

# BOCA A BOCA

Los mixinos y las lampreas son los únicos peces vivos sin mandíbulas. Y podrían solucionar un misterio de la evolución, opina **Henry Nicholls**.

En el sótano del Museo Nacional de Historia Natural de París, dos hombres se detienen en el largo y sombrío pasillo conocido como “el submarino”. Philippe Janvier, especialista en paleontología del museo, abre una puerta, enciende la luz y abre el camino hasta la *salle poissons*, donde se guarda la impresionante colección de fósiles de peces. El visitante, Shigeru Kuratani, es un especialista en biología evolutiva de la Universidad de Okayama, en Japón, que se dedica al estudio de las lampreas, uno de los dos únicos grupos de peces sin mandíbulas que sobreviven. Pero hoy ha venido a ver a algunos de sus primos extinguidos hace mucho tiempo.

Mientras Kuratani mira detenidamente la vívida impresión de un pez sin mandíbulas grabada en una roca hace unos 400 millones de años, los dos empiezan a hablar. Janvier aconseja a Kuratani que intente conseguir un embrión de un mixino, el otro grupo de peces sin mandíbulas que ha sobrevivido. Muy pocos investigadores lo han conseguido; si Kuratani pudiera, quizá resolviera una disputa taxonómica que preocupa a los científicos desde hace más de un siglo.

Varios años después de este encuentro, que se celebró en 2000, Kuratani seguía reflexionando sobre ello. En 2004 contrató a Kinya

Ota como estudiante de posdoctorado en su laboratorio del Centro RIKEN de Biología Evolutiva de Kobe, y le encargó la tarea de lograr aquello en lo que muchos habían fracasado. “Si consigues embriones –le aseguró Kuratani–, sólo uno o dos, tendríamos material para un artículo muy importante.”

Kuratani y Janvier no son los únicos que tienen esta obsesión con los mixinos y las lampreas. Para un grupo de entregados biólogos, estos “fósiles vivientes” tienen mucho valor por lo que prometen revelar sobre algunos de los primeros acontecimientos en la evolución de los vertebrados. Los avances en la biología evolutiva y en la genética molecular empiezan a hacer realidad esa promesa.

Los mixinos y las lampreas llevan a los investigadores aproximadamente 500 años atrás, a una época en la que los primeros vertebrados con mandíbulas o gnatóstomos evolucionaron a la vez que un plan corporal realmente “vertebrado”. Los gnatóstomos se impusieron finalmente y, aparte de los mixinos y lampreas, los agnatos se extinguieron. La cuestión es cómo ocurrió exactamente la división entre mixinos, lampreas y gnatóstomos (en la imagen, de izquierda a derecha), y el conflicto entre las respuestas de los investigadores se ha descrito como “uno de los problemas más frustrantes en la filogenia

de los vertebrados”<sup>1</sup>. “Estamos peleando con esta discrepancia en la misma base del árbol de los vertebrados y todavía no podemos salir de ahí”, afirmó Janvier. “Tenemos que encontrar más datos y de distintos tipos.”

Es un problema que viene de lejos. En 1806, el zoólogo francés André Duméril decidió que las semejanzas en las sorprendentes piezas bucales de los mixinos y las lampreas significaban que debían ponerse en el mismo grupo (véase el gráfico) y los denominó ciclóstomos o “bocas redondas”. Pero a partir de los años setenta del siglo xx, los morfólogos empezaron a dudar. Mirando más allá de la boca, encontraron que las lampreas adultas tienen un conjunto de características que los mixinos no tienen, como elementos de una columna vertebral, capacidad para controlar el contenido del agua mediante osmorregulación y la presencia de verdaderos linfocitos, un tipo de glóbulo blanco. Todo apuntaba a un árbol en el que las lampreas estaban más próximas de los gnatóstomos que del linaje más antiguo de los mixinos.

Éste podría haber sido el fin del problema de no haber sido por la biología molecular. Desde el primer goteo de secuencia de datos hasta el diluvio de bioinformática actual, prácticamente todos los análisis moleculares han indicado que, después de todo, Duméril tenía razón: mixinos y lampreas están más emparentados entre sí que cualquiera de los dos con

**“Estamos peleando con esta discrepancia en la misma base del árbol de los vertebrados.”**

— Philippe Janvier

los gnatóstomos. En este caso, el último ancestro común de los dos tenía columna vertebral y otras características que los mixinos perdieron posteriormente.

Sólo uno de estos árboles puede estar bien. Es bastante importante saber cuál, ya que el camino exacto de estas ramas tiene un efecto radical en lo que se puede deducir sobre la evolución de los primeros vertebrados. Para muchos investigadores, el árbol de los morfólogos es más atractivo ya que les permitiría cartografiar los acontecimientos en la senda de la evolución desde los invertebrados sin cabeza pasando por los mixinos, con cabeza pero invertebrados, hasta las lampreas vertebradas pero sin mandíbulas y los gnatóstomos (véase "Hallazgos en fósiles"). Pero parece poco probable que morfólogos y biólogos moleculares –que defienden sus respectivas disposiciones– lleguen a algún tipo de consenso. Para Janvier, la idea de conectar estos datos de distinto tipo en un análisis combinado no tiene demasiado sentido.

Un estudio realizado a principios de este año los combinó, lo que sirvió para ilustrar la profundidad de la división. Thomas Near, sistemata molecular de la Universidad de Yale, fue la primera persona que introdujo series de datos morfológicos y moleculares en el mismo análisis<sup>1</sup>. Con los datos moleculares de 4.638 yacimientos de ARN ribosómico y más de 10.000 aminoácidos, los mixinos y las lampreas aparecen indudablemente como grupos hermanos. Pero la suma de sólo 115 características morfológicas (del esqueleto y de los sistemas sensorial, nervioso y circulatorio, por ejemplo) redibuja las raíces del árbol y sugiere que las lampreas están más emparentadas con los gnatóstomos. Near afirmó que probablemente sean los datos moleculares los que dan este resultado equívoco, por las dificultades de utilizar las secuencias de ADN y proteínas para arrojar luz en acontecimientos que ocurrieron en una escala temporal muy breve –mixinos, lampreas y gnatóstomos se separaron en unos pocos millones de años– en comparación con los cientos de millones de años que han transcurrido desde entonces. Estos hallazgos dan motivos, concluye el artículo, "para considerar el fuerte respaldo a la mono-

## Hallazgos fósiles

Los paleontólogos han intentado resolver los primeros acontecimientos de la evolución de los vertebrados haciendo lo posible por esclarecer el viaje desde la existencia sin mandíbulas a la mandibulada. Uno de los desafíos más urgentes ha sido la interpretación de la gran cantidad de peces mandibulados extintos que se agolpan en esta transición evolutiva y situar la adquisición de características anatómicas en el tiempo. Algunos hallazgos de fósiles plantean preguntas sobre la validez de grupos como los placodermos, con sus pesadas corazas, y los acantodios, parecidos a tiburones con espinas.

El descubrimiento a principios de este año del *Guiyu oneiros* (en la fotografía), un antiguo ejemplar de un pez con huesos ha dado un vuelco a la situación<sup>5</sup>. La aparición de este pez realmente complejo hace aproximadamente 419 millones de años indica que la mayoría de los grandes acontecimientos en la evolución de los modernos vertebrados ocurrieron



mucho antes de lo que se pensaba. Los restos de peces cartilaginosos, con aletas lobulares y aletas radiadas deberían entrar en el registro de fósiles antes que el *G. oneiros*, pero nadie los ha encontrado.

¿Dónde están?

Probablemente algunos de sus restos –dientes aislados, escamas y espinas– se han encontrado y clasificado erróneamente, afirmó Michael Coates, paleontólogo de la Universidad de Chicago, Illinois. "En lugar de descubrir primitivos tiburones, identificamos esos fragmentos como placodermos o acantodios –señaló–. Hemos perdido la oportunidad de trazar las primeras pruebas de la diferenciación de los tiburones y los peces con huesos."

Un reciente informe apoya esta opinión. A principios

de este año, Martin Brazeau, que entonces estudiaba su doctorado en la Universidad de Uppsala en Suecia, publicó su análisis del cráneo olvidado de un acantodio que presentaba una combinación de características de distintos grupos<sup>6</sup>. El trabajo de Brazeau sugiere que ni los placodermos ni los acantodios son entidades biológicas genuinas, acercando estos grupos a la desintegración, declaró Coates. Una agrupación artificial podría ser una oportunidad apasionante para los paleontólogos. Esta mezcla de grupos podría contener gran cantidad de información que resolvería el orden y el momento en el que se adquirieron características claves como mandíbulas, dientes, aletas pareadas y la fecundación interna durante las primeras fases de la evolución de los vertebrados. **H.N.**

filia de los ciclóstomos que se deducía de las series de datos moleculares con un grado de moderado escepticismo<sup>7</sup>. ¿Cómo se puede resolver entonces el problema?

### Empezar por el principio

Es aquí donde aparecen los embriones de Kuratani. Una forma de averiguar las relaciones evolutivas es buscar una trayectoria de desarrollo común en la forma y el crecimiento de los embriones, un campo llamado "evo-devo". "Por

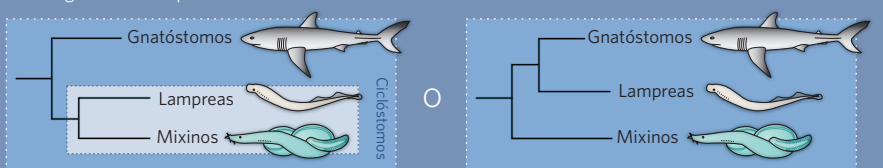
norma general existe el riesgo de mirar a un adulto y dar por supuesta la homología entre estructuras diferentes –declaró Kuratani–. La embriología ataja este problema."

Lo que los investigadores quieren hacer es alinear los embriones de mixinos, lampreas y un descendiente de un vertebrado primitivo con mandíbulas –como el del tiburón bambú bandedado (*Chiloscyllium punctatum*)– y comparar no sólo su desarrollo morfológico, sino sus patrones de expresión génica. Pero la obtención de embriones de mixinos, lampreas o una especie representativa de los primeros gnatóstomos resulta problemática.

Durante muchos años las lampreas han sido el único ciclóstomo que tenían los biólogos evo-devo para trabajar. Estos esbeltos animales pasan la mayor parte de su vida como larvas viviendo en el fango y alimentándose por filtración antes de metamorfosearse en adultos con dientes que a menudo se pegan a los peces, perforándolos con la lengua hasta

### DOS ÁRBOLES

Las lampreas podían agruparse con los mixinos (izquierda) o estar más emparentadas con los gnatóstomos que los mixinos.



que la herida es lo bastante profunda para chuparles la sangre. Los embriones sólo viven unas semanas al año, por lo que son difíciles de obtener. Durante varios años, miembros del laboratorio de Marianne Bronner-Fraser en el Instituto de Tecnología de California en Pasadena, por ejemplo, recogieron adultos en el campo, obtuvieron los gametos y realizaron la fecundación in vitro y algunas investigaciones rudimentarias del desarrollo de la lamprea allí mismo. Después, afirmó Bronner-Fraser, “nos dimos cuenta de que los adultos podían enviarse por mensajería”, y desde entonces han ampliado su período reproductivo en el laboratorio.

Los embriones de los mixinos han planteado desafíos aún mayores. El hábitat natural de la docena escasa de especies descritas es el fango del fondo del mar. Los mixinos son tan huidizos que en los años sesenta del siglo XIX, la Real Academia Danesa de Ciencias y Letras de Copenhague ofreció una recompensa a la primera persona que averiguara los secretos reproductivos y evolutivos del mixino atlántico (*Myxine glutinosa*). Casi un siglo y medio después nadie ha reclamado el premio.

Cuando Ota aceptó el desafío de Kuratani, su primera decisión fue ver a los pescadores del lugar. Uno de ellos aceptó suministrarle algunos mixinos adultos de la costa japonesa (*Eptatretus burgeri*). Ota los metió en un gran tanque en el laboratorio de Kuratani,

puso conchas de ostra y tuberías de plástico para que tuvieran dónde esconderse y de vez en cuando subía al escondite con una cuerda para comprobar si había huevos. Finalmente Ota encontró lo que buscaba: unos cuantos huevos depositado en la fina arena<sup>2</sup>. Un año más tarde los embriones se hicieron visibles;

poco después se publicó un artículo en *Nature*<sup>3</sup>.

Sin embargo, los investigadores no resolvieron el debate filogenético. El artículo mostraba que, en los mixinos, el desarrollo de la estructura embrionaria denominada cresta neural y la expresión génica son muy similares a lo que se ve tanto en las lampreas como en los vertebrados con mandíbulas. Desde entonces se han conseguido otros embriones. “Estamos intentando identificar el diseño básico de los vertebrados –aseguró Kuratani–. Si podemos resolver esta relación filogenética entre lampreas, mixinos y tiburones, entonces conseguiremos saber qué tipo de forma tendría el último antepasado común de los vertebrados”, añadió.

### Cabeza con cabeza

Por ahora, él y Ota se dedican a comparar las cabezas de las lampreas y los mixinos. La cabeza es una estructura muy especializada



Los embriones de lamprea (verdes) y mixinos (en la imagen se muestran los huevos, de color marrón) podrían mostrar semejanzas en su desarrollo.

que “define a los vertebrados”, afirmó Kuratani, porque las características constructivas como las fosas nasales y la apertura de la boca requieren cambios del desarrollo específicos y “elaborados” durante la historia evolutiva. Los investigadores están comparando, por ejemplo, el primer arco faríngeo, una protuberancia de tejido que aparece en las primeras etapas de la vida de los embriones de los vertebrados y da lugar a la mandíbula y otras estructuras de la cabeza. Esto podría demostrar si, como sospechan, los patrones de expresión génica observados en las lampreas en desarrollo son más parecidos a los observados en los gnatóstomos.

Mientras que algunos investigadores se centran en los embriones, otros estudian las secuencias genéticas. Con la secuenciación del genoma del mixino programada en el Instituto Nacional de Investigación sobre el Genoma Humano de Bethesda, Maryland, la lamprea marina secuenciada ya hasta 6 veces su cobertura y un genoma provisional para el tiburón elefante (un punto de referencia con mandíbula), ya hay gran cantidad de pruebas genéticas que aportan al problema.

Pero tal y como Near halló en su análisis, los datos de la secuencia estándar quizá no sean suficientes. Por ese motivo algunos investigadores analizan los datos moleculares, especialmente los microARN (miARN), trozos de ARN que no se codifican en proteínas pero realizan importantes funciones reguladoras. Los miARN se añaden continuamente a los genomas con eucariotas complejos como los vertebrados y, cuando han encontrado un uso en una red genética, se preservan durante la evolución y raramente se pierden. Esto significa que si los investigadores consiguen identificar qué miARN están presentes –algo similar a lo que haría un morfológico para calificar la presencia o ausencia de una característica física–, podrán averiguar más cosas sobre el momento en el que los dos linajes se bifurcaron que comparando detalladamente otras secuencias genéticas, para lo que se necesitan complejas estadísticas. “No hay ninguna otra serie de datos moleculares como ésta”, aseguró Kevin Peterson, paleobiólogo en el Dartmouth College de Hanover, New Hampshire. “A diferencia de otros datos moleculares, se tratan como un conjunto de caracteres binarios –afirmó–. Los morfológicos pueden manejar estos datos.”



Kinya Ota (delante), con un pescador local, seleccionando peces adultos para obtener embriones de mixinos.

Hace un par de años Peterson comparó las secuencias de miRNA de numerosos organismos, incluyendo invertebrados como erizos de mar y vertebrados como los tiburones. Descubrió una serie extraordinaria de adquisición de miARN hace entre 550 y 505 millones de años: más o menos en la misma época que evolucionaron las características de los vertebrados complejos como la cabeza, las branquias, los riñones y el timo<sup>4</sup>. “En esa época estaba ocurriendo algo increíble en el genoma de los vertebrados”, declaró Peterson. En su opinión, la adquisición de estos miARN podría haber permitido que las células adoptaran sistemas reguladores más complejos y desarrollaran nuevas funciones celulares diferentes. “Sostengo que son esos miARN los que permiten adquirir nuevos tipos de células”, observó.

¿Pero ayudará esto a resolver el problema mixinos-lampreas? Peterson ha trabajado con el paleobiólogo Philip Donoghue, de la Universidad de Bristol en el Reino Unido, en la elaboración de una biblioteca de los miARN presentes en mixinos, lampreas y algunos gnatóstomos vivientes como el tiburón elefante, el pez cebra y el ser humano. “Podemos utilizar su presencia o ausencia para resolver definitivamente, tras 150 años aproximadamente, la relación entre mixinos, lampreas y gnatóstomos, y hallar el patrón de ensamblado del plan corporal de los vertebrados mandibulados”, afirmó Donoghue. Las bibliotecas ya se han secuenciado y analizado, aunque ni Peterson ni Donoghue desvelan el resultado... por ahora.

De momento la historia queda en suspense. Sea cual sea el árbol filogenético al que favorezcan los resultados de Peterson, éste espera que sea algo sobre lo que los morfólogos y los biólogos moleculares puedan reflexionar juntos. “Nuestros datos indican claramente que una respuesta es la correcta –aseguró Peterson entre risas–. Resuelven el debate de forma tajante.” ■

**Henry Nicholls es un escritor freelance que vive en Londres.**

1. Near, T. J. *J. Exp. Zool. B* doi:10.1002/jez.b.21293 (2009).
2. Ota, K. G. & Kuratani, S. *Zool. Sci.* **23**, 403–418 (2006).
3. Ota, K. G., Kuraku, S. & Kuratani, S. *Nature* **446**, 672–675 (2007).
4. Heimberg, A. M., Sempere, L. F., Moy, V. N., Donoghue, P. C. & Peterson, K. J. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **105**, 2946–2950 (2008).
5. Zhu, M. *et al. Nature* **458**, 469–474 (2009).
6. Brazeau, M. D. *Nature* **457**, 305–308 (2009).