

## Comunicación breve

## Aspectos morfológicos del órgano vomeronasal en el lagarto *Tupinambis merianae*

### Morphological aspects of the vomeronasal organ in the lizard *Tupinambis merianae*

O.L. Sánchez Loria; R. Guerrero; S. Chamut\* y M.E. Manes

Cátedra de Biología del Desarrollo e Histofisiología, Facultad de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de Tucumán. Florentino Ameghino s/n. El Manantial (4105). Tucumán Argentina.

\* Autor de correspondencia: schamut@fbqf.unt.edu.ar

#### Resumen

El órgano vomeronasal (OVN) es una estructura sensorial presente en la mayoría de los vertebrados terrestres, involucrada en la detección de feromonas asociadas a comportamientos sociales y reproductivos. Este trabajo describe aspectos morfológicos del OVN y los conductos asociados en el lagarto *Tupinambis merianae*. Para su estudio, ejemplares de ambos sexos y varias edades fueron anestesiados y eutanizados. Las muestras del órgano fueron fijadas *in situ* mediante perfusión o *ex situ* luego de su disección. Posteriormente fueron descalcificadas y procesadas según técnicas convencionales para estudios anatómicos, histológicos y de microscopía electrónica de barrido. El OVN de *Tupinambis merianae* exhibe un patrón morfológico típico, conformado por un neuroepitelio bien desarrollado y un epitelio no sensorial de tipo respiratorio. Se conecta mediante los nervios vomeronasales con un conspicuo bulbo olfatorio accesorio. En la base del órgano se localizan las desembocaduras de las glándulas de Harder y los conductos propios del OVN que se abren en la cavidad bucal. Las segundas escamas supralabiales constituyen una referencia topográfica útil sobre la posición del OVN. El considerable desarrollo del OVN aparece vinculado al amplio repertorio de comportamientos reproductivos en la especie.

**Palabras clave:** órgano vomeronasal, morfología, *Tupinambis merianae*, Sauria: Teiidae.

#### Abstract

The vomeronasal organ (VNO) is a sensory structure present in most terrestrial vertebrates, involved in the detection of pheromones associated with social and reproductive behaviors. This paper describes morphological aspects of the VNO and associated ducts in the lizard *Tupinambis merianae*. For their study, specimens of both sexes and various ages were anesthetized and euthanized. The organ samples were fixed *in situ* by perfusion or *ex situ* after dissection. They were then decalcified and processed according to conventional techniques for anatomical, histological and scanning electron microscopy studies. The VNO of *Tupinambis merianae* exhibits a typical morphological pattern, consisting of a well-developed sensory neuroepithelium and a respiratory-type non-sensory epithelium. It connects via the vomeronasal nerves with a conspicuous accessory olfactory bulb. At the base of the organ, the mouths of the Harder glands and of the vomeronasal ducts that connect with the oral cavity are placed. The second supralabial scales constitute an useful topographical reference for the VNO location. The considerable development of the VNO appears linked to the wide range of reproductive behavior in this species.

**Key words:** vomeronasal organ, morphology, *Tupinambis merianae*, Sauria: Teiidae.

La mayoría de los vertebrados obtiene información química del ambiente a través de los sistemas olfatorio y vomeronasal. El epitelio sensorial en el primero se encuentra libremente expuesto en la superficie de la cavidad nasal, mientras que en el segundo se encuentra encapsulado por tejidos óseo y cartilaginoso en la base del septo na-

sal, formando una estructura bilateral, el órgano vomeronasal (OVN).

Tales diferencias anatómicas, sumadas a mecanismos de transducción específicos y a la existencia de vías neuronales independientes, con proyección a diferentes partes del sistema nervioso central, apoyan la idea de una evolución tem-

prana e independiente de los sistemas olfatorio y vomeronasal, aunque con algún grado de integración a nivel telencéfalo (Halpern y Martínez Marcos, 2003). A pesar de ello, los estudios fisiológicos realizados hasta el presente, no permiten establecer una distinción funcional concluyente entre ambos sistemas (Halpern y Martínez Marcos, 2003; Baxi *et al.*, 2006).

El sistema vomeronasal se encuentra implicado en la detección de feromonas, un grupo de señales químicas que participan en la comunicación social intraespecífica, particularmente, en la interacción sexual de los vertebrados (Baxi *et al.*, 2006).

De este modo, el sistema vomeronasal, como otros sistemas sensoriales, puede estar implicado en el reconocimiento del estado fisiológico-conductual de un individuo. Notablemente, este sistema aparece también involucrado en la percepción de estímulos diferentes a las feromonas. Un ejemplo característico es el lengüeteo en ofidios y lagartos en presencia de presas (Schwenk, 1993), un reconocido mecanismo de transporte de moléculas odorantes al OVN (Burghardt y Pruitt, 1975).

El sistema vomeronasal acompañó la evolución de los tetrápodos y sus variaciones en el desarrollo dentro de un grupo sistemático, estas se encuentran correlacionadas con los hábitos particulares de vida (nicho ecológico). Está ausente o poco desarrollado en lagartos de vida arbórea, mientras que en formas de hábitos subterráneos se encuentra excepcionalmente bien desarrollado (Halpern, 1987). Las aves, cocodrilos adultos y camaleones carecen de OVN (Doving y Trotier, 1998).

El género *Tupinambis* (*Sauria: Teiidae*) constituye un grupo de grandes lagartos sudamericanos con siete especies reconocidas, de las cuales *Tupinambis merianae* y *Tupinambis rufescens*, están presentes en el territorio argentino, constituyendo los representantes más australes. Estas especies manifiestan una rica diversidad de comportamientos, asociados principalmente con la actividad reproductiva (Mercolli y Yanosky, 1990; Noriega *et al.*, 1996; Chamut *et al.*, 2009; Martín *et al.*, 2011).

En este trabajo efectuamos una descripción morfológica del OVN en el lagarto *Tupinambis merianae*, aportando algunos detalles sobre su organización ultraestructural.

El presente estudio se llevó a cabo con especímenes de *Tupinambis merianae* del criadero experimental de la Facultad de Agronomía y Zoo-

tecnia de la Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. Este criadero consiste en recintos al aire libre cercados con muros de mampostería de 1.2 m de alto, provistos de refugios y sombras donde los animales son alimentados *ad libitum* con una ración diseñada para criadero (Vega Parry y Manes, 2000).

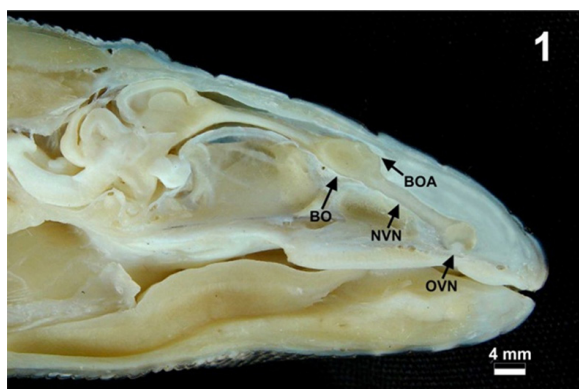
Se utilizaron 7 ejemplares de ambos sexos y diferentes edades (adultos y juveniles). Estos fueron anestesiados con diazepam (2.5 mg/kg) y ketamina intramuscular (25mg/kg) y eutanizados con inyecciones intracardíacas de pentobarbital sódico (100 mg/kg) (AAZV, 2006).

Para los estudios anatómicos se realizó la perfusión de los animales con formaldehído al 4% durante 24-48 hs. Posteriormente, las cabezas fueron removidas y descalcificadas en una mezcla de ácido fórmico 10% y formaldehído 2% (Martoja y Martoja, 1970) y conservadas en formaldehído al 4%.

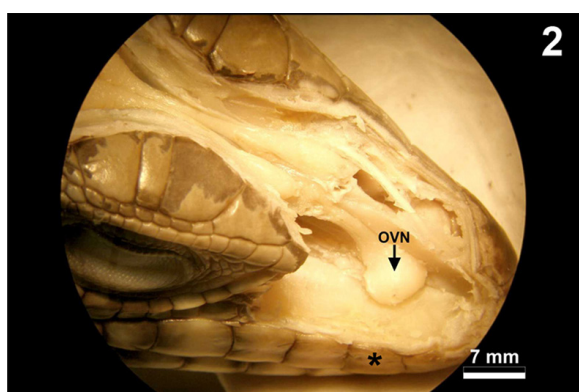
Para los estudios histológicos, las muestras de OVN fueron liberadas de su cubierta ósteocartilaginosa mediante torno odontológico y fijadas en la solución de Dubosq-Brasil (Langeron, 1949) durante 48 hs. Se efectuó una remoción de los remanentes óseos por descalcificación en la solución mencionada durante 7 días. Las piezas se incluyeron en parafina de acuerdo a los procedimientos convencionales; se cortaron secciones de 7  $\mu$ m y se colorearon con hematoxilina-eosina.

Para los estudios con microscopía electrónica de barrido, las muestras obtenidas se fijaron en solución de Karnovsky, media concentración (glutaraldehído 2,5 %; paraformaldehído 2% en cacodilato de sodio 0,2 M pH 7,4) durante 72 h a 4-5°C, se deshidrataron en etanol y acetona y secaron mediante punto crítico. Las muestras se metalizaron con oro y se observaron con un microscopio electrónico de barrido (JEOL 35 CF).

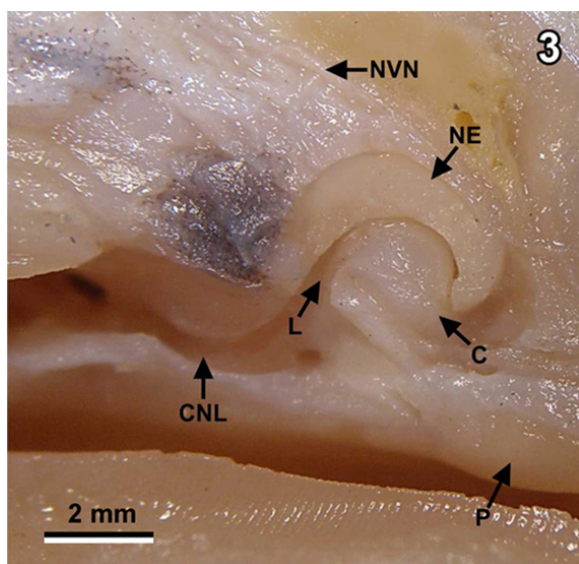
El análisis anatómico e histológico mostró que el OVN de *Tupinambis merianae* presenta una estructura cupuliforme par de considerable desarrollo, semejante a la descrita en otros reptiles escamados (Figs. 1, 2 y 3). Se sitúa en la región anterior de la cavidad nasal a ambos lados del tabique nasal, sobre el hueso vómer, rodeado por una cápsula osteocartilaginosa (Fig. 1). Este órgano se conecta mediante un grueso cordón de nervios vomeronasales, con un conspicuo bulbo olfatorio accesorio, que constituye el principal centro de relevo del sistema vomeronasal en reptiles y anfibios (Franceschini *et al.*, 2000; 2001) (Fig. 1).



**Fig. 1.** Sección sagital de la cabeza de un ejemplar juvenil de *Tupinambis merianae*. Bulbo olfatorio (BO), bulbo olfatorio accesorio (BOA), nervio vomeronasal (NVN), órgano vomeronasal (OVN).



**Fig. 2.** Porción rostral de un ejemplar juvenil de *Tupinambis merianae* mostrando la posición del órgano vomeronasal (OVN) a la altura de las segundas escamas supralabiales (\*).

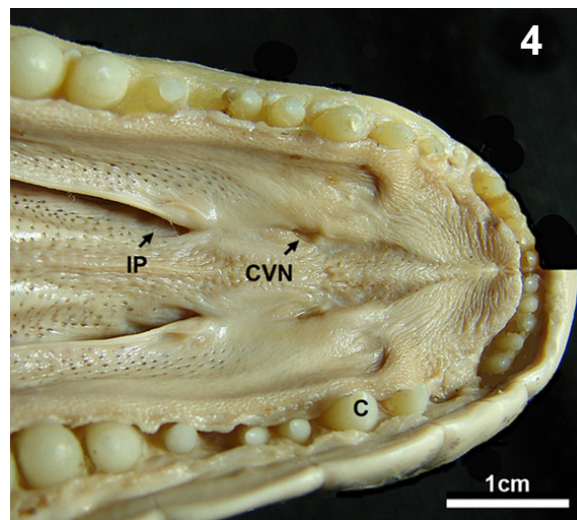


**Fig. 3.** Fotografía del plano sagital del OVN en *Tupinambis merianae*. Neuroepitelio (NE), cartilago cupuliforme (C), conducto nasolagrimal (CNL), nervio vomeronasal (NVN), lumen del OVN (L), paladar (P).

Las escamas supralabiales que bordean la mandíbula superior, constituyen una referencia topo-

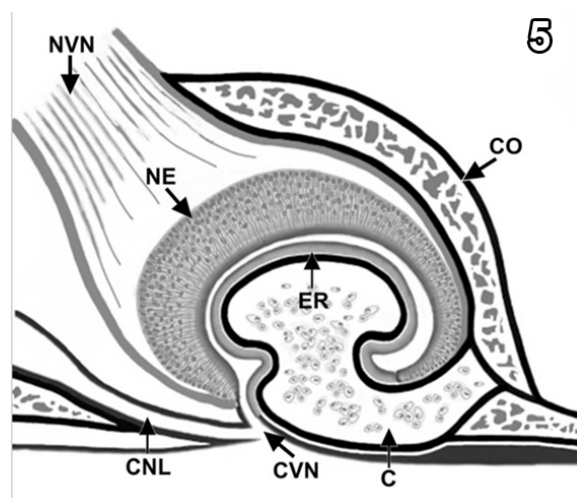
gráfica útil para establecer la posición del OVN. En efecto, la proyección de las segundas escamas supralabiales hacia el interior de la cavidad nasal determina con adecuada precisión la ubicación del OVN (Fig. 2).

El conducto propio del OVN, ipsilateral, se abre a la cavidad bucal, en el paladar anterior entre el hueso maxilar (lateral) y el hueso vómer (medial) por delante de las incisuras palatinas y ligeramente posterior a una línea imaginaria entre los dientes caniniformes mayores (Fig. 4).



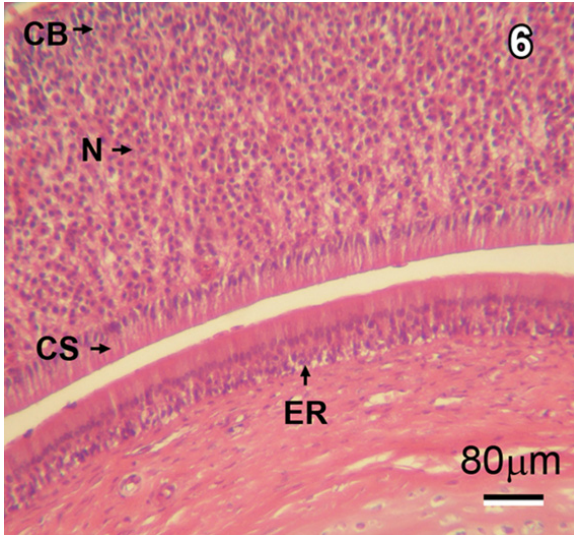
**Fig. 4.** Techo de la boca. Orificio del conducto propio del OVN (CVN); incisura palatina (IP); diente canino mayor (C).

Luego de su trayectoria por la cavidad nasal, el conducto nasolagrimal, que comunica las glándulas de Harder con el OVN, se fusiona con el conducto propio del OVN en la base del órgano (Fig. 5).



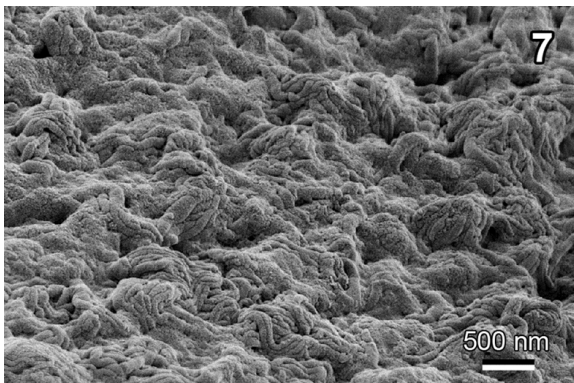
**Fig. 5.** Esquema del plano sagital del OVN en *Tupinambis merianae*. Neuroepitelio (NE); epitelio respiratorio (ER); cartilago cupuliforme (C); capsula osteocartilaginosa (CO); conducto nasolagrimal (CNL); conducto propio del OVN (CVN), nervio vomeronasal (NVN); lumen del OVN (L); paladar (P).

La organización histológica del OVN en *Tupinambis merianae*, similar a la de otros escamados, consiste en un espeso epitelio sensorial o neuroepitelio separado del epitelio no sensorial o respiratorio por la luz del órgano (Fig. 6).



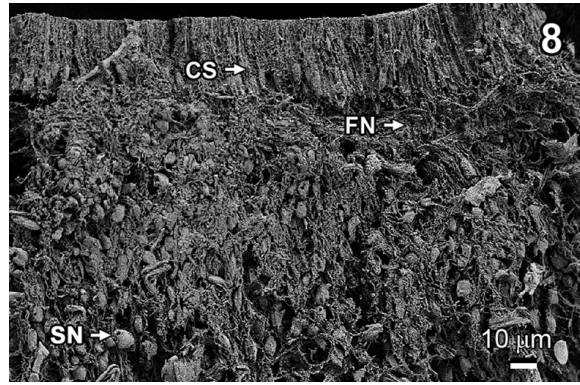
**Fig. 6.** Organización histológica del OVN de *Tupinambis merianae*. Neuroepitelio: células de sostén (CS); neuronas bipolares (N); células basales (CB). Epitelio respiratorio (ER). Coloración Hematoxilina-Eosina.

La superficie luminal del neuroepitelio examinada con microscopía electrónica de barrido, exhibe abundantes prolongaciones citoplasmáticas dispuestas en manojos, que corresponden a las terminaciones dendríticas de las neuronas bipolares (Fig. 7).

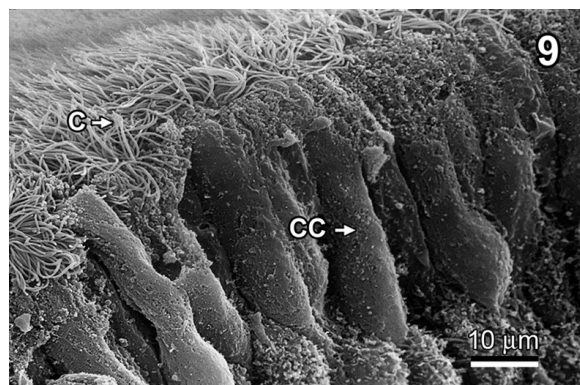


**Fig. 7.** Microscopía electrónica de barrido de la superficie luminal del neuroepitelio mostrando proyecciones dendríticas compactas y fuertemente plegadas.

La ultraestructura del neuroepitelio muestra somas neuronales distribuidos en un espeso entramado de fibras nerviosas (Fig. 8). El epitelio no sensorial aparece conformado típicamente por un estrato de células cilíndricas ciliadas (Fig. 9).

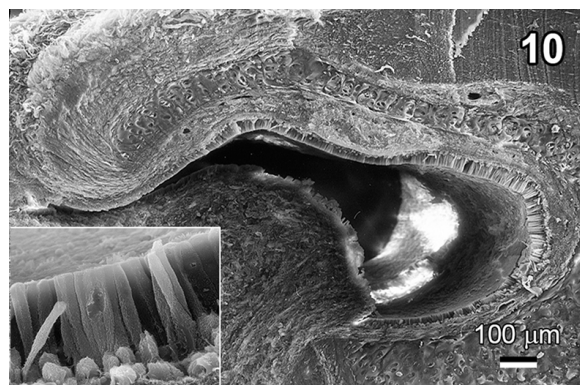


**Fig. 8.** Microscopía electrónica de barrido del epitelio sensorial mostrando somas neuronales (SN); sus fibras nerviosas (FN) y células de sostén (CS).



**Fig. 9.** Vista lateral del epitelio respiratorio del OVN con microscopía electrónica de barrido. Cuerpos celulares (CC); cilios (C).

La superficie luminal del conducto propio del OVN se encuentra revestida por un epitelio monoestratificado de delgadas células cilíndricas ciliadas y no ciliadas (Fig. 10).



**Fig. 10.** Vista panorámica con microscopía electrónica de barrido de una porción del conducto propio del órgano vomeronasal en *Tupinambis merianae*. Detalle: revestimiento celular del conducto.

El presente estudio describe al órgano vomeronasal de *Tupinambis merianae* como una estructura que exhibe el patrón morfológico referido en otros reptiles. Su considerable desarrollo aparece

vinculado a la rica diversidad de comportamientos reproductivos de la especie. Las relaciones topográficas del OVN y de sus conductos específicos y asociados, pueden constituir referencias importantes para el diseño de estudios experimentales sobre la fisiología del órgano y su participación en los diversos comportamientos sociales y reproductivos de *Tupinambis meriana*.

### Agradecimientos

Agradecemos al Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional Tucumán (CIUNT) por el financiamiento de este trabajo. Queremos agradecer también al Sr. Daniel López por su colaboración en el procesamiento de las imágenes, y a la Facultad de Agronomía y Zootecnia por su apoyo en la provisión de instalaciones, personal y mantenimiento.

### Referencias bibliográficas

- American Association of Zoo Veterinarians (AAZV). (2006). Guidelines on Euthanasia of Nondomestic Animals. Baer, C.K. (Ed.). American Association of Zoo Veterinarians, Yulee, Florida, USA.
- Baxi K.N., Dorries K.M., Eisthen H.L. (2006). Is the vomeronasal system really specialized for detecting pheromones? *Trends in Neurosciences* 29: 1-7.
- Burghardt G.M., Pruitt C.H. (1975). Role of the tongue and senses in feeding of newborn garter snakes. *Physiology & Behavior* 14: 185-194.
- Chamut S., García Valdez V., Manes M.E. (2009). Functional Morphology of Femoral Glands in the Tegu Lizard, *Tupinambis meriana*. *Zoological Science* 26(4): 289-293.
- Doving K.B., Trotier D. (1998). Structure and function of the vomeronasal organ. *The Journal of Experimental Biology* 201: 2913-2925.
- Franceschini V., Lazzari M., Ciani F. (2000). Lectin cytochemical localization of glycoconjugates in the olfactory system of the lizards *Lacerta viridis* and *Podarcis sicula*. *Anatomy and Embryology* 202: 49-54.
- Halpern M. (1987). The Organization and Function of the Vomeronasal System. *Annual Review of Neuroscience* 10: 325-362.
- Halpern M., Martínez Marcos A. (2003). Structure and function of the vomeronasal system: an update. *Progress in Neurobiology* 70: 245-318.
- Langeron M. (1949). *Précis de Microscopie*. Masson Et. Cie, Paris.
- Martin J., Chamut S., Manes M.E., Lopez P. (2011). Chemical constituents of the femoral gland secretions of male tegu lizards (*Tupinambis meriana*) (family Teiidae). *Z. Naturforsch.* 66c: 434-440.
- Martoja R., Martoja-Pierson M. (1970). *Técnicas de Histología Animal*. 1ra ed., Toray-Masson, Barcelona, p.62-63.
- Mercolli C., Yanosky A. (1990). Répertoire des comportements du Téju (*Tupinambis teguixin*). Sauria: Teiidae. *Revue française d'Aquariologie et Herpétologie* 16: 123-130.
- Noriega T., Fogliatto O., Mignola L., Manes M.E. (1996). Ciclo biológico y patrones de comportamiento en una población de iguanas overas *Tupinambis teguixin* (L) (sauria, teiidae) adaptada al cautiverio. *Revista Agronómica del Noroeste Argentino* 28: 109-127.
- Schwenk K. (1993). The evolution of chemoreception in squamate reptiles: a phylogenetic approach. *Brain Behavior and Evolution* 41: 124-137.
- Vega Parry H.E., Manes M.E. (2000). Alimentación de lagartos overos *Tupinambis meriana* con subproductos avícolas. *Revista Argentina de Producción Animal* 20: 135-143.