que se emplea con animales superiores. En este sentido es posible registrar respuestas de comportamiento de las neuronas olfatorias directamente asociadas a los

sistemas neuronales motores, combinando estudios electrofisiológicos con las respuestas mecánicas cuantificadas de los insectos. Así por ejemplo, registrando el funcionamiento del aparato olfatorio de la abeja es posible determinar simultáneamente la respuesta de la extensión de la trompa condicionada por el olor. También en insectos se ha demostrado una alta sensibilidad y especificidad de respuesta al olor de una única sustancia más bien que una respuesta general a una completa serie de compuestos estructuralmente relacionados. Los insectos tienen la capacidad de usar esta especificidad al olor y las respuestas correspondientes para sustancias que el insecto debe evitar, como es el caso de plantas que son inadecuadas como alimento o como lugar de asentamiento. También se ha demostrado que los insectos pueden usar compuestos volátiles ubicuos de sus hospedadores, pero poseen sofisticados mecanismos para determinar su composición añadiendo de este modo una especificidad a la interacción. Las señales químicas implicadas son empleadas en todos los aspectos de la actividad del insecto: feromona sexual para el apareamiento, y una amplia gama de tipos de señales con interacción con el hospedador, ya sea planta o animal, con fines de alimentación o de lugar donde poner los huevos.

También hay que considerar que si un insecto responde positivamente al ser atraído por una mezcla compleja de compuestos volátiles vegetales, no puede asumirse que el compuesto que se encuentra en mayor proporción sea el responsable de la actividad. Es cierto que nosotros mismos reaccionamos a compuestos volátiles con una sensibilidad que abarca muchos órdenes de magnitud, es decir, desde una baja sensibilidad hacia un simple alcohol a una sensibilidad extremadamente alta para compuestos análogos que contienen azufre. Por ejemplo el compuesto responsable del aroma característico de la grosella negra no se manifiesta aun en las trazas obtenidas por cromatografía de gas, mientras que muchos compuestos menos activos muestran picos. Así pasa con insectos, que tienen la gran ventaja de que empleando los órganos que contienen más neuronas sensitivas olfatorias, se pueden analizar las respuestas usando las antenas como órganos receptores, interconectadas con un sistema de cromatografía de gases que revela los picos de distintos compuestos volátiles de una planta y estudiando el efecto de cada uno de los componentes que se separan al incidir sobre las antenas, medido mediante un electroantenograma (EAG) y conectado simultáneamente con la medida de la extensión de la lengua del

insecto (CPE). También se le puede acoplar un sistema que mida la reacción de los sensiles de las antenas (SCR, *single cell recording*).

Los resultados obtenidos han mostrado en abejas que las respuestas biológicas más activas no se corresponden con los picos de más cantidad de la cromatografía de gases. También se ha investigado con polillas (lepidópteros) en las que se han llevado a cabo un gran número de experimentos. Los ensayos se han orientado fundamentalmente hacia la percepción y efectos de las feromonas sexuales. Los machos de determinadas mariposas (polilla de la vid) (*Theresimima ampellophaga*) tienen unas antenas que se asemejan a las antenas aéreas de radio, sugiriendo que están implicadas en vibraciones electromagnéticas, lo que no tienen ningún fundamento científico.

Estas antenas tienen un gran número de células quimiosensoriales que interaccionan a nivel molecular especialmente con feromonas sexuales. Las feromonas sexuales de la polilla que comprenden unas largas cadenas insaturadas con algún grupo funcional terminal pueden ser altamente específicas y permiten el aislamiento de especies, aun cuando muchas especies diferentes coexistan en un mismo ecosistema. Sin embargo, puede haber errores en la naturaleza, que constituyen excepciones; en efecto, se demostró, utilizando EAG (electroantenogramas) que dos especies distintas de polillas, separadas temporal y espacialmente que intentaron copular al encontrarse juntas, tenían la misma sustancia activa como feromona de atracción sexual. Las especies eran *Callimorpha dominula* y *Tyria jacobaeae*. La constitución química de la feromona era (S,R)-(Z,Z)-9,10-epoxiencosa-3,6-dieno (72).

La gama de conjuntos volátiles inducidos generados por insectos herbívoros en plantas puede ser de gran especificidad. Por ejemplo el áfido del guisante, *Acyrtosiphon pisum*, cuando parasita y se alimenta de la especie *Vicia faba* provoca la producción por la planta de un conjunto de compuestos volátiles, que también se liberan cuando se le han ocasionado a la planta daños mecánicos. Sin embargo si la especie de pulgón es *Megoura viciae* los compuestos volátiles liberados son diferentes de los que producía el *Acyrtosiphon pisum*. Esta exacta asignación del insecto herbívoro para poder liberar compuestos volátiles puede ser aprovechada por especies parasitoides especialistas que atacan al *Acyrtosiphon pisum* y no al *Megoura viciae*. Mediante técnicas avanzadas de electrofisiología ya

mencionadas, las investigaciones de compuestos relacionados con el estrés en los insectos pueden servir no sólo para un aprovechamiento más efectivo de los insectos beneficiosos, como el parasitoide descrito, sino también para identificar nuevas señales químicas de las plantas que pueden ser de gran valor en una amplia gama de aspectos relacionados con la biología molecular.

Existe un aprendizaje de las respuestas de los insectos a determinados compuestos químicos que actúan como feromonas (73). Esta es una característica muy importante de la ecología química de los insectos, especialmente entre los hemípteros, himenópteros y dípteros. Por ejemplo los parasitoides que atacan insectos, debido a la experiencia adquirida en relación con el reconocimiento de ciertos compuestos volátiles, pueden estar preparados para actuar con más avidez para conseguir alimentos. Así pues la feromona sexual de ciertos áfidos (hemípteros) es usada por parasitoides áfidos para localizarlos en otoño y atacarlos. Pero en verano el parasitoide tiene una respuesta innata. Estos mecanismos de interacción neurofisiológicos son muy útiles para manipular estos insectos beneficiosos para la protección de cosechas. En himenópteros (*Apis mellifera*) utilizando la técnica del estudio del comportamiento electrofisiológico acoplado a la cromatografía de gases también se ha puesto de manifiesto el aprendizaje frente a determinado estímulo. La abeja ha sido entrenada para responder con la extensión de su trompa bajo el estímulo de una mezcla de compuestos volátiles. Estos compuestos volátiles separados por cromatografía de gases de alta resolución se sometieron al estudio de comportamiento de la abeja. Los resultados pusieron de manifiesto que si bien todos los compuestos eran detectados por las antenas (electroantenograma) sólo tres daban respuestas de comportamiento. Usando extracto de flores de colza (*Brassica napus*) como estímulo de aprendizaje, se demostró que aunque el extracto floral contenía varios cientos de componentes, sólo ciertos compuestos (aproximadamente 20) provocaban la respuesta de extensión de la trompa. Solamente a concentraciones muy altas se obtenía respuesta a todos los componentes. Estos datos confirman lo indicado anteriormente sugiriendo que el reconocimiento de una mezcla depende de la presencia de sólo un número limitado de componentes clave. Se observó también un incremento en la sensibilidad electrofisiológica durante el breve período de entrenamiento, lo que puede estar relacionado con la energética del sistema

amplificador de la proteína G en el interior de la antena después del reconocimiento inicial de la señal.

Estos estudios de electrofisiología pueden llevar a conocer mejor la naturaleza de los mecanismos olfatorios y su papel en la ecología química con vistas a encontrar nuevos métodos de controlar las plagas de insectos. Estos estudios en insectos pueden proporcionar nuevas oportunidades para identificar indicadores químicos en otras situaciones tales como señales entre mamíferos (incluyendo humanos) y también en casos de señales de estrés de plantas.

Es de esperar que los trabajos sobre la percepción de olores en insectos y los estudios en áfidos (pulgones) referentes a sistemas de receptores permitan a identificar proteínas funcionales que puedan servir de modelo en estudios en mamíferos proporcionando reconocimiento molecular de amplio interés industrial.

Con respecto a la discriminación de mezclas de feromonas también se han estudiado en insectos a nivel de los sistemas sensoriales periféricos (receptores) y su relación con el sistema nervioso central, con el cual se integra, conduciendo esto al reconocimiento y discriminación de mezclas complejas. Más concretamente, se ha estudiado la participación del sistema olfatorio a nivel de los glomérulos, como unidades funcionales en el sistema nervioso proporcionando una interfase espacial entre los sensores aferentes y los tipos de neurona en el SNC con una gran variedad de perfiles de respuestas fisiológicas y sensibilidades. En insectos se ha demostrado que el contacto entre neuronas periféricas y neuronas centrales implicadas en detectar feromonas sexuales tiene lugar a nivel del complejo macroglomerular específico del lóbulo de la antena del macho. En polillas, se ha puesto de manifiesto que axones específicos para cada componente de las feromonas penetran en el lóbulo de la antena y terminan en los glomérulos específicos del complejo macroglomerular del macho. Se ha investigado si existe alguna diferencia en la morfología del complejo macroglomerular específico del macho entre distintas razas de la polilla perforadora del grano, *Ostrinia nubilalis*, tratando de correlacionar el mencionado complejo y el desarrollo del lóbulo de la antena con el comportamiento en trasplantes de discos de antenas de larvas machos de una raza a machos y hembras de otra raza. Las razas se distinguen por la capacidad de producir una mezcla de isómeros de la feromona sexual ( $\Delta^{11}$ -

tetradecenil acetato). Los resultados han suministrado información sobre la interacción entre la vía periférica y la organización glomerular de la vía olfatoria de SNC y han demostrado que mientras el desarrollo del lóbulo de la antena es dependiente del crecimiento del nervio de la antena en el interior del cerebro, el tipo de lóbulo y la arquitectura glomerular del complejo macroglomerular del macho depende de factores genéticos (74).

También se ha investigado en insectos el comportamiento dependiente de su metamorfosis y se ha observado que depende de feromonas (75). Respecto a la agregación los insectos adultos responden a unas moléculas químicas que son distintas a las que actúan en la fase de ninfa. Esto se ha investigado en la langosta del desierto (*Schistocerca gregaria*), un ortóptero que se desarrolla gradualmente sin pasar por la fase de pupa y que presenta dos fases diferentes dependiendo de la densidad de población. Estas langostas en su fase de grandes masas constituyen en África y Asia enormes poblaciones que producen importantes pérdidas en la agricultura. Las grandes masas están formadas por individuos de la misma edad aproximadamente. Los jóvenes saltadores se mueven en bandas y su desarrollo está coordinado por mecanismos reguladores sensoriales y hormonales, de modo que el cambio a adulto ocurre casi al mismo tiempo y permite así la formación de grandes masas de movimiento rápido.

A baja densidad de población, la langosta vive en solitario. La diferencia entre la vida gregaria y la solitaria no sólo reside en la forma de vida sino que depende de la morfología interna y externa, de su fisiología y su comportamiento. El cambio entre la fase solitaria y gregaria se induce por una combinación de indicadores visuales, táctiles y en gran medida olfatorios. El comportamiento de estas langostas está determinado por unos compuestos químicos volátiles, que constituyen feromonas de agregación. En el estado adulto las feromonas de agregación las segrega el macho maduro y son cuatro los compuestos químicos que intervienen: Fenilacetónitrilo (80%), guayacol, fenol y benzaldehído, en menores proporciones. Por otra parte la fase de ninfa tiene otra clase de feromona de agregación que consiste en cadenas lineales de aldehídos y ácidos (entre 5 y 9 átomos de carbono) producidos por la superficie del cuerpo, y guayacol y fenol eliminados por las heces; estos compuestos se liberan en los estadios 2º al 5º de la fase de ninfa. Sin embargo en la primera fase de ninfa parece ser que se segregan otros tipos de sustancias. También hay que citar la

feromona de oviposición-agregación que atrae a las hembras para que depositen juntas los huevos, la cual ha sido identificada como una mezcla de veratrol y acetofenona. Los sistemas olfatorios están constituidos por sensiles situados en las antenas de animales solitarios o gregarios en diferentes etapas del desarrollo. Estos sensiles son de tres tipos y responden a distintas clases de feromonas estimulantes (agregación, respuestas a olores relacionados con plantas, y a compuestos volátiles relacionados con la fase de ninfa y también al nonadienal, (supuesta feromona sexual). También se ha constatado que las langostas solitarias tienen más sensiles olfatorios que las gregarias. Así pues se puede concluir que la langosta del desierto muestran una sorprendente habilidad para cambiar de forma de vida (de solitaria a gregaria) lo que se refleja en las diferentes características morfológicas y funcionales de las vías olfatorias periféricas y centrales en las diferentes etapas del desarrollo y en las dos formas de vida. El sistema olfatorio está adaptado perfectamente para capacitar a los individuos de las dos formas de vida, en las distintas fases del desarrollo, respondiendo así a las feromonas específicas de cada etapa.

En insectos se han estudiado profundamente los procesos primarios de los olores feromonales. La habilidad de ciertas polillas machos de detectar cantidades mínimas de feromona hembra y responder volando hacia la fuente de olor es una extraordinaria demostración del papel que el olfato puede jugar en el comportamiento. Se ha comenzado a entender cómo el cerebro animal reconoce y discrimina los diversos olores. La existencia de un sistema olfatorio accesible y los comportamientos muy característicos hacia olores muy definidos y estereotipados han sido investigados en polillas que poseen un poderoso sistema de olfacción. Estudiando el complejo macroglomerular, donde terminan los axones específicos que reconocen las feromonas, las cuales penetran en el lóbulo de la antena, se ha demostrado la capacidad de discriminación de olores feromonales, unos positivos en su acción y otros negativos, a través de observaciones de estos centros primarios de procesamiento de la información periférica. Este importante fenómeno biológico de la olfacción se ha estudiado en dos especies de polillas de Norteamérica, que constituyen conocidas plagas de las cosechas de algodón, trigo, tabaco, tomate y fresa, *Heliothis virescens* y *Helicoverpa zea*, cuyos machos localizan a las hembras volando hacia el olor en una corriente de feromona liberada durante la noche por una

glándula especial localizada en el extremo del abdomen de la hembra (76). El epitelio olfatorio de una polilla se encuentra a lo largo de la antena, donde miles de pelos cuticulares alojan las dendritas de las células receptoras olfatorias. Los machos tienen un gran número de largos pelos (tricoides) que no poseen las hembras. Estos tricoides contienen las dendritas de las células receptoras olfatorias sensibles a las feromonas. Axones de células receptoras se incorporan al lumen de la antena y forman así el nervio de la antena, que se proyecta en el área primaria de procesamiento de la información olfatoria.

Las células receptoras tienen ramificaciones terminales que establecen cohesiones sinápticas con interneuronas centrales en el lóbulo de la antena el cual está organizado en discretos nudos esferoidales llamados glomérulos. Las conexiones sinápticas entre neuronas sensoriales y centrales tienen lugar dentro de los glomérulos. En *Heliothis virescens* el complejo macroglomerular específico del macho comprende cuatro glomérulos, mientras que *Helicoverpa zea* posee sólo tres. En las dos especies estudiadas las mezclas de feromonas comprenden al menos dos moléculas diferentes; ambas especies comparten el mismo componente primario (Z)-11-hexadecenal, pero necesitan pequeñas cantidades de diferentes componentes secundarios: *H. virescens* (Z)-9-tetradecenal; *H. zea* (Z)-9-hexadecenal. Los compuestos liberados por las hembras de cada especie muestran un alto grado de solapamiento, pero la polilla *H. virescens* macho no resulta atraída por la hembra de *H. zea*, puesto que ésta no libera (Z)-9-tetradecenal.

Por otra parte, los machos de *H. zea* son atraídos por las hembras de *H. virescens*, que producen los dos compuestos requeridos para la atracción. Esto indica que el sistema olfatorio de los machos de *H. zea* tiene que discriminar sus feromonas de las de *H. virescens*. Se ha observado además que hay otros compuestos, tales como (Z)-11-hexadecenil acetato, que antagoniza el vuelo hacia la fuente de olor, cuando este compuesto se añade a una mezcla atrayente de componentes binarios. Tales compuestos pueden constituir una medida para evitar a otras especies que segregan similares mezclas de feromonas.

Se ha observado que en *Helicoverpa zea*, las neuronas que responden a (Z)-11-hexadecenal siempre tienen una ramificación dendrítica en el cúmulo (glomérulo más complejo), que codifica para el componente primario de la feromona. Las neuronas que responden a (Z)-11-hexadecenil acetato y a (Z)-9-tetradecenal están localizadas en otro glomérulo. Puesto

que el vuelo del macho se antagoniza por el acetato de hexadecenilo y el (Z)-9-tetradecenal es el componente secundario de *H. Virescens*, se puede suponer que en ese glomérulo se codifican señales antagónicas. Finalmente, las neuronas que responden a (Z)-9-hexadecenal tienen ramificaciones dendríticas en el tercer glomérulo del complejo macrogglomerular de *Helicoverpa zea*, que codifica para el componente secundario de la mezcla atrayente para esta especie de insecto.

Todo esto permite poner de manifiesto que las feromonas son mezcla de al menos dos componentes que constituyen el olor a percibir por estas especies. Cada mezcla atrayente se expresa por una combinación de actividad neuronal con dos glomérulos identificables en el complejo macrogglomerular del lóbulo de la antena. Cuando está activada, las neuronas de proyección en el tercer glomérulo parecen indicar la presencia de compuestos antagónicos en la mezcla olorosa. El solapamiento en cuanto a combinación de glomérulos está relacionado con los distintos resultados de comportamiento. En este mismo grupo de polillas que atacan a los campos de cultivo agrícolas, se ha comprobado que las neuronas de los receptores median en las respuestas de comportamiento (77). Como se ha indicado anteriormente, distintos tipos de neurona de polilla están implicados en la atracción del macho a la mezcla de feromona sexual emitida por la hembra. Cada tipo de receptor relacionado con esta atracción normalmente se sintoniza de manera óptima con un único componente (agonista) de la mezcla de feromona y está encajado en un largo sensil tricoideo similar a un pelo. Miles de estos sensiles festonean las antenas de las polillas machos. Por otra parte, existen otras neuronas que están implicadas en las respuestas de comportamiento frente a antagonistas, respuestas tales como el cese del vuelo hacia la fuente de olor; estas neuronas están adaptadas a responder solamente a componentes emitidos por hembras de otras especies y están implicadas en la reducción de la atracción de machos a mezclas que contienen estos compuestos haciendo que sean mínimos los errores de apareamiento con hembras de especies distintas. Usando la técnica de cortes de las terminaciones de los microscópicos pelos olfatorios con cuchillas de vidrio y registrando las actividades de las neuronas incluidas en su interior midiendo (por métodos muy sofisticados, usando electrodos de tungsteno introducidos en los sensiles), la excitación eléctrica que se produce como respuesta a diferentes componentes (agonistas y antagonistas) se ha podido

poner de manifiesto en estas polillas la discriminación que ejercen las distintas neuronas mostrando una marcada especificidad de especie en las respuestas. Algunos componentes de especies como *Heliothis virescens* y *Heliothis subflexa*, contenidos en las mezclas que conforman sus feromonas, son fuertes antagonistas en *Helicoverpa zea* del vuelo hacia la fuente feromonal de olor por parte de los machos hacia la hembra de la propia especie. Para estas tres especies que coexisten a lo largo y a lo ancho de la mayor parte de Norteamérica, una resolución tan fina como ésta puede tener gran importancia para el apareamiento de las especies. Por ejemplo, corrientes de dos compuestos olorosos (componentes de feromonas) que no coinciden en el tiempo de llegada sólo pueden proceder de fuentes diferentes de producción (glándulas de dos hembras distintas) dirigidas hacia el mismo punto. Sólo corrientes de feromonas y antagonistas que sean perfectamente coincidentes en el tiempo y en el espacio pueden ser emitidas por una hembra de especie distinta. Machos con capacidad de detectar y responder a corrientes puras de feromonas, siendo indiferentes a cualquier imperfecta contaminación de feromonas con antagonistas de otras hembras, pueden representar una ventaja selectiva en su pasado evolutivo. La manera en que las neuronas receptoras de la antenas de *Helicorpa zea*, así como de las de otras especies, están compartimentadas en pelos receptores puede ofrecer una visión rápida de las previsiones que han conformado la capacidad de los machos para encontrar pareja, reduciendo orientaciones o apareamiento erróneos con hembras de otras especies. En otro orden de cosas, en la mariposa, del gusano de seda, *Bombix mori*, se ha puesto de manifiesto un control motor por las feromonas sexuales (78). En mariposas machos se ha observado un modelo o patrón característico en zig-zag cuando se dirigen a la fuente de feromona de las hembras de la misma especie. Vibraciones de las alas, giros de cabeza y curvatura abdominal están íntimamente asociados a la marcha de estos machos inducida por feromonas. Utilizando técnicas muy refinadas de construcción de una especie de robot móvil conteniendo antenas de los machos de las mariposas para la detección de las feromonas se ha podido evaluar la estrategia de búsqueda de la fuente de olor desarrollada por el macho de *Bombix mori*, en circunstancias reales. Se han estudiado los modelos de actividad en los estados de transición de bajo a alto nivel y de alto a bajo registrando las respuestas a las feromonas, en los mecanismos “flip-flop” de neuronas

descendientes antes y después del estímulo así como los estados de transición también de alto a bajo y de bajo a alto en neuronas motoras del cuello.

Con los histogramas de picos de frecuencia de excitación en los estados de transición se ha demostrado que una secuencia programada de comportamiento, que no ocurre con memoria compleja y aprendizaje, hace posible la orientación hacia la fuente de olor usando sólo un mecanismo de ida y vuelta (“reset”) del programa. Es obvio que este mecanismo “reset” resulta muy importante en insectos que tienen sólo una secuencia programada de comportamiento para orientarse hacia el olor. Las bases neuroquímicas del programa se apoyan en las respuestas “flip-flop” del cerebro a los centros motores torácicos, que conforman las señales que constituyen modelos armoniosos en estos comportamientos. Tales estrategias tienen que ser usuales en insectos que poseen sólo un pequeño número de neuronas cerebrales.

Interminable sería referir y comentar las múltiples aportaciones de las investigaciones sobre insectos en el campo del comportamiento inducido por señales químicas tales como las feromonas

Los datos expuestos en este capítulo dedicado a insectos pueden constituir sólo un ejemplo de lo mucho que se ha trabajado sobre el comportamiento biológico ordenado a distancia desde fuera del organismo mediado por estimulantes de variada naturaleza química. Se podría admitir sin temor a equivocarse que en la clase insectos es probablemente donde más se ha investigado sobre el referido tema. Muchas razones avalan los innumerables estudios realizados: 1) La multitud de especies distintas conocidas. 2) La facilidad de reproducirse en el laboratorio en condiciones controladas. 3) La facilidad de manejo debido a su tamaño. 4) Los estudios genéticos realizados con algunas especies conocidas, y los que se pueden realizar. 5) Los costes económicos que representan, relativamente bajos, en relación con otras especies animales. 6) El interés que presenta en algunos casos el conocimiento del comportamiento de ciertas especies con fines de explotación beneficiosa o de combatir las plagas. 7) Finalmente puede añadirse que los resultados y conclusiones del estudio de estos animales y de la comunicación química entre ellos, pueden extrapolarse a otras especies del reino animal, sirviendo de base para su estudio.

FEROMONAS EN VERTEBRADOS

**Peces**

Siguiendo la clasificación taxonómica del reino animal en este capítulo vamos a tratar algunos aspectos de la influencia de estimulantes químicos entre individuos en el subtipo vertebrados. Imposible sería dentro de los límites de esta disertación citar y describir todas y cada una de las investigaciones realizadas en este grupo de animales en lo referente a moléculas de comunicación interindividual. Esta clase de moléculas que en otros organismos se muestran operativas interviniendo en el comportamiento sexual, de defensa, de agregación, de búsqueda de alimentos y sitios para anidar, también realizan su función en animales más evolucionados como son los vertebrados. Así por ejemplo en peces, hace ya varias décadas que se conoce el papel de las señales químicas. En sus estudios y revisiones pone de manifiesto que el gusto y el olfato están altamente desarrollados en ciertas especies de peces y que estos sentidos están implicados en el control de la migración, la alimentación y la vuelta a su lugar de origen; en el aspecto social su asociación en banco, de peces y su comportamiento reproductivo; también hay señalizaciones que marcan las relaciones familiares entre los progenitores y las crías así como entre predadores y presa, y entre simbioses. En fin, un sinnúmero de comportamientos de todo tipo configuran la actividad de muchos peces. Por ejemplo el barbo o pez gato, y otros peces, que viven en comunidad muestran un complejo comportamiento social. La estabilidad del grupo y el reconocimiento individual están basados en la capacidad olfativa. El reconocimiento individual, una vez establecido, les lleva a establecer órdenes de jerarquía y condiciones en la comunidad. Cuando cambia la condición individual del pez, estos cambios son comunicados a través de canales quimiosensoriales. Los barbos sin sentido del olfato carecen de la capacidad de reconocer a otros individuos de su especie. No pueden formar comunidades estables y pueden continuar luchando entre sí, si cabe hasta la muerte. En contraste con éstos, barbos en comunidades normales solamente entran en luchas rituales, una vez establecida la estabilidad de la comunidad y en ocasiones colaboran con un comportamiento favorable entre ellos. Las secreciones babosas individuales despiden un olor característico de cada

especie que distinguen los propios animales y los miembros de otras especies. También es probable que exista un olor de banco de peces, transportado por la secreción mucosa, comparable a las sustancias de advertencia liberadas de la piel, cuando miembros de un banco de peces son mutilados por un predador. Éstas, dispersadas en el agua, inducen comportamientos variables propios de cada especie, en su defensa, los cuales son adaptativos a la ecología de las especies (79).

En el pez gato africano (barbo), *Clarias gariepinus*, se ha puesto de manifiesto la acción de glucurónidos de esteroides como feromona masculina que interviene en la reproducción (80). Después de la ovulación la hembra se siente fuertemente atraída por el olor del macho de su misma especie. Esta atracción depende de la secreción de la vesícula seminal. Los fluidos de la vesícula seminal han sido fraccionados y ensayadas las diferentes fracciones, demostrándose que los atrayentes sexuales pueden ser glucurónidos de esteroides. Mediante cromatografía de gases y espectrometría de masa pudieron identificarse. La sustancia con mayor poder atrayente, medido por la respuesta eléctrica del epitelio olfatorio y del tracto olfatorio resultó ser  $3\alpha$ ,  $17\alpha$ -dihidroxi-5- $\beta$ -pregnan-20-ona- $3\alpha$ -glucurónido.

Como se indicará más adelante, es evidente en este trabajo que las feromonas de animales acuáticos no son compuestos volátiles de bajo peso molecular sino compuestos más complejos con muchos grupos polares y con carácter hidrofílico.

Por otra parte, otros autores han señalado en relación con la evolución de las feromonas sexuales hormonales en peces teleósteos, que la pobre correlación entre el patrón de liberación de esteroides por la carpa dorada y su sensibilidad olfatoria sugiere que estos indicadores son más bien resultado de un seguimiento químico lateral de hormonas que de una especialización de señales definidas (81). Está demostrado que muchos teleósteos usan hormonas y sus metabolitos como feromonas sexuales. Se ha revisado por tanto la función hormonal de la feromona en peces y se describe un estudio de la carpa dorada acerca de si las feromonas "hormonales" son señales especializadas de comunicación química comparando los perfiles de los esteroides liberados por el pez con las respuestas olfatorias a los compuestos. Habiéndose encontrado escasa relación entre la producción de señal y la detección, se concluye que el

sistema de feromona “hormonal” de la carpa dorada es más probablemente un ejemplo de seguimiento químico como se ha indicado antes. También en peces se han encontrado otros casos explicables por la acción de feromonas, curiosamente feromonas de machos que actúan sobre machos y hembras no emparentadas. En distintas especies del género *Hypsoblenius* (82) se ha encontrado una feromona emitida por el macho que aparentemente facilita el cortejo nupcial y apareamiento despertando en ellos el apetito y la receptividad sexual. Se ha observado que los machos maduros no emparentados de *H. robustus* y *H. jenkinsi* son atraídos por una feromona de su misma especie o de *H. gentilis* que se produce y segrega a la vez que tiene lugar el cortejo, coincidiendo con la eyaculación. Células secretoras de la zona anal pueden ser la fuente de la citada feromona. El efecto de atracción más potente se ejerce por la feromona de la misma especie. Hembras y machos cuidadores o guardianes de los huevos fecundados no son atraídos por esta feromona. Así pues, la feromona mencionada en esta especie de peces parece que ejerce la función de facilitar el cortejo nupcial atrayendo a los machos maduros no emparentados hacia un macho que está haciendo el cortejo y probablemente el apareamiento consiguiente, aumentando la receptividad sexual de estos machos. Esta respuesta representa una ventaja selectiva para aumentar el número de contactos heterosexuales que conducen a la formación de parejas, produciendo un sincronismo de la freza. Estos datos apuntan hacia la existencia en peces de feromonas “facilitadoras” además de las que afectan a la interacción macho-hembra.

### **Anfibios**

También en anfibios se han descrito efectos de feromonas. Por ejemplo en el tritón (clase anfibio, orden urodelo) se ha identificado la sodefrina, como una feromona de atracción sexual femenina, de naturaleza peptídica segregada por la glándula cloacal del macho (83). En relación con la estructura química de la citada feromona sexual hay que abundar en la idea de que las feromonas que operan en medio acuático, deben ser fácilmente transportables razón por la cual deben ser sustancias hidrofílicas, como ocurre con los péptidos, tal es el caso de la citada sodefrina.

## Reptiles

Los reptiles son una clase de vertebrados bastante más evolucionadas cuyos individuos también se relacionan entre sí mediante señales químicas. En estos animales, como se ha indicado antes, se hace importante, al igual que en mamíferos, un órgano sensorial adicional, el órgano vomeronasal. Aparentemente este órgano participa en respuestas de comportamiento en serpientes y lagartos; sin embargo en la mayor parte de las especies su función es bastante desconocida (13). Estos órganos tal vez intervienen en el reconocimiento sensorial de determinadas sustancias. Cuando se presentan extractos del alimento usual de determinadas serpientes impregnados en algodón a animales ciegos, éstos responden de una forma características de su especie, lo que indica que los indicadores químicos pueden de por sí inducir las respuestas. La serpiente en estas condiciones aumenta la velocidad del movimiento de la lengua y ataca al algodón empapado. Serpientes recién nacidas de varias especies responden con ciertas diferencias frente a una serie de extractos similares. Las diferencias están altamente relacionadas con los hábitos naturales de alimentación de la propia especie, aun cuando no haya estado expuesta después de su nacimiento a sus ambientes o alimentos naturales. Estos resultados pueden ser útiles en el estudio de la evolución de ciertos ofidios. Sin embargo, camadas de la misma especie procedentes de diferentes áreas geográficas pueden responder distintamente a varios extractos. Las sustancias activas son sustancias heterogéneas y no volátiles y de un peso molecular aproximado de 5000. También se han encontrado feromonas que intervienen en el comportamiento sexual en la serpiente canadiense, *Thamnophis sirtalis*, que consisten en una serie nueva de metilcetonas de largas cadenas saturadas y monoinsaturadas, que son las moléculas atrayentes sexuales de las hembras. Los machos, sin embargo, liberan feromonas que contienen escualeno (84). En esta misma especie de serpiente se ha puesto de manifiesto una feromona atrayente sexual producida por la hembra que se encuentra en el suero y en la piel y que provoca en el macho el comportamiento sexual cuando se le aplica en la parte trasera. Estas feromonas parecen estar asociadas con la lipoproteína vitelogenina de la yema del huevo de la hembra (85).

La necesidad del órgano vomeronasal es bien patente en ciertas serpientes. Cuando se secciona el nervio vomeronasal bilateral, pero no el bilateral olfatorio, se suprime el comportamiento sexual de la serpiente macho (86) (87). Por otra parte, el bloqueo del acceso del compuesto oloroso al órgano vomeronasal de la serpiente jarretera americana y también de la víbora, ocasiona la falta de respuesta sexual del macho hacia la hembra. Es interesante en relación con el comportamiento de las serpientes mencionadas el hecho de que responden a una feromona de la superficie de las hembras mediante golpes de la lengua y desplegando aproximaciones sexuales. Esta feromona no parece tener un componente que se perciba a distancia, ya que los machos no se aproximan de modo selectivo a las hembras mediante indicadores a distancia, el macho tiene que entrar en contacto directo con la hembra antes de cortejarla. Parece ser que este comportamiento reproductivo se debe únicamente a indicadores químicos feromonales no volátiles que dependen enteramente para su detección del órgano vomeronasal. El órgano vomeronasal también es operativo para las respuestas a olores de su especie relacionadas con comportamientos no sexuales, como por ejemplo para la agregación de estos ofidios con fines localizadores de refugios. El órgano vomeronasal está implicado además en la expresión del comportamiento agresivo no sólo de las serpientes, sino también de ratones y ratas. Klemm et al. (88) han estudiado el papel del sistema vomeronasal en el comportamiento agresivo del ganado vacuno.

El órgano vomeronasal está también implicado en el reconocimiento y respuesta al olor de la presa.

Las serpientes dependen de indicadores químicos para detectar y buscar la presa apropiada. En víboras y serpientes de cascabel, en las que la detección de la presa se realiza mediante la visión y receptores infrarrojos, el comportamiento de búsqueda después del golpe y la identificación de la presa parecen estar mediados por sensores químicos. El seccionamiento de la punta de la lengua, que impide el acceso de sustancias químicas al órgano vomeronasal, reduce significativamente la eficiencia del rastreo (89). También se ha descrito que la cascabel a la que se le han suturado los conductos vomeronasales pierde la capacidad de atrapar su presa, lo que sugiere que la estimulación del órgano vomeronasal puede ser importante tanto en la fase previa a la captura de la presa como en la fase posterior (90).

En los estudios indicados se expresaba la necesidad de un contacto directo lingual con el estímulo químico para un exacto seguimiento de la huella. Serpientes jarretera americanas responden a los olores transportados por el aire mediante un incremento de los golpes o movimientos de la lengua y en ocasiones atacan a la presa. Si se seccionan el nervio vomeronasal y el nervio principal olfatorio disminuyen los golpes linguales en respuesta a los olores estimulantes; sin embargo serpientes a las que se les ha seccionado el nervio vomeronasal, todavía aumentan los golpes linguales en presencia del estímulo oloroso, lo que demuestra que aun pueden discriminar la presencia o ausencia de estímulos volátiles. Serpientes privadas del sistema olfatorio principal no aumentan la velocidad de movimientos golpeantes de la lengua frente al estímulo oloroso. Todos estos resultados sugieren que el aumento de la movilidad de la lengua de las serpientes en respuesta a odorantes volátiles puede estar mediado por ambos sistemas, el olfatorio y el vomeronasal. Puesto que la lesión del nervio olfatorio parece tener un efecto más grave sobre la respuesta al estímulo oloroso, es posible que el incremento inicial de la movilidad de la lengua en respuesta al olor dependa del sistema olfatorio, mientras que el mantenimiento de la movilidad dependa del sistema vomeronasal ya mencionado.

En relación con el órgano vomeronasal de ciertos vertebrados se ha discutido la funcionalidad de este órgano, muy ligado al órgano olfatorio pero que responde a estímulos al parecer de manera distinta a los que operan en el órgano olfatorio principal (91). Una subclase especial de señales olfatorias, las feromonas, no se perciben conscientemente, al contrario de lo que ocurre en el reconocimiento por el olfato de determinados olores que se identifican con un determinado suceso o producto. Las moléculas que se perciben inconscientemente, frecuentemente esteroides, largas cadenas alifáticas de ácidos grasos, alcoholes o aldehídos, son generalmente segregadas por animales y percibidas por otros animales de la misma especie situados en entorno regulando funciones tan básicas como apareamiento, ciclo menstrual, agresividad etc.

Estas feromonas son percibidas por el órgano vomeronasal donde se unen a un receptor de la superficie neuronal, desarrollando una señal que va por el bulbo olfatorio accesorio mediante una ruta no olfatoria, soslayando los centros cognitivos, hacia la amígdala y el hipotálamo, estructuras

cerebrales que rigen las respuestas emocionales y neuroendocrinas. A este respecto se ha identificado una nueva familia de unos 100 genes que pueden codificar receptores de feromonas en el órgano vomeronasal de ratón y rata. Esta familia de genes se agrega a las dos ya conocidas que reciben señales olfatorias: unas señales olorosas a través del epitelio olfatorio y otras señales de feromonas a través de receptores codificados por el órgano vomeronasal. Al igual que los genes de los receptores olfatorios, las familias de receptores de feromonas codifican proteínas con siete dominios transmembrana que convergen sus señales mediante la proteína G. Sin embargo los dominios extracelulares de la nueva familia de receptores feromonales son considerablemente mayores (550 aminoácidos) que los otros dos (29 aminoácidos). Estas estructuras pueden servir para unir ligandos de una manera similar a los receptores del glutamato. Esta clase de dominio es más adecuada para una evolución de la especificidad del receptor y más rápida que la que pueden realizar los sitios de unión de otros receptores olfatorios, que están formados empaquetados por varios dominios transmembrana. La nueva familia de receptores feromonales está situada en la región basal (y en la apical) del órgano vomeronasal juntamente con una proteína G diferente. Esta subdivisión en el órgano vomeronasal puede representar especializaciones para la percepción de diferentes tipos de moléculas, tales como feromonas con o sin proteínas accesorias de unión, o feromonas que producen respuestas de comportamiento a corto plazo, o respuestas de adaptación fisiológica a largo plazo.

En relación con la conciencia olfatoria y lo descrito anteriormente sobre el olor inconsciente para las feromonas se podría establecer una dicotomía estricta entre las feromonas (percepción inconsciente) que se detectan a través del órgano vomeronasal y otras sustancias olorosas que se perciben por la vía del órgano olfatorio principal. Esto ha conducido a asumir que familias de genes del órgano vomeronasal codifican receptores de feromona, jugando el órgano olfatorio accesorio un papel en la comunicación social, pero que ambos sistemas responden a feromonas y otros compuestos olorosos (92). Por ejemplo la serpiente jarretera americana usa el órgano vomeronasal para detectar feromonas de agregación y el olor de la presa (no feromona) (93). El hámster, por el contrario, usa el sistema olfatorio principal para detectar feromonas y el órgano vomeronasal para reconocer el olor de otros individuos (94). Así pues la función del órgano

vomeronasal tiene que ser ensayada, revisada y verificada, ya que aun no se ha realizado un etiquetado de los receptores de feromona en el órgano vomeronasal. En consecuencia se sugiere que la idea de que el animal es consciente de los olores “variados de jardín”, mientras que las feromonas se detectan inconscientemente queda aun por demostrar (92). Al parecer no existe evidencia experimental que demuestre que estos animales sean conscientes de unos estímulos e inconscientes para otros, aunque estos estímulos provoquen respuestas de comportamiento. ¿Perciben las serpientes jarreteras conscientemente la sustancia química que usan para rastrear a su presa y no la que emplean para encontrar y congrega a los individuos de su especie? ¿Cómo se puede medir la consciencia en un animal? También se precisa, si un animal puede valerse de un odorante en una tarea operativa para obtener algún provecho ¿es consciente de tal estímulo? (92). Si es así, los cerdos domésticos son conscientes del olor de la androsterona, que es una feromona activa en dicha especie.

### **Aves**

Poco se ha descrito acerca de la participación de feromonas como señales químicas que condicionan el comportamiento en aves, como ocurre con animales menos evolucionados y otros más complejos como los mamíferos. Sin embargo, como se ha indicado al principio de esta disertación, todos los seres vivos están inmersos en un lenguaje químico propio que dicta, en determinadas circunstancias, sus normas de conducta.

La mayor parte de los datos que se tienen sobre el comportamiento de aves son los referentes a estímulos visuales y acústicos. Es de sobra conocido el dimorfismo sexual que se presenta en numerosas especies de aves. También se advierte claramente el espectacular despliegue de plumas irisadas de la cola del pavo real cuando hace la corte. Lo mismo se puede decir de los estímulos visuales del pájaro jardinero y del ave del paraíso, que están dirigidos tanto a las hembras para seducirlas como a los machos para ahuyentarlos, señales que exhiben una gran vistosidad por su forma y colorido. Referente a señales acústicas no dejemos atrás la gran variedad de cantos o gorjeos. Entre ellos se encuentran algunos sonidos que sin ser ensordecedores poseen excepcionales propiedades acústicas. Aunque la conocida llamada del cuco puede parecer tenue, se oye a una distancia de

más de un kilómetro. El macho del alcaraván, un pájaro de los pantanos, emite un sonido, que puede ser oído por la hembra a una distancia de 5 km. Es un sonido muy puro que recuerda al de una sirena oída desde la lejanía.

Pero aunque no se han descrito señales químicas del tipo feromonal que influyen en el comportamiento, no cabe la menor duda que este tipo de señales tiene que operar también en las aves. Existen ciertos comportamientos en aves que no obedecen ni al colorido ni a los sonidos que emiten. Como ejemplo podríamos citar al cuco o cuclillo, ave trepadora del género *Cuculus*, *Coccyzus* u *Oxylophus*, cuyo nombre remeda su canto. Este animal alado vive a expensas de los demás pájaros sobre los que ejerce una fatal sugestión y está demostrado que la hembra pone cada huevo en un nido ajeno de un pájaro insectívoro de menor tamaño para que sea incubado; el polluelo del cuco acaba por expulsar del nido indebidamente usado a los polluelos de sus patronos. Considerando este comportamiento de depositar los huevos en nidos ajenos se plantea obviamente la pregunta: ¿este comportamiento está dirigido por factores genéticos que codifican señales químicas de las especies propietarias del nido ejerciendo un efecto atrayente hacia las hembras del cuco? La expulsión de los pájaros de sus propios nidos por parte de los polluelos recién nacidos ¿podría ser también un comportamiento programado químicamente mediante emisión de feromonas?.

Otro caso interesante del comportamiento de aves, que no obedece ni al color ni al sonido, es el que se presenta en el pájaro bobo, nombre vulgar de las aves palmípedas antárticas del género *Aptenodytes*, *Eudyptes* y *Spheniscus*. Estos animales de un metro de alto, 35 cm de envergadura y cola de 8 cm, tienen el pico largo, delgado, aguzado, por encima pardo negruzco y por debajo rojo; el lomo gris y el vientre blanco. Nadan con todo el cuerpo metido en el agua y aun sumergiéndose del todo con frecuencia; en tierra mantiene posición erguida y anda cruzando los pies en balanceo. Si se asustan se arrastran con rapidez con alas y patas, pues son incapaces de volar.

Estos pájaros bobos habitan por millares en bancos de hielo durante el largo invierno austral. En condiciones extremas (-50° y viento de 160 km/h) se ordenan en círculo estrechándose al máximo los unos contra los otros. El calor almacenado por el grupo es tal que cuando la colonia se dispersa los animales mejor protegidos llegan a sudar. Por un mecanismo de

comportamiento desconocido los animales de las zonas externas del grupo que han soportado más duramente las inclemencias del tiempo van dando la vuelta lentamente al conjunto. De esta manera volverán a encontrarse protegidos mientras los otros ocupan su lugar. Este sistema protector de rotación da como resultado que ninguno de los animales quede mucho tiempo desprotegido expuesto al frío y ello sin conflicto alguno (41).

Este comportamiento, al parecer innato, puede ser una prueba, sin indicativo, de que en estas especies de pájaros de las zonas frías se haga patente un comportamiento codificado que opere siempre en sentido protector para todo un colectivo, tal vez estimulado por una señal química, tipo feromona. ¿Será el sudor de los animales el portador de esa feromona que provoque el comportamiento rotacional protector de los animales del grupo?.

Aparte de las observaciones descritas acerca del comportamiento de ciertas aves atribuibles posiblemente a feromonas, se han llevado a cabo investigaciones a nivel celular, subcelular, enzimático y molecular sobre la función, producción e inducción de feromonas también en aves, especialmente de la subclase “*anseriforme*” (palmípedas). Trabajos relativamente recientes han mostrado efectos de conocidas hormonas (estradiol y tiroxina) sobre la producción e inducción de feromonas en pato salvaje, pato doméstico y ganso, animales en cuyas glándulas uropigiales se producen y segregan en cierta cantidad feromonas sexuales femeninas, cuya estructura química responde a diésteres de 3-Hidroxiácidos de 8, 10 y 12 átomos de carbono, constituyendo cierto tipo de cera. En patos salvajes se ha puesto de manifiesto la síntesis enzimática (en presencia de extractos de glándulas uropigiales) a partir del Acil-CoA, ATP y O<sub>2</sub> (95), así como la localización subcelular de las reacciones en los distintos compartimentos celulares, destacando de una forma especial los peroxisomas, donde tiene lugar la síntesis del 3-Hidroxiácido y su esterificación, y el retículo endoplásmico, donde se realiza la formación del monoéster del ácido. Hembras tratadas con estradiol en la estación no copulante experimentan grandes cambios en la formación de las ceras diésteres, que constituyen estas feromonas. Tiroxina adicional acelera dichos cambios (96).

También se ha observado que el mencionado tratamiento con estradiol o con una combinación de estradiol y tiroxina da por resultado la proliferación de peroxisomas y la síntesis de las citadas feromonas, tanto en

patos salvajes machos como hembras. Mediante clonación de genes se ha demostrado que uno corresponde a un alcohol deshidrogenasa, cuyo nivel aumenta unas siete veces en machos tratados, lo que sugiere que la enzima alcohol deshidrogenasa contribuye a la formación de los diésteres feromonales (97).

Así mismo en pato doméstico se ha estudiado el efecto del estradiol en la proliferación de peroxisomas y la formación de derivados de los mencionados 3-Hidroxiácidos, no encontrándose tal efecto inductor en el ganso. Aislados receptores activados gamma 1 de proliferadores de peroxisomas, se sugiere son estos los implicados en las respuestas proliferativas y no los gamma 2, que son los que intervienen en el metabolismo lipídico (98).

Estos datos revelan la participación de feromonas en aves, así como la implicación de influencias hormonales en su formación e inducción, sobre todo en lo que se refiere a feromonas sexuales. No cabe la menor duda de que operan otros tipos de feromonas, como las de agregación que explican el fenómeno de las migraciones, las de defensas, etc.

## **Mamíferos**

Aunque los organismos animales más estudiados en relación con el comportamiento inducido por feromonas han sido los insectos, los mamíferos, los organismos animales más evolucionados, también han sido objeto de observación en cuanto a la influencia que sobre ellos pueden ejercer indicadores químicos que influyan en diversas respuestas, tales como atracción sexual, marcajes territoriales, agresividad, solidaridad, defensa, así como expresiones maternas y paternas. Todo esto ha sido investigado en la medida de lo posible, teniendo en cuenta la dificultad que encierra el obtener resultados evidentes para deducir conclusiones que permitan establecer una perfecta relación causa efecto.

Ya al comienzo de esta disertación se ha indicado cómo un derivado de la androsterona en el cerdo doméstico macho (verraco) tenía propiedades atrayentes a distancia para las hembras de su especie. También se conoce desde hace más de 90 años que hay mamíferos que desprenden un olor característico (muscona y civetona) con funciones sexuales. Aunque no se conocen exactamente, mediante experimentos “in vivo” se puede asumir

que los mamíferos emplean compuestos solos o combinados con otras sustancias, para realizar diversas funciones como marcar los límites territoriales, contribuir a la defensa territorial y para identificar los sexos. Davidson y Levin, ya en 1972 (99) describían la influencia de la función endocrina en la regulación del comportamiento. Cada vez se presta mayor atención a la idea de que en interacciones hormona-comportamiento los cambios endocrinos son variables dependientes más que independientes. Los dos tipos de fenómenos más relevantes en este sentido comprenden: a) situaciones en las que están implicadas feromonas y b) las situaciones en que estímulos sexuales afectan a mecanismos hormonales esenciales para la fertilización y el éxito de la gestación.

Con respecto al primer aspecto, las feromonas, los primeros trabajos experimentales se realizaron en ratones, aunque en los últimos tiempos la investigación se ha extendido a otras especies como, el hámster, la rata, etc.

La importancia de estos fenómenos en los que participan feromonas se refleja en diferencias entre distintas especies en relación con la ablación de los bulbos olfatorios. En el hámster macho esta operación conduce a la eliminación completa del comportamiento sexual; sin embargo este efecto es bastante menor en las ratas (machos y hembras). En ratones hembras la bulbectomía olfatoria conduce a la desaparición del instinto maternal, teniendo como consecuencia el canibalismo.

El efecto Bruce, demostrado en el ratón de pradera (*Microtus pennsylvanicus*) establece que la preñez queda bloqueada por la presencia de un macho ajeno; sin embargo, no se puede demostrar claramente que este fenómeno sea sólo debido a feromonas. Este y otros efectos distintos en el comportamiento de ratones parecen debidos a que ciertas feromonas aumentan la secreción de estrógenos mediada por las gonadotropinas. Mayor evidencia de la influencia de la feromona del ratón macho, se obtiene con la facilitación de la ovulación en hembras inmaduras tratadas con PMS o HCG, sólo por la presencia (no el contacto) de ratones machos; este efecto se impide si a las hembras se les priva del órgano olfatorio. Es también admitido como mecanismo general del comportamiento del ratón hembra, el efecto Whitten que consiste en la facilitación y sincronización de la ovulación y del ciclo estral por la presencia del olor del macho. Experimentos análogos realizados en ratas abundan en la idea de la intervención de feromonas en los ciclos estrales por la presencia del macho

o por la exposición a la orina del macho que acelera el proceso de ovulación de la hembra. Estos y otros ejemplos indican la posible influencia de señales químicas, feromonas, que pueden desatar alteraciones en el ciclo sexual de las hembras, sustancias que al parecer se perciben por el olor que despiden los machos o las orinas tanto de machos como de hembras (durante el estro).

Se conocen algunos compuestos químicos responsables de la acción estimuladora de procesos sexuales fisiológicos (tales como ciclo estral, secreción de determinadas hormonas trópicas o sexuales, influencia sobre las funciones testiculares del macho, etc.). Así, se ha demostrado que el principio activo del verraco (orina) que permite la adopción de posturas de apareamiento puede ser el esteroide 5- $\alpha$ -androst-16-en-3-ona. La sustancia activa del atrayente sexual segregado por la glándula tarsal del macho del ciervo de cola negra se ha descrito como la lactona del cis-4-hidroxidodeca-6-enoico. Es de especial interés el aislamiento a partir de la secreción vaginal de la hembra del *Macacus rhesus* de una sustancia que estimula la copulación en el macho. Además en mamíferos se han encontrado feromonas que participan en otras funciones no sexuales o reproductivas. Se han descrito feromonas de antiagresión, así como otras encontradas en orina de ratones hembras que aumentan el comportamiento agresivo normal, sugiriéndose que es el clítoris la glándula productora.

Después de lo indicado acerca de la participación de las feromonas en determinadas etapas del comportamiento en mamíferos, es digno de mención, el hecho de que entre las presuntas feromonas, o los fenómenos atribuibles a feromonas previamente descritos, se pueden distinguir al menos dos tipos de feromonas que actúan con frecuencia en mamíferos (100), descritas previamente en las consideraciones generales de este estudio.

Feromonas de liberación (“releaser”), que permiten una respuesta inmediata y reversible directamente a través del sistema nervioso central, como por ejemplo, reconocimiento, o mediante canales de acción rápida neurohumoral, tal como el reflejo de la secreción láctea.

Feromonas cebadoras (“primer”) que permiten respuestas esteroceptivas en las que está implicado el lóbulo anterior de la hipófisis. Estas feromonas son de desarrollo lento y requieren una estimulación prolongada que inicia una cadena de acontecimiento fisiológicos en el individuo receptor.

Existe un tercer tipo de reacción que es denominado el fenómeno de “imprinting”, estimulación en un período crítico del desarrollo (o la ausencia de la estimulación apropiada) que puede tener como consecuencia una modificación permanente del comportamiento en el estado adulto. Este fenómeno, descubierto en 1935 por el naturalista austriaco Konrad Lorenz, uno de los padres de la etología, ejerce una influencia tal en los animales jóvenes que, llegada la edad adulta, se la considera innata.

No se sabe si esa estimulación obedece a una adaptación somática, a un aprendizaje de comportamiento y de imagen o a unas feromonas que de alguna manera particular influyen individualmente en su forma de actuar. De todas maneras, esa impronta ejercida sobre el comportamiento no es transmisible por herencia. No cabe duda que es un mecanismo de comunicación memorizada. ¿Conlleva esto una señal química? Eso de momento, es una incógnita.

La primera información crítica acerca de la influencia de feromonas del tipo de las liberadoras (de acción rápida) sobre el reconocimiento y comportamiento sexual fue descrita en 1952 por Le Magnen (101) que encontró que ratas adultas discriminaban entre sexos y también entre hembras receptivas y no receptivas. Esto se demostró posteriormente en ratones. Otra especie de mamífero, la gata, manifiesta comportamiento estral si se introduce en una jaula que haya sido recientemente ocupada por un macho, a no ser que la jaula haya sido lavada (102).

Ya se ha comentado ampliamente la participación del componente olfatorio en el comportamiento sexual de animales de granja. La cerda necesita el olor del macho para la culminación del acto sexual. El morueco distingue por el olor entre ovejas en celo y ovejas no receptivas.

Se podrían citar un conjunto de experimentos y observaciones realizadas con ovejas preñadas receptivas o no y la participación del órgano olfatorio en el comportamiento sexual pero también muchos autores abundan en la afirmación de la contribución también junto al olor, de la vista y el sonido, siendo en algunos casos la vista un factor prioritario en la culminación de la actividad sexual como ocurre en el garrón.

Así pues hay que admitir que las feromonas sexuales de mamíferos, que pueden producir machos, hembras o ambos, juegan un papel importante en el reconocimiento inicial de la pareja y en la integración del comportamiento entre los dos sexos. El paso preciso en la secuencia de

sucesos, denominado en conjunto “comportamiento sexual”, en que interviene la feromona puede ser diferente para las distintas especies. Entre las feromonas de mamíferos hasta ahora conocidas las feromonas sexuales masculinas parece que su función principal es afrodisíaca para la hembra, mientras que las feromonas femeninas sirven para la identificación del estado sexual (el celo en las hembras) por los machos.

En otro orden de cosas se deben citar las feromonas implicadas en otras actitudes distintas a las sexuales, como puede ser el comportamiento agresivo.

Aunque existe mucho debate a este respecto, hay sin embargo cierta evidencia convincente de que la conocida agresividad de los machos adultos de ratones es consecuencia de señales olfatorias solamente. La información olfatoria se encuentra en la orina y la agresión es inducida en los machos de la familia que vive en armonía, cuando se presenta un miembro con orina extraña. La agresión se demora hasta que la percepción del olor normal, además de olor no familiar, permite el reconocimiento mutuo como extraños. También se han descrito dos feromonas olfatorias para el comportamiento agresivo: a) un factor urinario que corresponde a un olor de grupo y b) un factor “plantar” producido por la planta del pie, que caracteriza a cada individuo dentro del grupo. Se llega a admitir la teoría de Parkes (103) de que en la conducta agresiva se halla “Ciertamente implicado un espectro de olores, variando ligeramente en diferentes individuos de la misma raza, y sustancialmente entre las distintas razas”.

Para concluir hay que reconocer que pueden darse muchos ejemplos unos conocidos y otros no, como marcado de territorio, de lugar, reconocimiento del estado, existiendo muchos otros casos que deben ser identificados.

Con respecto a las feromonas cebadoras que no ejercen influencia directamente sobre el comportamiento, sino a través de procesos fisiológicos, como puede ser el ciclo estral de las hembras, se han encontrado casos en la mayor parte de los mamíferos. En animales domésticos en la época de reproducción, por ejemplo, ovejas y cabras, fue donde se observó por primera vez el efecto esteroceptivo. En las dos especies la introducción de un macho poco antes del comienzo de la época del celo estimula la ovulación y eleva la temperatura de las hembras desapareciendo repentinamente la falta de estro. La influencia del olor del

macho refuerza los estímulos de otros factores ambientales, dando por resultado un estado cíclico para las hembras.

Pero, sobre todo, donde más se ha experimentado ha sido en el ratón común, *Mus musculus*. En la hembra de este animal el ciclo estral es muy sensible a las condiciones ambientales, siendo fácilmente modificado por estímulos olfatorios tanto de machos como de hembras. La hembra aislada tiene un ciclo de 5 a 6 días, siendo comunes ciertas irregularidades y en algunos casos ocurriendo falsa preñez. Cuando están en comunidad de sólo hembras se presenta una mutua supresión del estro; este ciclo es rápidamente reemplazado por una falsa preñez si los grupos son pequeños o por períodos de anestro si los grupos son grandes. Sea cual sea la historia de las hembras, la introducción de un macho tiene un efecto inmediato. Se restablece el ciclo estral normal completamente sincronizado. Estas reacciones conducen al apareamiento al tercer día. Este efecto es transitorio para un solo ciclo, debiendo ser renovado el estímulo para cada ciclo. También hay que añadir que tanto el ratón salvaje como el ratón venado exhiben el mismo comportamiento frente a feromonas olfatorias del macho, que el encontrado en los ratones de laboratorio.

Estos efectos, como se ha enunciado previamente, se han denominado efecto Witten, en honor a su descubridor, efectos que han sido demostrados en ovejas y cabras pero solamente en el comienzo de la estación reproductiva. En otras especies se han observado tales efectos con algunas variantes, pudiéndose concluir que el control del estro por feromonas sexuales masculinas es un fenómeno generalizado y se manifiesta en muchas especies de mamíferos aunque con diferentes patrones de reproducción.

También se ha estudiado el efecto de estas feromonas en animales durante la gestación, sobre todo en los cuatro primeros días siguientes al apareamiento. Se ha observado que durante ese período crítico la intervención de un macho extraño (pero no el macho del apareamiento) pueden causar la interrupción de la gestación, recuperando la hembra el ciclo estral. Este fenómeno obedece a un efecto olfatorio debido a la percepción por la hembra de la feromona del macho. Se conoce como efecto Bruce, como se ha indicado antes, aunque hay que señalar que la preñez queda protegida después de la implantación.

Por otra parte, el mencionado efecto Bruce sólo se ha encontrado en *Peromyscus* y en *Microtus*, además de los ratones de laboratorio pero no en animales de granja como ovejas o cabras. En relación con la gestación descrita, se ha investigado la base endocrina del bloqueo de la gestación. Este bloqueo refleja un fallo en la implantación, que a su vez procede de un fallo de la actividad luteotrópica que es de esperar después de la cópula. Distintos tratamientos durante el apareamiento (prolactina, concepción postpartum en presencia de las crías amamantadas y la presencia de errores pituitarios ectópicos) constituyen una protección de la gestación como fuentes suplementarias de prolactina, ya sea de origen exógeno como endógeno. También se conoce que interviene en estos procesos la influencia de la función hipotalámica. Aunque todavía no se ha esclarecido el lugar de producción de la feromona sexual masculina, que está bajo el control de las gónadas, se sabe que la fuente es la vejiga de la orina, independientemente de cualquier secreción de alguna glándula accesoria. Por tanto hay que admitir que las feromonas sexuales en mamíferos tienen un origen diferente y una identidad diferente a las de las feromonas de agresión. Volviendo al caso ya citado de la impronta (“imprinting”), resultante de una inadecuación ambiental durante el desarrollo, hay que indicar que en primates jóvenes se ha estudiado, en relación con este fenómeno, el efecto del aislamiento. Sin embargo, la influencia de un ambiente ligado a procesos olfatorios en mamíferos jóvenes inmediatamente después del nacimiento ha sido menos estudiada. No obstante existen casos de ratones y ratas cuyo comportamiento en estado adulto puede ser modificado mediante efectos olfatorios durante el período de lactancia. Ratones hembras criados en ausencia del padre muestran una falta de discriminación en la selección sexual cuando llegan al estado adulto; la misma deficiencia presentan cuando se altera artificialmente la atmósfera olorosa de su madriguera mediante pulverizaciones de los padres cada día con determinados perfumes. Experimentos con ratas también revelan modificaciones en el comportamiento social cuando son tratadas con perfume de rosas durante las cuatro semanas siguientes al nacimiento. Como se ha indicado previamente, si esto es un fenómeno relacionado con feromonas, (ausencia o enmascaramiento) debe ser investigado y demostrado.

En primates, (no humanos) también se han realizado observaciones en condiciones naturales, lo que excluye tratamientos experimentales y

forzosamente controlados. En general se admite que en estos animales el olfato juega un papel mínimo en la vida diaria. Sin embargo, hallazgos más recientes muestran evidencias de que en los primates no humanos más evolucionados las feromonas olfatorias pueden controlar algunos aspectos de la actividad reproductora. En *Macacus rhesus* y en chimpancé se ha demostrado esta influencia de la feromonas. Pero no parece ser así en primates inferiores; en experimentos en cautividad del lemur (*Lemur catta*) se ha encontrado que su comportamiento de integración social depende de una completa serie de respuestas con factores olfatorios distintos. Es interesante la conclusión a la que llegan los autores de estas observaciones (104) afirmando que esta especie posee un repertorio olfatorio cuya complejidad compite con los sistemas visuales y acústicos más sofisticados de los primates de cerebro más desarrollado.

Finalmente, se puede citar como miscelánea un conjunto de observaciones y experiencias realizadas en distintas especies de mamíferos no primates, que ilustran y abundan en la gran difusión de feromonas distintas que operan en los procesos de comportamiento y fisiológicos de la actividad vital de los animales. Así pues podemos enunciar de una forma global diversos datos referentes a especies animales más estudiadas.

Volviendo al ratón (casero, de campo y salvaje) se pueden citar algunos ejemplos tales como la maduración sexual inducida por feromona, que resulta regulada por el ambiente social del macho, circunstancia que puede influir en la fertilidad de las hembras al alterarse la actividad de la feromona urinaria masculina. Esto podría ser un caso de “impronta” (“imprinting”) ya referido. En ratón de campo se ha encontrado que la orina del macho cambia la concentración de la hormona liberadora de la hormona luteinizante (LHRH) y de la noradrenalina en el bulbo olfatorio de las hembras lo que sugiere que, en estas especies, dichas hormonas actúan en el bulbo olfatorio mediando la liberación de la hormona luteinizante como respuesta a indicadores químicos externos de naturaleza feromonal; este sería un caso de feromonas cebadoras. También en ratones se ha observado cómo feromonas influyen tanto en la aceleración como en la inhibición de la pubertad. Por otra parte, en ratas jóvenes se ha observado que controlan la liberación de una feromona maternal. En otra especie animal, el hámster, se ha encontrado que en la secreción vaginal existe una feromona atrayente sexual identificada como el dimetilsulfuro. Siguiendo en la escala zoológica,

en la secreción vaginal de la perra se ha encontrado una feromona sexual, el metil-parahidroxibenzoato, que excita el apareamiento del macho. En perros también se han investigado glándulas anales que segregan feromonas. Por último, resulta interesante señalar que entre las feromonas de mamíferos merecen especial atención los esteroides olorosos del verraco, que también se presentan en humanos y en las trufas, hongo basidiomiceto (*Pompholyx sapidum*) muy frecuente en las praderas, usado como condimento alimentario en varios países y, hacia el cual se sienten muy atraídos los cerdos, que se utilizan para su búsqueda. Ello puede interpretarse en relación con los esteroides olorosos mencionados, que actúan como feromonas.

Referente a la composición química de algunas feromonas en mamíferos (105) se puede decir que poco se ha estudiado después de las investigaciones iniciales de Ruzicka, en 1926, acerca de la civetona y la muscona. Se han encontrado ácidos grasos de bajo peso molecular en las secreciones anales del zorro rojo, y en la secreción vaginal del *Macacus rhesus*. En diversas especies animales se han encontrado sustancias de función estimulante de tipo feromonal y así, se han identificado el ácido butírico, el ácido valérico; derivado metílico del tetradecanol y mezcla de ésteres de estos alcoholes. El ácido fenilacético se ha identificado como la feromona olorosa ventral del gerbo de Mongolia. Compuestos análogos a la civetona se han encontrado en la rata almizclera. Homólogos de la civetona original se han encontrado en ciertos gatos. En el castor canadiense se ha aislado la castoramina, una amina terciaria cíclica, con una función alcohólica y un sustituyente furfural. La muscopiridina se ha aislado del ciervo almizclero. De la glándula de la hiena se ha obtenido el compuesto 5-tiometil-2,3-pentadiona. En resumen se podría citar un grupo de sustancias que actúan como feromonas de diversas funciones y que se han identificado y caracterizado en mamíferos.

### **El ser humano**

En el apartado anterior se ha citado de pasada algún compuesto con acción feromonal de tipo sexual, como el encontrado en la secreción vaginal de la mujer. Ya en 1952 el biólogo francés Le Magnen (101) comunicó que el olor del exaltólido, la lactona sintética del 14-hidroxitetradecanoico, es

percibida claramente por mujeres de edad madura, y más especialmente en los momentos de la ovulación. Hombres y mujeres jóvenes resultaban relativamente insensibles, pero un hombre joven se hacía más sensible después de una inyección de estrógeno. El exaltólido se usa comercialmente como fijador de perfumes. Le Magnen también describió la capacidad del mencionado joven para detectar el olor de ciertos esteroides, a la vez que percibía el olor del exaltólido. Aunque estas observaciones difícilmente representan un caso de la existencia de feromonas humanas se podría sugerir que debieran estudiarse las relaciones entre la percepción de olores y la fisiología humana. Por otra parte Bruce (100) al tratar el tema de feromonas en mamíferos hace una observación muy acertada, indicando que en el hombre los sentidos de la vista y del oído tienen mucha más significación que el sentido del olfato en la valoración del medio ambiente; por el contrario, en el resto de los mamíferos la vida diaria está fuertemente determinada por el olfato. Estas consideraciones hacen más difícil poder investigar en el ser humano los fenómenos que pueden estar condicionados por comunicación química, como pueden ser los efectos de ciertas feromonas. El hombre con su capacidad cognitiva, con su raciocinio, puede enmascarar efectos de sustancias sobre su comportamiento, pudiendo alterarlas o falsearlas. En una palabra, las tres facultades del alma, memoria, entendimiento y voluntad pueden contrariar, tergiversar e incluso acrecentar los efectos de los mensajes químicos que llevan implícitos las feromonas. Sin embargo, tampoco se puede admitir por las mencionadas consideraciones que en el ser humano, hombre y mujer, no operen comunicaciones por compuestos químicos que se transmiten a distancia procedentes de otras personas, sin que tengan que intervenir la vista o el oído. La posibilidad de que existan feromonas funcionales humanas ha sido por un lado aceptada y por otro negada, pero sin tener suficiente apoyo experimental.

Experimentos de sincronización del ciclo menstrual en mujeres jóvenes residentes en una misma habitación sugiere la probabilidad de efectos feromonales en humanos y hace obligatorio la realización de experimentos encaminados a esclarecer el fenómeno.

Esto resulta importante para poder conocer si existen controles de supuestas feromonas que actúen como cebadoras de ciclos endocrinos humanos y de la reproducción en general. Si esto existe puede pensarse en

una especialidad de la farmacología de la reproducción en un tiempo en el que difícilmente se consideraba necesario. Si se comparan con los medicamentos, las feromonas resultan sorprendentemente económicas en la cantidad, ya que muchas actúan más bien a nivel de moléculas, como se ha indicado repetidas veces, en contraste con cantidades de miligramos como ocurre con los fármacos. Más aun, el estudio de efectos liberadores (como feromonas de acción rápida, inmediata) podría aclarar un campo de la biología humana, especialmente la del desarrollo biológico, que hasta ahora ha sido más bien sospechada que elucidada. Las “huellas dactilares” del olor y la cromatografía de gases, técnicas actualmente usuales, pueden hacer posible la detección y preparación de sustancias con funciones de feromonas, si existen (106). Efectos de olores como feromonas liberadoras han sido encontrados a través de experiencias realizadas en humanos, observándose una gran riqueza de comportamiento olfatossexual. Estos efectos en el ser humano tienden a ser más variables que en mamíferos inferiores a causa de la gran variedad de sistemas señalizadores humanos y a la magnitud de la dependencia del comportamiento aprendido o condicionado, que es tal que ni siquiera el objeto sexual humano está fijado de una forma irrevocable. La gran variación individual observada en el conocimiento consciente olfatorio es casi con toda certeza en parte genética, pero los psicoanalistas han sugerido y documentado la posibilidad de un papel especial del olor en el desarrollo psicosexual infantil. De acuerdo con esto, la atracción al olor del padre del sexo opuesto y la repulsión como amenaza del olor del padre del mismo sexo actúa como el agente biológico que desencadena el complejo de Edipo, una idea de máximo interés biológico. Esto como indica Comfort (106) representaría un caso intermedio entre el efecto liberador de las feromonas y el efecto cebador y posiblemente un órgano temporal programado. Se ha indicado que el hombre es tan macrosmático (con gran sentido del olfato) como el perro, pero reprime la capacidad en la vida adulta por razones psicosexuales. Sin aceptar este punto de vista, se puede admitir que alguna parte de la respuesta olfato sexual puede estar confinada a la adolescencia y la infancia y posteriormente puede experimentar un giro o sufrir una alteración, ya por un proceso de represión o, como en otros mamíferos, por la llegada del estado sexual hormonal adulto, siendo la respuesta feromonal adulta ya dependiente de andrógenos o estrógenos.

En conclusión hay que aceptar que la complejidad del desarrollo psicosexual humano es probable que produzca efectos en el estado adulto no observados en otros mamíferos.

Los efectos feromonaes en humanos adultos, referentes a olores, están englobados en el comportamiento sexual y son atrayentes ligados a sistemas de señales más familiares, con frecuencia superados por la experiencia individual, aunque todavía sirviendo para la sincronización de la ovulación en su momento (en el caso de la mujer).

Además de la atracción hombre-mujer, o la vinculación durante la gestación, los efectos pueden incluir posiblemente según el modelo de los mamíferos, dominancia del macho u hostilidad. Una amplia comunicación por el olor del estado de ánimo no se ha confirmado en otros mamíferos y es difícil de separar de otros indicadores subliminales humanos. El interés en profundizar en el efecto cebador más tangible de las supuestas feromonas que actúan en el ser humano se basa en los siguientes argumentos, según destaca muy acertadamente Comfort (106):

- a) Los efectos feromonaes cebadores (a largo plazo y mediando sistemas endocrinos) son prácticamente universales en mamíferos sociales incluidos los primates.
- b) Feromonas liberadoras (de acción rápida y responsables de una respuesta inmediata de comportamiento) existen en el ser humano y algunas son las mismas que actúan en otros mamíferos (almizcle, muscona, civetona). Estas feromonas no son tan simples en su acción, ya que pueden combinar también efectos cebadores. Pueden producirse efectos directos sobre el comportamiento, tales como marcado de territorio, establecer dominancia, repulsión de los rivales, atracción sexual y también efectos sobre procesos endocrinos como la sincronización del ciclo estral.
- c) En mamíferos, al contrario que en insectos, la especificidad funcional y de especie no parece depender de una gran multiplicidad de sustancias. Reacciones cruzadas son comunes, tales como la respuesta de los humanos al almizcle; la respuesta de los toros, las cabras y los monos al olor de la mujer; también se puede citar la superación de barreras interespecíficas mediante la concentración de determinados efectores, etc.

- d) Los humanos tienen una completa serie de órganos que se han considerado como no funcionales, pero que observados en otros mamíferos podrían ser reconocidos como parte de un sistema feromonal. Estos incluyen glándulas apocrinas asociadas a mechones de pelos, algunas de las cuales no producen sudor pero pueden realizar algunas funciones secretoras; la producción de esmegma por los órganos genitales, etc. Es interesante que este sistema en adultos parece muy difundido, debido tal vez al relativamente pequeño papel liberador del olor en muchas culturas. La amputación de estas estructuras conocidas como mediadoras de feromonas en muchas sociedades humanas, implica una conciencia intuitiva de que su función sexual va más allá de lo puramente decorativo.

En cuanto a los patrones de respuestas a las feromonas se han descrito muchísimos casos, de los cuales sólo se pueden citar algunos. Hay que hacer hincapié en que la naturaleza y función de tales posibles comunicaciones pueden ser deducidas de los modelos en mamíferos con el fin de indicar los tipos de efectos cebadores que se pueden esperar en humanos. En principio es conocido que la mujer tiene una mayor sensibilidad olfatoria hacia la mayor parte de los olores de mamíferos, sensibilidad que es estrógeno-dependiente y en el caso del exaltólido, cíclica. Así pues las mujeres detectan y reaccionan al olor del verraco en la carne de cerdo más fácilmente que los hombres; la sustancia que detectan es la  $\alpha$ -androst-16-en-3-ona. Un fenómeno similar ocurre en la orina humana masculina y en la femenina durante la fase luteinizante. Puesto que el comportamiento sexual masculino no es cíclico ni dependiente de la receptividad femenina, la influencia de la mujer sobre el hombre puede ser muy bien de tipo liberador (acción rápida) salvo excepciones, y relativamente inespecífico. El olor liberado por la mujer resulta aumentado en la época infértil, fenómeno que no está del todo esclarecido. Los efectos cebadores más ciertos serían los de mujer-mujer o hombre-mujer. En el caso del efecto hombre-mujer, habría que admitir una certeza virtual, siendo la explicación más probable, según datos obtenidos en mamíferos no humanos, la aceleración de la pubertad. Un efecto hombre-hombre no puede ser descartado. La forma más probable de expresarse es la agresividad o la sumisión, pero la aversión hacia olores extraños parece ser reversible, por ejemplo en homosexuales.

Entre las sustancias químicas con efectos feromonales en humanos, se conoce bastante menos que las que se han descrito en insectos. Los nuevos candidatos con funciones de feromonas son unos seleccionados por el hombre y usados como perfumes (muscona, civetona, castoramina y compuestos sintéticos como el exaltólido). Otros son derivados de esteroides y observados incidentalmente, tales como la sustancia olorosa del verraco y unos pocos casos especiales como la lactona del cis-4-hidroxidodeca-6-enoico de la glándula tarsal del ciervo y el ácido valérico y la nepentalactona, que provocan respuestas en ciertas razas de gato. Entre estos compuestos químicos unos actúan como feromonas liberadoras y otras con acción cebadora. En el hombre sustancias de olor de almizcle pueden ser de naturaleza esteroide, cetonas cíclicas de elevado número de átomos de carbono y lactonas. El papel de ciertos ácidos y lactonas de 6,8 y 10 átomos de carbono es de momento desconocido, pero al igual que los componentes accesorios del sudor, del esmegma y del olor del verraco, todos ellos tienen que ver con alguna función específica y detallada. En cuanto a las sustancias olorosas con función feromonal, las “huellas dactilares” o “fingerprints” de estos productos parecen ser desde el punto de vista de su composición más prometedoras que la química clásica. Algunos almizcles conocidos pueden ser marcadores iniciales: el olor a almizcle de la orina humana parece ser debido al precursor alcohólico (-3-ol) del olor del verraco, y también casi todos las  $-5\alpha$  y  $-5\beta$  androsteronas; también la progesterona tiene olor a almizcle. Ya se ha indicado anteriormente el origen de ciertas feromonas en humanos. Se ha descrito que muchas feromonas parecen ser urinarias.

Los vehículos más probables de feromonas en humanos son la piel, en la que se incluyen las glándulas apocrinas axilares y púbicas, mechones de pelo y el esmegma.

El esmegma masculino contiene un gran número de fijadores, entre los que se pueden nombrar escualeno y ésteres del  $\beta$ -colestanol, así como otros esteroides no caracterizados aun. También hay que señalar que algunos odorantes pueden ser secretados directamente y otros fijados de la orina. Ciertas drogas olorosas, como por ejemplo la feniletildrazina, son rápidamente detectables en el olor genital humano masculino. Las glándulas apocrinas contribuyen al olor total del cuerpo, pero una feromona del esmegma se supone que podría ser análoga a la sustancia de respuesta de la polilla macho. Olores fijados de una persona de la pareja pueden tener un

“efecto rebote”, como en el marcaje de la descendencia. Los componentes de la sustancia olorosa genital de la mujer han sido estudiados por cromatografía, también en relación con la eliminación de los olores bacterianos, ya que se ha sugerido que la acción bacteriana es capaz de convertir compuestos segregados por ciertas glándulas en componentes al estado activo, siendo probable la posibilidad contraria.

Finalmente, no se debe pasar por alto el importante papel que ejerce la secreción axilar humana, sobre todo a nivel de feromonas sociales, posiblemente debido a la postura erguida y erecta del ser humano. Esteroides olorosos tales como la progesterona son rápidamente transferidos por la mujer gestante generalmente por medio del sudor y a este respecto las grandes glándulas apocrinas humanas pueden ser centro de tales funciones.

Los mechones de pelo probablemente sirven como difusores de olor, como en el ciervo, y pueden albergar bacterias activadoras. En estas secreciones están probablemente envueltas muchas sustancias entre las que se encuentran ácidos grasos de largas cadenas y lactonas. Los ácidos caproico, caprílico y cáprico deben su nombre al olor hircino (caprino) característico; el sudor humano puede desprender también olor a cumarona.

Respecto a cómo realizan su efecto, se puede proponer un modelo de acción de las feromonas humanas. Las sustancias responsables de la acción feromonal están probablemente presentes en el sudor apocrino y en el esmegma. Entre ellas, como se ha indicado ya, se encuentran esteroides olorosos, cetonas de grandes cadenas alicíclicas y otras sustancias de olor tipo almizcle. Olores accesorios probablemente confieren especificidad de comportamiento más bien que una acción fisiológica directa. Efectos cebadores de feromonas son más probables en mujeres; efectos mujeres sobre hombres prácticamente están limitados a atracción, erección etc.. y de hombres sobre mujeres, dominancia, y atracción (vinculación). En líneas generales se puede hablar en forma resumida de un “efecto rebote” (“playback”) del olor fijado procedente de un miembro receptivo de la pareja, y reforzamiento de la acción, por citar casos de impronta por olores en las relaciones padres-hijos o hijos-padres, que después llevan a represiones o modificaciones. Finalmente, hay que admitir que efectos liberadores y cebadores de posibles feromonas en humanos pueden depender de los mismos materiales, pudiendo incluir sustancias fijadas

procedentes de orina, semen o secreciones sexuales del otro sexo por el esmegma.

En relación con los olores se ha estudiado la intensidad y la atractividad de dichos olores procedentes de la secreción vaginal durante diversas fases del ciclo menstrual de mujeres. En las etapas preovulatoria y ovulatoria el olor era ligeramente más débil y menos aceptable que en las etapas menstrual, luteal temprana y luteal final (107). Todo esto indica que las fases del ciclo menstrual comportan secreciones de composición cuantitativa y quizá cualitativa de sustancias químicas olorosas tal vez con características de feromonas. También se han estudiado diversos factores que pueden influir sobre el sincronismo menstrual de grupos de mujeres reunidas en distintas condiciones y circunstancias (108), con el fin de dilucidar si este sincronismo puede obedecer a un efecto de feromonas o simplemente ser un efecto del medio ambiente. También en relación con el olor y su influencia en la reproducción humana, se ha observado que feromonas masculinas (androsteno/androsterona) del sudor ejercen un impacto directo sobre el ciclo menstrual y la ovulación de la mujer. Por otra parte, feromonas de secreciones vaginales de la mujer (copulinas) influyen en la percepción de la mujer por parte del hombre (109). Más aun, se ha estudiado la influencia de feromonas en el comportamiento sociosexual de los varones (110).

Se ha comentado ya en líneas anteriores la importancia de la operatividad de feromonas en mamíferos de diferentes especies. En mamíferos se ha tratado de un órgano especializado muy relacionado con el órgano olfatorio, que es el órgano vomeronasal (VNO) que también se ha encontrado en reptiles y aves en unas especies más desarrollado, en otras menos.

Hasta hace pocos años el órgano vomeronasal (VNO) humano se creía atrofiado en adultos (111). Sin embargo, un órgano vomeronasal claramente identificable ha sido encontrado próximo a la base del septo nasal. Unos primeros ensayos con compuestos químicos procedentes de la piel de humanos adultos que se aplicaron al citado órgano vomeronasal permitieron observar ciertos cambios en el sistema nervioso autónomo y en la periodicidad de la FSH (hormona estimulante del folículo) y de la hormona luteinizante (LH), de la glándula pituitaria (112, 113). Estos resultados indican que existe un eje potencialmente funcional (VNO-

hipotálamo-pituitaria-gónadas). Pero Weller (111) plantea la pregunta acerca de si es posible que el ser humano use actualmente este sistema para procesar y responder a las señales químicas emitidas por otros humanos. Se conoce, y se ha indicado ya, que los humanos, al igual que otros animales, liberan olores de muchas partes de su cuerpo. El olor personal lo constituyen secreciones de varios tipos de glándulas de la piel, la mayor parte concentrada en el área axilar. La composición bioquímica de estas secreciones, que conllevan el olor individual resultante, depende de influencias genéticas, hormonales, metabólicas, dietarias, psicológicas, sociales y ambientales. No se sabe si las señales olfatorias de las secreciones de un individuo se perciben conscientemente por otro, siendo procesado por el sistema olfatorio principal, o si una porción de las señales son feromonas que se procesan tal vez inconscientemente a través del sistema olfatorio accesorio. En renglones anteriores se habla de olores liberados por determinadas glándulas secretoras, pero aquí surge también la duda o la pregunta siguiente: Las moléculas que se detectan a través del sistema olfatorio accesorio ¿son realmente olorosas o son inodoras? ¿Es condición necesaria que las moléculas activas, feromonas, sean olorosas? Wéller en su excelente artículo "Communication through body odour" resalta la importancia del órgano vomeronasal (VNO) humano en la percepción inconsciente de sustancias químicas, que a través del bulbo olfatorio accesorio y otras regiones del cerebro (incluyendo la parte anterior del hipotálamo) controlan el sistema neuroendocrino responsable del comportamiento y de otros aspectos fisiológicos reproductivos (111). Por otra parte indica que la ruta VNO-cerebro constituye un sistema accesorio olfatorio (¿se puede llamar olfatorio?) diferente del sistema olfatorio principal, cuyos receptores están en el epitelio olfatorio de la nariz. Se puede añadir aquí en relación con lo expuesto, que las verdaderas feromonas descritas en el hombre y en otros vertebrados, que operan a través del órgano vomeronasal, no tienen necesariamente que ser olorosas, en el sentido que todos conocemos, es decir, como sustancia de sensación agradable o desagradable. Puede ocurrir que una sustancia olorosa en el sentido ordinario pueda no serlo y no ser efectiva para otros receptores. Según Weller puede que las secreciones de carácter oloroso estén integradas por sustancias inodoras, en el sentido ordinario ya mencionado, que son las

que son detectadas inconscientemente por los bulbos olfatorios accesorios de VNO.

Se ha descrito cómo una madre puede identificar el olor de su hijo recién nacido o de más edad, olfateando una camisa que ha usado, distinguiéndola de la camisa que usaba otro niño de la misma edad. Al contrario, los bebés prefieren los pechos y las zonas axilares de su propia madre a las mismas zonas de madres no biológicas. Más aun, los niños discriminan y prefieren el olor de su propia madre y diferencian también otros olores de otra piel (hermanos y sobrinos).

No cabe duda por tanto, de que los olores pueden proporcionar información identificadora en los seres humanos. Pero surge la pregunta de si estos olores operan como feromonas liberadoras de acción rápida o cebadora de acción lenta. Más concretamente ¿Las señales químicas de una persona pueden ser detectadas por otra sin tener experiencia consciente de que se trata de un olor?. Y aun más, ¿Pueden estas señales químicas tener efectos inmediatos o lentos sobre los sistemas neuroendocrinos reproductivos de otras personas?.

Por otra parte los trabajos de McClintock (114) hace casi treinta años pusieron de manifiesto que mujeres que comparten la misma habitación o amigas que viven muy próximas tienden a converger en el tiempo correspondiente al ciclo menstrual. Esto sugiere que algún factor relacionado con la proximidad social e interacción puede cambiar la medida del tiempo del reloj biológico en el cerebro en lo que respecta a ovulación y ciclo menstrual. Como indica la autora de estas observaciones resulta muy difícil la explicación de este fenómeno de sincronismo menstrual; se ha considerado como evidencia de efecto de feromonas (cebadoras) en humanos; sin embargo no parece muy acertado, puesto que se desconoce el modo de comunicación entre las mujeres que convergían en el mencionado sincronismo.

También se ha apuntado que aunque la olfacción del VNO, ha sido propuesto como el candidato más probable, es muy posible que el sincronismo menstrual, ya mencionado, sea mediado por señales visuales o auditivas, a través de actividades sociales mutuas, programas o planes diarios similares o exposición a estímulos muy análogos o parecidos.

Trabajos posteriores de Stern y McClintock (115) apoyan la generalidad de un modelo operativo que puede explicar el sincronismo

menstrual ya indicado (114), modelo que abarca tres niveles de organización: el grupo, el individuo y el componente neuroendocrino; y depende de dos hipotéticas feromonas, una que retrasa y otra que adelanta la fase del sistema del ovario.

Stern y McClintock (115) recogieron secreciones olorosas coporales de una mujer (donadora) empapándolas en compresas de algodón. Las compresas se restregaban por encima del labio superior (debajo de la nariz) de otras mujeres (receptoras) a las que se les rogó que no se lavaran la cara en las seis horas siguientes al tratamiento. Este procedimiento se repetía diariamente a lo largo de dos ciclos menstruales sucesivos. Las autoras encontraron que los relojes biológicos de las receptoras quedaron afectados; el tiempo de su ovulación y menstruación fueron sistemáticamente cambiados. Concretamente, olores axilares de mujeres en fase folicular del ciclo menstrual, reducían el tiempo de la fase folicular (aceleración y adelantado de la ovulación) y por tanto disminuyendo la duración total del ciclo menstrual de las mujeres que fueron tratadas recibiendo, vía nasal, las secreciones axilares antes indicadas. Sin embargo los olores percibidos de mujeres donantes que estaban ovulando provocaban un retraso en la ovulación (aumentado la duración de la fase folicular) y la duración total del ciclo menstrual de las mujeres receptoras. En estos experimentos las autoras demuestran, como se ha indicado antes, que en el ciclo menstrual (que como es conocido consta de tres fases: menstrual, folicular y luteal u ovulatoria, (cada una controlada por diferentes mecanismos endocrinos) la fase folicular es la que resulta afectada por los efectos de las secreciones axilares externas de otras mujeres en distintas fases (folicular o luteal), siendo fija la duración de las fases previas (menstrual) o posteriores (luteal u ovulatoria) respectivamente. Para determinar los mecanismos específicos de acción de la feromona, las autoras determinaron en orina los niveles de LH y de progesterona a fin de verificar el tiempo exacto de la ovulación. Estos experimentos demuestran elocuentemente la intervención de feromonas que median en el ciclo menstrual de la mujer, y también confirman el modelo oscilador acoplado del sincronismo menstrual y vuelven a prestar atención a las feromonas dependientes del ovario que regulan la ovulación, produciendo sincronismo, asincronismo o estabilización del ciclo dentro de un grupo social; es decir, dos feromonas distintas, producidas en diferentes

momentos el ciclo, una que adelanta y otra que retrasa la secreción de la hormona preovulatoria LH.

Según estos experimentos se demuestra de una manera científica que unos productos segregados por unas glándulas axilares apocrinas pueden modificar fenómenos tan importantes como el ciclo menstrual de la mujer. Según las autoras no se puede asegurar en estos experimentos si el fenómeno está limitado a la modulación del tiempo de la ovulación en mujeres jóvenes y sanas o es capaz de modular la ovulación en unas poblaciones diversas para fines contraceptivos o para tratamiento de la infertilidad. Por otra parte, experimentos con animales de experimentación (ratas) demuestran que pueden producirse otras consecuencias de las feromonas de las que hablamos que son dependientes del ovario. Estas feromonas pueden tener efectos cualitativos diferentes según las condiciones iniciales bajo las cuales comienza la interacción social y feromonal así como el momento de la vida sexual en que actúan; tales interacciones sociales en que intervienen feromonas dependientes del ovario, pueden afectar a la edad de la pubertad, intervalos entre nacimientos, edad de la menopausia y nivel de exposición crónica a estrógenos durante la vida de las mujeres.

No cabe duda, según estos datos, de que el ser humano tiene la potencialidad de comunicarse a través de mensajes químicos, las feromonas, esas telemoléculas o moléculas de mando a distancia. Según las autoras “en otras especies hay muchos más tipos de feromonas, no dependientes de la función ovárica, que capacitan a los individuos para regular diversos aspectos de sus estados neuroendocrinos internos sobre la base de otros estados internos o del medio ambiente”. Por ejemplo, feromonas que influyen en las preferencias del apareamiento en el hámster; relaciones de dominancia entre elefantes; tiempo del destete en ratas, y cómo las crías de ratas aprenden a distinguir entre alimentos y venenos; cómo los hámster reconocen a los individuos de su grupo social; también el nivel de estrés experimentado por ratones en un nuevo ambiente, sobre la base del estado emocional de sus ocupantes. Se necesitan estudios más profundos y bien controlados sobre humanos para establecer si existen otros tipos de feromonas, con efectos en humanos análogos a los que ocurren en otras especies.

Los últimos trabajos de los autores referidos, Weller de la Bar-Ilan University (Israel) y Stern y McClintock (Universidad de Chicago),

mencionan feromonas dependientes del ovario, que se producen según las fases del ciclo menstrual de la mujer. El primero de los autores mencionados habla de comunicación en humanos a través del olor. Los segundos (autoras) hablan de las secreciones axilares de las glándulas apocrinas, que influyen según la fase menstrual de la mujer, en otras mujeres (receptoras) alterando la duración de su ciclo. Los experimentos que realizan para probar la existencia real de la acción feromonal en humanos (en este caso mujeres y dependiente de la fase cíclica del ovario) los realizan en unas condiciones que no aseguran que esas sustancias segregadas por las glándulas apocrinas de las axilas tengan que ser necesariamente olorosas, es decir, en cierto modo volátiles.

Habida cuenta de que, como se ha descrito en reptiles, estos animales perciben feromonas de la piel, a través de un contacto directo lingual con el estímulo químico para un exacto seguimiento de la huella, lo que hace pensar que a través del sistema vomeronasal perciban otras feromonas, probablemente inodoras, no volátiles, que completan la captura de la presa, es también posible que en el ser humano sean operativas sustancias “olorosas” de las axilas de mujeres producidas en una determinada fase del ciclo del ovario y que tienen que entrar en contacto físico directo, como se desprende del método aplicado para los tratamientos y de la afirmación de las mujeres receptoras de que en estos estímulos químicos no detectaban olor alguno. De esto se puede deducir primero, que las moléculas estimulantes no tienen necesariamente que ser olorosas y por tanto volátiles, y en segundo lugar, que en organismos superiores existen órganos excitables por contacto directo con sustancias de elevado peso molecular y por tanto relativamente no volátiles a la temperatura del cuerpo y del entorno. Abundando en estos conceptos se pueden recordar citas en esta disertación en la que se comenta el carácter proteico de determinadas feromonas y la naturaleza lipídica de elevado peso molecular, como es el caso de sustancias tipo ceras segregadas por ciertas aves palmípedas.

En estrecha relación con lo indicado acerca de los estimulantes químicos que operan en organismos superiores a través del órgano vomeronasal (VNO), feromonas tal vez inodoras, parece obligado citar textualmente a Halpern: “Una de las diferencias fundamentales entre el sistema VN y el sistema olfatorio principal puede ser la naturaleza química de las sustancias que estimulan a dichos sistemas. La condición *sine qua*

*non* de los estímulos olfatorios es que sean volátiles. Hasta el momento sólo han sido identificadas unas pocas sustancias que estimulan naturalmente el sistema VN y cuya detección conduce a cambios del comportamiento o endocrinos. En casi todos los casos las sustancias son de peso molecular relativamente alto, no volátiles y con proteínas en su composición” (13).

Estas elocuentes consideraciones, avaladas por datos experimentales, permiten admitir que no es el olor, la condición para su efecto feromonal. Sustancia olorosa conlleva volatilidad y por ende peso molecular relativamente bajo. Existen sin embargo sustancias, de peso molecular elevado, con propiedades feromonales que no tienen porque ser olorosas, pueden ser inodoras. Tal vez para ese fin está diseñado el órgano vomeronasal en los animales superiores.

De lo expuesto resulta evidente que el conocimiento de la comunicación química, la comunicación química a distancia entre los seres vivos provocando respuestas fisiológicas o de comportamiento, (la podríamos llamar la “telequimiocomunicación biológica”) es un hecho, pero que su investigación está todavía en sus etapas iniciales. Queda aun un gran “lenguaje” químico por descifrar. Es posible que el “lenguaje” feromonal tenga una sintaxis. Puede que se llegue a conocer que las feromonas se asocian en mezclas para adquirir nuevos significados. Por otra parte es posible que algunos animales puedan modular la intensidad o la frecuencia de pulso de emisión de feromona para crear nuevos mensajes. La solución de este y otros interesantes problemas está en manos de nuevas técnicas analíticas y de un mejor conocimiento de la capacidad de recepción de los seres vivos. Todo un equipo multidisciplinar perfectamente coordinado podrá dilucidar en el futuro el enigma que encierran las moléculas no sólo en la construcción de los organismos vivos sino en las RELACIONES EXTERIORES BIOLÓGICAS.

He dicho

#### BIBLIOGRAFÍA

- (1) KARLSON, P. AND LÜSCHER, M. (1959) *Nature* 392: 177.

MANUEL RUIZ AMIL

- (2) KARLSON, P. (1960) *Erg. Biologie* 22: 225.
- (3) KARLSON, P. (1963) *Angew. Chemie* 75: 267.
- (4) KARLSON, P. (1966) *Naturwiss* 53: 445.
- (5) LAW, H.H.; REGNIER, F.E. (1971) *Ann. Rev. Biochem.* 40: 533.
- (6) BROWER, L.P.; BROWER, J.V.V.Z.; CRANSTON, F.P. (1965) *Zoologica* 50: 1.
- (7) HAPP, J.M.; MEINWALD, J. (1965) *J. Am. Chem. Soc.* 87: 2507
- (8) BOSSERT, W.H.; WILSON, E.O. (1963) *J. Theor. Biol.* 5: 443.
- (9) AMOORE, J.E. (1965) *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 30: 623.
- (10) RIDDIFORD, L.M. (1970) *J. Insect. Physiol.* 16: 653.
- (11) GILBERT, W. ; MÜLLER-HILL (1966) *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 56: 1891.
- (12) ADLER, J. (1969) *Science* 166: 1588.
- (13) HALPERN, M. (1987) *Ann. Rev. Neurosc.* 10: 325.
- (14) KEVERNE, E.B. (1982) *Olfaction and Endocrine regulation* (Eds. W.Breipohl) London IRL Press. Pp. 127.
- (15) RODRÍGUEZ, I. FEINSTEIN, P.; MOBAERTS, P. (1999) *Cell* 97:199.
- (16) SCHNEDIDER, D. (1969) *Science* 163: 1031.
- (17) ALVARADO, S. (1960) *Biología General. Tomo II. A.G.E.S.A. Madrid.* pp. 275.
- (18) NAITOH, Y. (1966) *Science* 154: 660.
- (19) KINOSITA, H.; MARAKAMI, A. (1967) *Physiol. Rev.* 47: 53.
- (20) WIRT, R.; MUSCHOLL, A.; WANNER, G. (1996) *Trends in Microbiol.* 96 (Vol. 4).
- (21) JONES, S. (1993) *Embo J.* 12: 2477.
- (22) ZHANG, C.L. (1996) *Molecular Microbiol.* 20: 9
- (23) CHANG, C.; KWOX, S.F.; BLEEKER, A.B.; MERGEROWITZ, E.M. (1993) *Science* 262: 539.
- (24) HERSKOWITZ, I. (1995) *Cell* 80: 187.
- (25) KAISE, D.; LOSIEK, R. (1993) *Cell* 73: 873.
- (26) ALLISON, C.; LAI, H-C; HUGHES, C. (1992) *Mol. Microbiol.* 6: 1583.
- (27) KAISER, D. (1996) *Science* 272:1598.
- (28) GREENBERG, E.P.; HASTING, J.W.; ULITZUR, S. (1979) *Arch. Microbiol.* 120: 87.
- (29) MCKENNEY, D.; BROWN, K.E.; ALLISON, D.G. (1995) *J. Bacteriol.* 177: 6989.
- (30) IYENGAR, R.; BIRNBAUMER, L. (1990) *En: G Proteins* (Eds. R. Iyengar and L. Birnbaumer). San Diego Academic. pp 1
- (31) MA; H.; YANOSKY, M.F.; MEYEROWITZ, E.M.(1990) *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 87: 3821.
- (32) FINO-SILVA, I.; PLASTERK, R.H. (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 483.
- (33) QUAN, F.; FOSTER, M.A. (1990) *Mol. Cell Biol.* 10:910.
- (34) KUMAGAI, A.; PUPILLO, M.; GUNDERSEN, R.; MIAKE-LYE, R.; DEVREOTES, P.N.; FIRTEL, R.A. (1989) *Cell* 57: 265.
- (35) DIETZEL, C.; KUJAN, J. (1987) *Cell* 50: 1001.
- (36) BETZ, R.; DUNTZE, W.; MANNEY, T.R. (1978) *FEMS-Letter* 4: 107.
- (37) MC GRATH, J.P.; VARSHAVSKY, A. (1989) *Nature* 340: 400.

MOLÉCULAS Y COMUNICACIÓN BIOLÓGICA

- (38) WHITAKER, R.H. (1970) The biochemical ecology of higher plants. En: "Chemical Ecology" (Eds. E. Sondheimer and J.B. Semione) Academic Press. N.Y. pp. 43
- (39) HUETTEL, M.N. (1986) *J. Nematology* 18: 3.
- (40) ALBORN, T.; TURLING, T.C.J. JONES, T.H.; STENHAGEN, G.; LOURING, J.H.; TUMLISON, J.H. (1997) *Science* 276: 276.
- (41) TORDJMAN, N.; ARNET, V. (1994) "La Comunicación Animal" (Eds. RBA) Barcelona.
- (42) ZACARÍAS, L. (1993) Etileno. En: "Fisiología y Bioquímica Vegetal" (eds. J. Azcon-Bieto y M. Talón) Mc Graw-Hill Interamericana de España. Madrid pp. 343.
- (43) PIÑOL, M<sup>a</sup> T.; PALAZÓN J. (1993) Metabolismo Secundario. En: "Fisiología y Bioquímica Vegetal" (eds. J. Azcon-Bieto y M. Talón) Mc Graw-Hill – Interamericana de España. pp. 237.
- (44) THOMAS, J.H. (1993) *Bioessays* 15: 791.
- (45) HASER, M.A.; FRIED, B. (1998) *Adv. Parasitology* 27: 169.
- (46) GARCÍA-REJÓN, L.; SÁNCHEZ-MORENO, M.; VERDEJO, S.; MONTEOLIVA, M. (1985) *Can. J. Zoology* 63: 2074.
- (47) BARNES, R.D. (1987) "Invertebrate Zoology". Saunders College Publ. Philadelphia.
- (48) JANSON, H.B.; JEYAPRAKASH, A.; DAMON, R.A. JR.; ZUCKERMAN, B.M. (1984) *Experimental Parasitology* 58: 270.
- (49) JEYAPRAKASH, A.; JANSSON, H.B.; MARBÁN-MENDOZA, N.; ZUCKERMAN, B.M. (1985) *Experimental Parasitology* 59: 90.
- (50) BONE, L.W.; BOTTJER, K.P. (1985) *J. of parasitology* 71: 235.
- (51) HUETEL, R.W.; JAFFE, H. (1987) *Proc. Helminthological Soc. of Washington* 54: 122
- (52) BONE, L.W.; HAWMOCK, B.D.; GASTON, L.K.; REED, S.K.; SHOREY, H.H. (1980) *J. Chem. Ecology* 6: 297.
- (53) EVELAND, L.K.; FRIED, B.; COHEN, L.M. (1982) *Experimental Parasitology* 54: 271.
- (54) SHAW, J.R.; MARSHALL, I.; ERASMUS, D.A. (1977) *Experimental Parasitology* 42: 14.
- (55) EVELAND, L.K.; FREÍD, B.; COHEN, L.M. (1983) *Experimental Parastitology* 56: 255.
- (56) BONE, L.W. (1982) *International J. Invertebrate Reproduction* 5: 261.
- (57) METRICK, D.F.; CHO, C.M. (1981) *Can. J. Physiol. Pharmacology* 1981: 59.
- (58) INSLER, G.D.; ROBERTS, L.S. (1980) *J. Exper. Zoology* 211: 45.
- (59) ULMER, M.J. (1971) En: "Ecology and physiology of Parasites" (Eds. A.M. Fallis) University of Toronto Press. pp.123.
- (60) HUETEL, R.N. (1986) *J. of Nematology* 18: 3.

MANUEL RUIZ AMIL

- (61) WILSON, E.O. (1986) Chemical Systems. En: "Animal Communications. Techniques of study and Results of research" (Eds. T.A. Sebeok) Indiana University Press. Bloomington. pp.75.
- (62) SHOREY, H.H. (1977) Pheromones. En: "How animals communicate" (Eds. T.A. Sebeok) Indiana University Press. Bloomington. pp. 137
- (63) GADE, G.; HOFFMAN, K.H.; SPRING, J.H. (1977) *Physiol. Rev.* 77: 963.
- (64) PRESTWICH, G.D. (1987) *Science* 237: 999.
- (65) WILSON, E.O. (1963) *Sci. Am.* 208: 100.
- (66) JACOBSON, M.; BEROZA, M.; JONES, W.A. (1960) *Science* 132: 1011.
- (67) ETIER, K.; TRUSCHEIT, E.; BONNES, M. (1967) *Ann. Chem.* 709: 29.
- (68) BIERL, B.A.; BEROZA, M.; COLLIER, C.W. (1970) *Science* 170: 87.
- (69) AMOORE, J.E.; PALMIERI, G.; WANKE, E.; BLUM, M.S. (1969) *Science* 165: 884.
- (70) RUDINSKY, J.A. (1969) *Science* 166: 884.
- (71) NÚÑEZ, J.; ALMEIDA, L. VALDERRAMA, N.; GIURFA, M. (1997) *Physiol. Behav.* 63: 75.
- (72) CLARKE, C.A.; CRONIN, A.; FRANKE, W. (1996) *Experientia* 65: 636.
- (73) PICKETT, J.A.; WADHAMS, L.J.; WOODCOCK, C.M. (1998) *The Biochemist* 20: 8.
- (74) LINN, C. JR.; POOLE, K.; ZHANG, A.; ROELOFS, W. (1998) *The Biochemist* 20: 14.
- (75) ANTON, S.; IGNELL, R.; OCHIENG, S.A.; HANSSON, B. (1998) *The Biochemist* 20: 18.
- (76) VICKERS, N.J.; CHRISTENSEN, T.A.; HILDEBRAND, J.G. (1998) *The Biochemist* 20: 22.
- (77) BAKER, T.C. (1998) *The Biochemist* 20: 26.
- (78) KANZAKI, R.; MISHIMA, T.; TAKASAKI, T.; NAGASAWA, S.; SHIMOYAMA, I. (1998) *The Biochemist* 20: 34.
- (79) MOULTON, D.G. (1968) *Science* 162: 1176.
- (80) LAMBERT, J.G.; RESINK, J.W. (1991) *J. Steroid-Biochem. Mol. Biol.* 40: 549.
- (81) SORENSEN, P.W.; SCOTT, A.P. (1994) *Acta Physiol. Scand.* 152: 191.
- (82) LOSEY, G.S. JR. (1969) *Science* 163: 181.
- (83) KIKUYAMA, S. (1995) *Science* 267: 1643.
- (84) MASON, R.T.; FALES, H.M.; JONES, T.H.; PANELL, L.K.; CHINN, J.W.; CREWS, D. (1989) *Science* 245: 290.
- (85) GARSTKA, W.R.; CREWS, D. (1981) *Science* 214: 681.
- (86) Kubie, J.L.; Halpern, M. (1978) *J. Comp. Psychol. Psychol.* 92: 362.
- (87) HALPERN, M.; KUBIE, J.L. (1983) En: "Chemical Signals in Vertebrates" (D. Müller-Schwarze; R.M. Silverstein eds.) New York Plenum. (vol. 3) pp.45
- (88) KLEMM, W.R.; SHERRY, C.J.; SIS, R.F.; SCHAKE, L.M.; WAXMAN, A.B. (1984) *Appl. Anim. Behav. Sci.* 12: 53.
- (89) DULLEMEIJER, P (1961) *Koninkl. Nederl. Acad. Van Wattenschappen Proc. Ser. C* 64: 383.
- (90) GRAVES, B.M.; DUVAL, D. (1985) *Copeia* 1985: 496.

MOLÉCULAS Y COMUNICACIÓN BIOLÓGICA

- (91) HINES, P.J.(1977) *Science* 278: 79.
- (92) DORRIES, K.M. (1997) *Science* 278: 1550.
- (93) HALPERN, M.; KUBIE, J.L. (1984) *Trends Neurosc.* 7: 1.
- (94) MEREDITH, M. (1986) *Physiol. Behav.* 36: 737.
- (95) KOLATTUKUDY, P.E.; ROGERS, L. (1987) *Arch. Biochem. Biophys.* 252: 121.
- (96) BOHNET, S.; ROGERS, L.; SASAKI, G.; KOLATTUKUDY, P.E. (1991) *J. Biol. Chem.* 266: 9795.
- (97) HIREMATH, L.S.; KESSLER, P.M.; SASAKI, G.C.; KOLATTUKUDY, P.E. (1992) *Eur. J. Biochem.* 203: 449.
- (98) MA, H.; TAM, Q.T.; KOLATTUKUDY, P.E.(1998) *FEBS Lett.* 434: 394.
- (99) DAVIDSON, J.M.; LEVINE, S. (1972) *Ann. Rev. Physiol.* 34: 375.
- (100) BRUCE, H.M. (1970) *Br. Med. Bull* 26: 10
- (101) LE MAGNEN, J. (1952) *Arch. Sci. Physiol.* 6: 295.
- (102) MICHAEL, R.P.; KERVENE, E.B. (1968) *Nature* 207: 878.
- (103) PARKERS, A.S. (1960) *J. Reprod. Fert.* 1: 31.
- (104) EVANS, C.S.; GOY, R.W. (1968) *J. Zool. (Lond)* 156: 181.
- (105) WHEELER, J.W. (1976) *Lloydia* 39: 53.
- (106) COMFORT, A. (1971) *Nature* 230: 432.
- (107) DOTY, R.L.; FORD, M.; PRETI, G.; HUGGINGS, G.R. (1975) *Science* 190: 1316.
- (108) WELLER, L.; WELLER, A. (1994) *Neurosci. Biobehav Rev.* 18: 455.
- (109) GRAMMER, K; JUTTE, A. (1977) *Gynkol. Geburtshilfliche-Rundsch* 37: 150.
- (110) CUTLER, W.B.; FRIEDMANN, E.; MC COY, N.L. (1998) *Arch. Sex. Behav.* 27: 1.
- (111) WELLER, A. (1998) *Nature* 392: 126.
- (112) MONTI-BLOCH, L.; JENNINGS-WHITE, C.; DOLBERG, D.S.; BERLINER, D.L. (1994) *Psychoneuroendocrinology* 19: 673.
- (113) BERLINER, D.L.; MONTI-BLOCH, L.; JENNINGS-WHITE, C.; DÍAZ-SÁNCHEZ, V. (1996) *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* 58: 259
- (114) MC CLINTOCK, M.K. (1971) *Nature* 229: 244.
- (115) STERN, K.; MC CLINTOCK, M.K. (1998) *Nature* 392: 177.