

# CHEMISCHE COMMUNICATIE BIJ SLANGEN

[www.mendeley.com/profiles/franck-radnai](http://www.mendeley.com/profiles/franck-radnai)

# THE CHEMICAL COMMUNICATION IN OPHIDIANS

[www.mendeley.com/profiles/franck-radnai](http://www.mendeley.com/profiles/franck-radnai)

Franck Radnai

Chemische verbindingen bestaan op verschillende niveaus in de dierenwereld. Of het nu mensen, fruitvliegen, muizen of andere dieren zijn, bij allen wordt het gedrag geregeld door verschillende mechanismen als gevolg van geurafscheidingen, die hun oorsprong hebben in diverse en gevarieerde geuren (olfactorische communicatie) en in eerste instantie niet opgemerkt worden. Deze geurafscheidingen, bekend als feromonen/ectohormonen of chemische mediators, leiden daardoor tot gedragingen die seksueel, alarmerend, territoriaal, contactueel enz. kunnen zijn. De samenstelling van chemische moleculen die verantwoordelijk zijn voor deze signalen is doorgaans complex, maar over het algemeen kunnen we spreken over proteïne- en lipidecomplexen of wassen, of specifieke verbindingen die in bepaalde excreties (urine, sperma...) of secreties (klieren, bloed,...) kunnen worden gevonden

## **Wat houden deze chemische mediators in bij reptielen, in het bijzonder bij slangen?**

De studie naar chemische verbindingen bij reptielen startte ongeveer tussen 1920 en 1930 met het werk van Baumann en Noble. De meest gedragsmatige opmerkelijke effecten van deze chemische verbindingen kunnen op seksueel niveau worden vastgesteld. Het na overwintering in een grote groep bijeenkomen van exemplaren van het geslacht *Thamnophis* in de lente voorafgaand aan de paring, kan verklaard worden

Franck Radnai

With thanks for Tom Hellebuyck for his help to finalize the document

The chemical communication exists at different levels in the world of animals. Human, drosophila, mice or others, for all the behaviour can be controlled by different mechanisms such as secretions which are at the origin of diverse and various odours (olfactory communication), usually not noticeable at first. These secretions, which are named pheromones / ectohormones or chemical mediators will therefore induce behavior which can be sexual, alarm, territorial, contact, etc. The composition of chemical molecules responsible of these signals is generally complex, but in a general point of view we can speak of protein and lipid complexes or waxes, or specific compounds which can be found in certain excretions (urine, sperm, ...) or secretions from glands, blood, etc.

## **What about these chemical mediators in reptiles, and especially in Ophidians?**

The study of chemical communication in reptiles started between 1920s and 1930s with the work of Baumann and Noble. The most remarkable behavioral effects of this chemical communication can be observed at the sexual level. The groupings out of the hibernaculum at spring in some species of *Thamnophis* prior to courtship are induced in particular by secretions of contact present on the skin of snakes. The detection of these molecules is permitted by



*Boia irregularis*. Foto/Photo: Raymond Hoser.

door deze geurafscheidings. Het vomeronasaal orgaan (beter bekend als het orgaan van Jacobson) vangt moleculen op waarvoor de tong reukstoffen uit de lucht haalt, maar ook uit verschillende substraten. We zien vervolgens een snel en regelmatig gebruik van de gevorkte tong om geuren naar het orgaan van Jacobson te brengen, waar ze prikkels opwekken die geanalyseerd en geïnterpreteerd worden ter hoogte van de hersenen. Het gebruik van de tong wordt geactiveerd in verband met het achterhalen van chemische signalen van het olfactorische systeem en visuele en thermische prikkels (Saviola et al., 2012).

Het orgaan van Jacobson heeft meer functies behalve het zoeken naar voedsel, zoals ook het herkennen van signalen. De gevoeligheid van de analyse maakt het voor de slang mogelijk om de exacte richting te volgen van een specimen naargelang de plaats waar het chemische signaal vandaan komt.

Wat moet worden onthouden, is dat de chemische verbindingen bij slangen meer gericht zijn op seksuele aspecten, het zoeken naar prooien en het opmerken van roofdieren. Andere functies zijn moeilijker vast te stellen in gevangenschap omdat deze veelal uitgelokt worden door natuur-

the vomeronasal organ (Jacobson's organ) to which the tongue transmits odoriferous particles dispersed in the air or deposited on different substrates. We can then observe a fast and regular use of the forked tongue to bring odors to the Jacobson's organ to be analyzed and interpreted after sending stimuli to the brain. The use of tongue is activated in relation with detection of chemical cues by the olfactory system, visual and thermal stimulation (Saviola et al., 2012).

Besides the use of the Jacobson's organ in olfactory functions such as the detection of food, it is also used for recognition of signaling cues. The sensitivity of the analysis allows the snake to follow the exact direction taken by the specimen by detecting the origin of the chemical signals that are deposited.

For the breeder, the thing to retain is that opihidian chemical communication is more focused on sexual aspects, looking for preys and predator detections. Other parameters would be difficult to observe in captivity because these are generally induced by en-



*Dendroaspis polylepis*. Foto/Photo: Emanuele Cimatti

lijke omgevingsinvloeden. Territoriaal gedrag<sup>3</sup> dat gestuurd wordt door feromonen zoals gekend bij sommige slangensoorten (*Ophiophagus hannah*, *Dendroaspis polylepis*) lijkt zeer zeldzaam, of komt voort uit de eerder gegeven aspecten. Bij veel soorten overheersen voelbare signalen, maar de uitgelokte reacties kunnen op zijn minst nog steeds worden gegenereerd uit chemische moleculen die aanwezig zijn op de huid van dieren of in uitscheidingen. Deze uitscheidingen kunnen ook een rol spelen bij bijeenkomen (zie *Thamnophis*) en geslachtsherkenning tijdens de voortplanting; het wordt ook aangehaald bij het defensieve aspect, zoals het vrijstellen van excreties ter hoogte van de cloacaklieren, die tot een vieze geur leidt (zie *Colubridae*).

Deze chemische signalen zijn op een andere manier ook aangetoond in de relatie tussen mens en dier bij bijtongelukken zonder het uitlokken van agressie bij de slang<sup>4</sup>. Er werd vastgesteld dat 80% van de beten van *Boiga irregularis* gebeurde bij mensen die slapen, dus zonder directe aanleiding. Uit onderzoek is gebleken dat onze huid een chemisch molecule bevat die aantrekkelijk is voor deze soort en een bijtreflex uitlokt voorafgaand aan het opeten van de prooi. Een recente Amerikaanse studie<sup>9</sup> toonde de aantrekkelijke en aanlokkelijke moleculen voor deze slang aan. Er zijn experimenten gedaan om deze chemische molecule kunstmatig te produceren, opdat die kan helpen bij de bestrijding van *Boiga irregularis*. Deze slang wordt namelijk als een invasieve soort op het eiland Guam beschouwd en heeft daar een nefaste invloed op de lokale vogelpopulatie.

### **Is het bestaan van chemische signalen interessant voor de slangenhouder voor het kweken van slangen?**

Het kan moeilijk zijn om het gebruik van chemische moleculen waar een luchtje aan zit te herkennen, behalve tijdens de voortplantingsperiode. Seksueel gedrag bij slangen gaat immers gepaard met specifieke

vironmental elements present in the natural habitat of snakes. Territorial behaviour<sup>3</sup> based on pheromones detected by certain snake species (*Ophiophagus hannah*, *Dendroaspis polylepis*) seems very rare or dictated by aspects previously given.

In many snake species the tactile signals predominate, but the provoked reactions can be induced at least by chemical molecules present on the skin of animals or in excretions. These chemical mediators may also play a role of aggregation (*cf. Thamnophis*) and discrimination during reproduction, and they are also involved in defensive aspects such as those present in excretions from the cloacal glands which can produce a foul odor (*cf. Colubridae*).

In another way, these chemical signals have also been demonstrated in human-animal interactions during accidents of bite without direct provocation for the snake to bite. It has been documented that 80% of bites in humans are inflicted during sleep by *Boiga irregularis* without any provocation<sup>4</sup>. It was demonstrated that our skin contains a chemical molecule which is palatable for the latter snake species and is responsible to induce a biting reflex before starting to eat. A recent American study<sup>9</sup> characterized the attractive and palatable chemical molecules for this species in order to synthesize an artificial chemical molecule to help against the expansion of *Boiga irregularis* because the latter snake species is considered as an invasive species in Guam endangering local avifauna.

### **How can the breeder appreciate the presence of a chemical signals towards snake breeding?**

Besides during the reproductive period, it can be difficult to appreciate the use of chemical odoriferous molecules in captive snakes. Obvious signs such as the use of the tongue and a specific tactile behavior indicate sexual recognition in snakes. If you look carefully at snakes, however, some

bewegingen van de tong en tactiel gedrag. Maar als je goed kijkt naar je dieren, kunnen sommige gedragingen informatie geven over het gebruik van chemische signalen buiten de paarperiode. Enkele voorbeelden:

- Het dier weigert zijn omgeving te verlaten, als we het uit zijn terrarium willen halen en wanneer het voor de opening van het terrarium wordt gehouden, gaat het zonder aarzeling naar binnen (behalve als het terrarium grondig is schoongemaakt). Dit is vooral te zien bij sommige giftige soorten als *Sistrurus*, *Crotalus* enz.
- Tijdens het voortbewegen: het dier valt op het substraat door het forceren van de wrijving tussen het lichaam en het substraat.
- Als er in het terrarium een zogenaamde schuilplaats staat, waar het dier zonder aarzelen inkruipt.
- Als exemplaar A in het terrarium zit en exemplaar B wordt erbij gezet, waarbij exemplaar A dan meestal met exemplaar B contact gaat maken door te tongelen en deze aan te raken. Exemplaar B is nerveus en probeert uit zijn nieuwe omgeving te ontsnappen. Na een paar uur zal het een zekere kalmte hervinden.
- Bij sommige slangensoorten is het moeilijk om ze doorsnee voer (muisen en ratten) te doen accepteren. Dit probleem kan omzeild worden door aan het knaagdier een kunstmatige of natuurlijke geur van een natuurlijke prooi toe te voegen door deze er tegenaan te wrijven of een deel van deze prooi eraan te bevestigen.

Op basis van deze voorbeelden van waarnemingen van het gebruik van chemische mediators bij slangen blijkt dit erg nuancegevoelig te zijn. Het zou interessant zijn om gedragswaarnemingen hierover te ontwikkelen, met name om jonge slangen zonder stress snel aan het eten te krijgen en kannibalistisch gedrag te doen afnemen bij sommige soorten. Het is voor ons als hobbyist

elements may give information on the use of chemical signaling outside of the reproductive period. A few examples:

- the animal refuses to leave its environment when we desire to take it out of its terrarium and when it is held in front of the entrance of the terrarium it crawls inside without hesitation (except if the terrarium has been cleaned or disinfected). This is particularly notable in some venomous species such as *Sistrurus*, *Crotalus*, etc.
- Sometime during locomotion, the animal seems to crash on the substrate by forcing the friction contact between his body and the substrate,
- if the terrarium has a hiding place, the animal goes into this shelter without hesitation,
- if a specimen A is in his terrarium and if a specimen B is introduced, the specimen A usually goes to meet the specimen B in peace to recognize this second specimen flicking the tongue and even by making contact with the tongue tips. The specimen B is nervous and will try to escape this new environment. It will restore a certain placidity after a few hours,
- in some animals, starting to accept routinely available prey items (mice and rats) can be difficult. This problem can be bypassed by covering the rodent with an artificial or natural odor trough rubbing the prey item with a natural prey or fixing a piece of natural prey onto the offered item.

Based on these examples, it appears that observing the use of chemical mediators in ophidians can be subtle. It could be interesting to make observations of behavior in this domain, in particular to stimulate fast spontaneous food intake in young snakes without stress and to decrease cannibalistic behavior certain snake species.

moeilijk om de eerste stap in deze test te zetten. Twee aspecten kunnen beoordeeld worden: voedingsgedrag en gedrag tussen individuen.

### Voedselaspect

Het belangrijkste is het realiseren van een eenvoudige methode om de geur van de prooien zodanig aan te passen, dat onze slangen deze accepteren. Het idee zou zijn om wat chemische moleculen uit hun voorkeursprooi te halen en die toe te voegen aan de klassieke voederdieren zoals muizen. Het is moeilijk om te zeggen welke verbindingen moeten opgezuiverd worden, omdat informatie hierover erg zeldzaam is of niet eens bestaat. Vaak zijn de geurende substanties aanwezig op de huid, femorale / cloacaporiën of in urine en mest van de prooien. Als we een gekko als voedselondersteuning nemen (deze prooi wordt vaak als eerste voedsel gezien), dan zijn er drie publicaties die in het bijzonder interessant zijn: Robert T. Mason et al. (1990) 'Sex recognition in the leopard geckos, *Eublepharis macularius*' (Sauria: Gekkonidae) possible mediation by skin-derived semiochemicals, C. Michael Bull et al. (1998) Olfactory discrimination in scat-piling lizards, Carlos A. Escobar et al. (2001) Chemical composition of precloacal secre-

To our level of naturalist hobbyist it could initially be difficult to make this type of observations. For this reason two aspects could be focused on: feeding behavior, and inter-specimens behavior.

### Food aspect

The principal goal is to realize an easy method which permits us to make a palatable enhanced prey items which are easily accepted by our snakes. For this purpose some chemical molecules present on a predilection prey should be extracted and this extract should be brought onto standard prey items such as mice. It is difficult to determine the specific compounds to should be isolated and used because of the lack of knowledge on this topic. But often the odoriferous particles originate from or are present on the skin, femoral or cloacal pores, feces or urine, etc. To illustrate this, we can quote 3 publications about gekko (an interesting information because this animal is often seen as first food): Robert T. Mason et al. (1990) Sex recognition in the leopard geckos, *Eublepharis macularius* (Sauria: Gekkonidae) possible mediation by skin-derived semiochemicals, C. Michael Bull et al. (1998) Olfactory discrimination in scat-piling lizards, Carlos A. Escobar et al. (2001) Che-



*Echis carinatus pyramidum*. Foto/Photo: André Weima.



*Sistrurus miliarius barbouri*. Foto/Photo: André Weima.

tions of *Liolaemus* lizards. Samengevat bevat de huid van gekko's een combinatie van dierlijke oliën en vetten, wassen en sterolen (Alberts et al., 1992).

### **Welke producten maken iets smakelijk voor slangen?**

De mogelijkheid bestaat om chemische verbindingen of onderdelen daarvan te extraheren met oplosmiddelen. Maar ook hier blijft het moeilijk om dit te doorgronden, omdat we het hebben over een biochemische samenstelling van polaire of apolaire oplosmiddelen enz. Na wat onderzoekwerk en het combineren van verschillende informatiebronnen en met name de winningsmethode die wordt toegepast in de parfumerie, komen drie oplosmiddelen in aanmerking: pure ethanol, aceton en hexaan. Met de laatstgenoemde moet zorgvuldig worden omgegaan, omdat de temperatuur bij fusie extreem laag is met een grote verdamping bij kamertemperatuur, en bijgevolg het risico van brandbaarheid hoog is. Volgens de literatuur over oplosmiddelen worden aceton en hexaan vaak gebruikt en zelfs gecombineerd om een maximum van de te extraheren verbindingen te verkrijgen. Met aceton lossen veel organische en minerale stoffen op en hexaan reageert met wassen, vetten en harsen. Ethanol heeft tot slot ook

chemical composition of preloacal secretions of *Liolaemus* lizards. In summary: in gekkos it seems that the skin of these lizards contains a complex of animal oils and fats, waxes and sterols (Alberts et al., 1992).

### **But what products are the origin of palatability in snakes?**

This leaves the option to extract these chemical compounds individually or in total by using solvents. But again, it can be difficult to understand about the complexity of the biochemical cocktail of polar or apolar solvents, etc.

So after some research and combining different information sources and in particular the methods of extraction which are used in perfumery, we can conclude that three solvents would be suitable: absolute ethanol, aceton and hexane. The last of these solvents must be used carefully because the temperature of fusion is extremely low with an excessive evaporation at ambient temperature and then the risk of inflammability is very high. The literature on solvents shows that aceton and hexane are often used and sometimes combined to extract a maximum of compounds. Aceton is able to solve various organic or mineral compounds, hexane has an action on waxes,

effecten op vetten, maar vooral bij droge monsters. Aceton en ethanol kunnen met water gemengd worden, maar de tweede alleen met organische oplosmiddelen.

De bibliografie bevat een referentie van een mix van 1 deel aceton met 2 delen hexaan en 5 delen hexaan met 2 delen ethanol. Het wassen van vervellingen of weken met ethanol komt hiervoor in aanmerking. De producten kunnen geconcentreerd worden aan het eind van de extractie na evaporatie van het solvent en vervolgens gedeponeerd worden op de prooi om te controleren of het werkt. Een kleine hoeveelheid is voldoende, omdat de geëxtraheerde producten geconcentreerd zijn en dit een zeer snelle reactie van de slang uitlokt.

De toxiciteit van lage concentraties aan oplosmiddelen zoals ethanol en aceton is verwaarloosbaar. Deze producten zijn immers van nature al aanwezig in het organisme en worden in zeer kleine hoeveelheid gebruikt; daarom zijn deze bruikbaar om testen uit te voeren. Wat betreft de andere oplosmiddelen is toxiciteit veel waarschijnlijker. Daarom is het aan te raden deze producten te reserveren voor gedragstesten, waarbij de producten op inerte carriers, andere dan voedseldieren aangebracht worden.

#### **Relationele aspecten tussen monsters**

De vorige methode kan gebruikt worden met behulp van materiaal dat zelf gemaakt kan worden en Olfactometer<sup>10</sup> heet (Bijlage 1). In dit apparaat is veel plaats voor de slang om rond te kruipen en kan van enkele kuipjes met te testen stalen worden voorzien; er bestaat een ander, moeilijker te construeren model, namelijk de vierarmige olfactometer. Het zal nodig zijn om het gedrag van het dier te observeren (aanwezigheid en timing in het verslag met elk getest monster).

fats and resins. Ethanol has an effect on lipids too but would be preferred for dry samples. Aceton and ethanol are the only ones which can be mixed with water. A mix of 1 part aceton with , 2 parts hexane or 5 parts hexane with 2 part ethanol has been described in the literature as references for extraction. There is a possibility to make washings or macerations of moult with ethanol. At the end of the extraction, the products could be concentrated by evaporation of solvent and deposited on the food to verify the efficacy (a very small quantity is enough because the extracted products are concentrated and if they are active the reaction of the animal would be very fast). The toxicity of solvents as ethanol and aceton, if well evaporated, is negligible because these products are naturally present in organism and because they are used here in very small quantity; we will use them for tests with food. For the other solvents, it is not the same thing and toxicity is apparent so it will be preferable to reserve them for behavioral test where the products will be deposited on non-food inert carriers.

#### **Relational aspect between specimens**

The previous method can be used here with help of a apparatus which can be easily made and is named Olfactometer<sup>10</sup> (Annex 01) (a lot of space to permit to animal to move around and some wells are placed with samples to test; there exist another model, 4 arm olfactometer, a little more difficult to make). It will be necessary here to do an observation of the behaviour of the animal (attendance and timing in report with each samples tested).

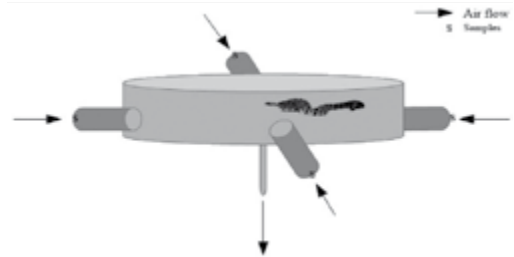
In conclusion, we must remember that actually with the information currently available on the subject, the question of chemi-

We moeten tot slot bij de beschikbare informatie over dit onderwerp onthouden dat het vraagstuk van chemische mediators in slangen grotendeels onontgonnen blijft en dat veel onderzoek moet worden gedaan. Niets weerhoudt ons er echter van om te graven in dit thema alvorens we meer leren uit onderzoek gedaan door professionals. We zullen ons vooralsnog tot eenvoudige methodes moeten beperken die ons wat informatie geven als we problemen bij de nakweek tegengekomen.

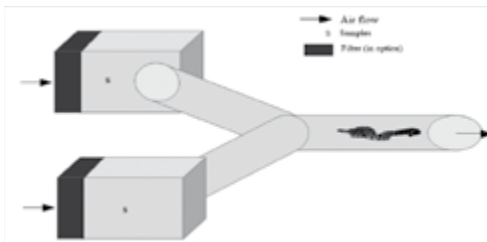
## Annex 1



*Olfactometer: ter hoogte van het oppervlak waar de slang kruipt zijn 4 wells verspreid en deze bevatten elk een te testen staal. Dit is een passieve methode. / Olfactometer well : on the surface where the animal moves, 4 wells are dispersed and the samples to test are placed into them. This is a passive method.*



*Een vierarmige olfactometer: identiek aan vorige, maar moeilijker te maken. / A 4 arm olfactometer, same thing as the 2 arm olfactometer but less easy to make*



*Een tweearmige olfactometer, in tegenstelling tot de vorige is dit een actieve methode die gebruik maakt van een ventilator die de lucht in twee richtingen blaast die daarna samenkomen. Een filter met kool kan hieraan toegevoegd worden. / A 2 arm olfactometer, in contrast to the first this is an active method which uses a ventilator to force the air to pass into two ways which become one. A filter with coal can be used upstream the samples to test.*





## Literature

1. Tritram D. Wyatt (2003) – Pheromones and animal behaviour – Communication by smell and taste. Cambridge University Press, ISBN 13 : 978-0-511-07734-0 eBook,
2. Laurie J. Vitt & Janalee P. Caldwell (2009) – Herpetology, 3rd Edition. Academic Press, ISBN : 978-0-12-374346-6,
3. Wen-San Huang, Harry W. Greene, Tien-Jye Chang, Richard Shine (2011) – Territorial behavior in Tawanese kukrisnakes (*Oligodon formosanus*). University of California, Berkeley, CA,
4. Michael J. Greene, Shantel L. Stark, and Robert T. Mason (2002) – Predatory response of brown tree snakes to chemical stimuli from human skin. *Journal of Chemical Ecology*, Vol.28 , N°12,
5. Kenneth V. Kardong and Paul R. Smith (1991) – The role of sensory receptors in predatory behavior of the brown tree snake, *Boiga irregularis* (Squamata : Colubridae). *Journal of Herpetology*, Vol.25, N°2, pp. 229-231 ,
6. Björn Lardner, Julie A. Savidge, Gordon H. Rodda and Robert N. Reed (2009) – Prey preferences and prey acceptance in Juvenile brown tree snakes (*Boiga irregularis*). *Herpetological Conservation and Biology* 4(3), pp. 313-323
7. John A. Shivik, William G. Wright and Larry Clark (2000) – Seasonal variability in brown tree snake (*Boiga irregularis*) response to lures. USDA National Wildlife Research Center, University of Nebraska, 7pp.,
8. Lisa C. Mason (2008) – Scented guide ropes as a method to enhance brown tree snake (*Boiga irregularis*) trap capture success on Guam. Thesis,
9. Julie A. Savidge (2012) – Purifying and testing gecko skin compounds, a promising attractant for small brown tree snake. Colorado State University,
10. Les odeurs dans le règne animal, Olfactomètre et phéromones : <http://odeursetparfums.blogspot.fr/p/b-le-regne-animal.html>
11. Matthew A. Barbour (2012) – Consequences of abiotic and biotic factors on rattlesnake foraging behavior. Thesis.
12. Rulon W. Clark (2004) – Timber rattlesnakes (*Crotalus horridus*) use chemical cues to select ambush sites. *Journal of Chemical Ecology*, Vol.30, N°3,
13. David Duvall, David Chiszar, William K. Hayes, Janet K. Leonhardt and Matthew J. Goode (1990) – Chemical and behavioral ecology of foraging in prairie rattlesnakes (*Crotalus viridis viridis*). *Journal of Chemical Ecology*, Vol.16, N°1,
14. William E. Cooper Jr. (1990) – Vomeronfaction and vomodor. Letter to the Editor, *Journal of Chemical Ecology*, Vol.16, N°1,
15. Robert T. Mason and Rockwell Parker (2010) – Social behavior and pheromonal communication in reptiles. *J. Comp. Physiol. A*, 196,
16. Anthony J. Saviola, Valerie J. McKenzie and David Chiszar (2012) – Chemosensory responses to chemical and visual stimuli in five species of colubrid snakes. *Acta Herpetologica* 7(1),
17. Rulon W. Clark, William S. Brown, Randy Stechert and Harry W. Green (2012) – Cryptic sociality in rattlesnakes (*Crotalus horridus*) detected by kinship analysis. *Biol. Lett.* Published online 22 February 2012,
18. Gideon Bevelander, Tamara L. Smith and Kenneth V. Kardong (2006) – Microhabitat and prey odor selection in the foraging pigmy rattlesnake. *Herpetologica*, 62(1),
19. Wendy R. Alving and Kenneth V. Kardong (1996) – The role of the vomeronasal organ in rattlesnake (*Crotalus viridis oreganus*) Predatory behavior. *Brain Behav. Evol.*, 48,