



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA

Laboratorio de Ecología de la Conducta

“Uso del sentido magnético en *Xenotoca variata*”

TESIS

Que para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

Presenta:

Med. María Socorro Arenas García

Director de tesis:

Dr. Alejandro Moyaho Martínez

Puebla, Pue. Enero 2022

Le dedico este trabajo a mis padres Irma y Gerardo, por darme la vida y acompañarme a cada paso; a mis hermanos Monse y Co, por disfrutar la vida conmigo y por motivarme a vivirla. Y lo dedico especialmente a los doctores Alejandra Díaz y Óscar Juárez, por su paciencia inagotable y su cariño inmensurable.

Este trabajo es para ustedes y gracias a ustedes.

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a mi familia por apoyarme en todas las decisiones que he tomado, por ayudarme a creer en mí y por haberme fomentado la necesidad de aprender. Espero nunca dejar de sorprenderlos.

Le agradezco a Oka y a Talty por acompañarme física, emocional y profesionalmente durante todos estos meses. Gracias por explicarme con tanta paciencia y por enseñarme el camino. Sin su apoyo este trabajo habría sido aún más difícil y no sería lo que hoy presento.

Le agradezco al Dr. Alejandro Moyaho todo el tiempo que dedicó a mi formación profesional. Gracias por haberme guiado estos años, sin importar las circunstancias ni la pandemia. Gracias por motivarme a ser mejor estudiante y por ayudarme a pensar por mi misma.

Le agradezco a mis compañeros de laboratorio: Evelyn, Natalie, Adzu, Daniel, Astrid, Gregory, Paola, Gil, Gaby, Layda y Francisco, porque a pesar de la pandemia y de la distancia, seguimos aprendiendo juntos y acompañándonos.

Le agradezco a José Luis, por el apoyo físico y moral durante la fase de experimentos. Gracias por todos tus consejos, tus ideas y tu disposición. Llevo en mi corazón cada conversación y cada broma.

Le agradezco a mis mejores amigos: Josué, Karla, Citlaly, Luisa, Alejandra, Ximena, Ricardo y Fátima, por acompañarme todos estos años y por animarme a seguir. Gracias por estar pendiente del progreso de este escrito, por saber cuándo dejar de preguntar por el mismo y por confiar en que algún día terminaría.

Le agradezco a mi compañero Irvin, por haber sido mi equipo durante dos años y un amigo en quien apoyarme los días que tuve experimento. Gracias por jugar conmigo.

Le agradezco a mis revisores de tesis y a todos mis profesores en el Instituto por compartir su conocimiento conmigo, por ayudarme a entender y aprender. Su tiempo y su experiencia fueron invaluableles para mi formación.

Le agradezco a todas las personas que en estos dos años me escucharon hablar del tema y me regalaron un poco de lo mas preciado que tienen: su tiempo. Cada minuto que me permitieron hablar del tema y explicarlo, me ayudaron a entenderlo mejor.

Finalmente, agradezco a las instituciones que me permitieron realizar este trabajo, en particular al apoyo del CONACYT mediante la beca para maestría Convocatoria Becas Nacional (Tradicional) 2019 - 2 Primer Periodo y al Instituto de Fisiología.

RESUMEN

La navegación es un comportamiento de algunas especies de animales que depende de la información sensorial que son capaces de percibir, de las estrategias de orientación que utilizan y de sus habilidades de aprendizaje y memoria. Varias especies de peces poseen la capacidad de percibir información sensorial del campo magnético terrestre; en otras su presencia solo se sospecha. Con esta tesis busqué mostrar que los peces *Xenotoca variata* pueden percibir el campo magnético terrestre y utilizarlo para hallar fuentes de recursos. Desde luego, también es posible que utilicen pistas visuales, o una combinación de ambas fuentes de información sensorial. Para poner a prueba estas hipótesis entrené a peces para aprender y retener la ubicación (fija/móvil) de una recompensa alimenticia y una pista visual dentro de un laberinto de cuatro brazos, orientados éstos de acuerdo con los puntos cardinales. Después les apliqué pruebas de orientación espacial para que buscaran la recompensa alimenticia (ahora ausente) en función de la ubicación (fija/móvil) de la pista visual. Los resultados del análisis estadístico muestran que los peces *X. variata* tienen la capacidad de utilizar pistas visuales como puntos de referencia para orientarse de forma allocéntrica respecto a una fuente de alimento. Los resultados también muestran que los peces tienen una preferencia por dirigirse y permanecer en dirección oeste y sur, lo que sugiere que sí poseen un sentido magnético. Estudios posteriores podrían estar encaminados a estudiar la relevancia ecológica, que sin duda tiene esta tendencia de orientación espacial.

Contenido

1. SUSTENTO TEÓRICO	1
1.1. Introducción	1
1.2. Sistema de orientación y navegación en peces	2
1.2.1. Procesamiento de la información espacial	4
1.2.2. Estrategias de orientación en laberintos.....	5
1.3. Sentido magnético en los animales	7
1.3.1. Sentido magnético en los peces.....	9
1.4. Subfamilia Goodeinae	11
1.4.1. <i>Xenotoca variata</i>	12
2. HIPÓTESIS Y PREDICCIONES	14
2.1. Hipótesis del sentido magnético	14
2.2. Hipótesis de las pistas visuales	15
2.3. Hipótesis de las pistas combinadas	16
3. OBJETIVO GENERAL	18
3.1. Objetivos particulares.....	18
4. MATERIALES Y MÉTODOS	19
4.1. Introducción	19
4.2. Animales de estudio	20
4.3. Pecera experimental.....	22
4.4. Diseño experimental.....	24

4.5. Procedimiento experimental.....	25
4.5.1. Fase de aclimatación.....	25
4.5.2. Fase de introducción.....	26
4.5.3. Fase de aprendizaje.....	28
4.5.4. Fase de prueba.....	32
4.6. Análisis estadístico de los datos	36
5. RESULTADOS	47
5.1. Características de los peces y el agua.....	47
5.2. Efecto de los puntos cardinales en la frecuencia de visitas a las cámaras del laberinto experimental	50
5.3. Efecto de los puntos cardinales en la duración de las visitas a las cámaras del laberinto experimental	53
5.4. Diferencias entre los tipos de entrenamiento en la duración de visitas a las cámaras del laberinto experimental.....	56
5.5. Efectos de los tipos de entrenamiento en la duración de visitas a las cámaras del laberinto experimental.....	59
5.5.1. Efecto del tipo de entrenamiento con pistas combinadas.....	59
5.5.2. Efecto del tipo entrenamiento con puntos cardinales.....	64
5.5.3. Efecto del tipo de entrenamiento con posiciones invertidas.....	68
5.5.4. Efecto del tipo de entrenamiento control.....	70
6. DISCUSIÓN	74
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	80

1. SUSTENTO TEÓRICO

1.1. Introducción

Los animales reaccionan a los estímulos provenientes de su entorno, pero sobre todo tienen la capacidad de interactuar con él. Pueden identificar, según sus capacidades sensoriales, distintos estímulos en el ambiente, tomar decisiones y modificar su comportamiento en concordancia (Wyatt, 2017). Integran la información que reciben sobre un objeto en relación con otros puntos de referencia en un mapa cognitivo, que luego utilizan para idear estrategias de movimiento (Poucet, 1993). Esta capacidad que tienen los animales de asimilar y organizar la información espacial en una representación mental del entorno, se conoce como cognición espacial (Poucet, 1993). Y se sabe que ella tiene una participación condicionante en su comportamiento (Fukumori y cols. 2010).

La evidencia experimental existente sugiere que son numerosas las especies de animales que utilizan el campo magnético terrestre para orientarse (Lohmann, 2011). Al respecto hay estudios observacionales que sugieren que peces como el salmón, la trucha, el tiburón y la raya (*Teolosti* y *Elasmobranchii*) usan el campo magnético terrestre para orientarse durante la navegación de largas distancias (Walker, 2011). También hay estudios experimentales realizados en condiciones de laboratorio, que han aportado evidencia de la existencia del sentido magnético en diversas especies de peces dulceacuícolas como el atún (*Thunnus albacares*), la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y el pez cebra (*Danio rerio*)

(Kyrlov, 2016; Opisova, 2016). Estos hallazgos sugieren que otras especies de peces dulceacuícolas podrían también tener un sentido magnético. Por ejemplo, existen estudios preliminares en *Xenotoca variata* que así lo sugieren (Fascinetto-Zago, 2018). Sin embargo, se desconoce si estos peces en particular utilizarían tal capacidad para navegar en búsqueda de fuentes de recursos limitados (*e.g.* alimento). La tesis que desarrollé tiene por objetivo principal determinar si en efecto *X. variata* usa el sentido magnético para localizar fuentes de recursos, o bien pistas visuales. En cualquier caso es importante conocer las estrategias de orientación que la especie podría estar utilizando para buscar recursos limitados.

1.2. Sistema de orientación y navegación en peces

Desde una perspectiva evolutiva se consideraba que los peces tenían el sistema nervioso central más primitivo, formado por circuitos neuronales simples, incapaces de llevar a cabo procesos cognitivos (Salas y cols. 2008). Hoy en día, un número creciente de estudios en diversas especies han mostrado que los peces cuentan con habilidades de aprendizaje y memoria, las cuales son una indicación de la existencia de capacidades cognitivas (Braithwaite, 2011; De La Rosa, 2020; Salena y cols. 2021). La cognición es el proceso mediante el cual un animal es capaz de pensar, aprender y recordar información (Braithwaite, 2011). La presencia de esta capacidad tiene sentido evolutivo, pues ha sido esencial para lograr la habilidad de navegar que muchas especies de peces poseen (Burt de Perera, 2011).

El tipo de hábitat (*e.g.* ríos, lagos, mares) define los desafíos de navegación a los que se enfrentan los peces; en cualquier caso el desafío consiste en orientarse de manera eficiente en

un plano espacial con tres dimensiones. La orientación es un mecanismo por el cual un individuo se posiciona en una dirección en particular—no necesariamente de una manera consciente—en respuesta a un estímulo externo (Binder, 2011). La navegación, en cambio, es el proceso por el cual un individuo establece una ruta para alcanzar un objetivo que no puede percibir directamente; lo hace calculando su posición inicial en relación al objetivo (Walker, 2011). Los peces cuentan con mecanismos distintos de orientación, según sus necesidades de movilidad y la información espacial que reciben del entorno. Por ejemplo, peces de la familia Salmonidae y la trucha arcoíris, los cuales migran distancias largas, obtienen información espacial de puntos de referencia celestes, como el sol o las estrellas, del campo magnético terrestre e incluso de pistas olfatorias (Putman, 2014). Los peces utilizan estrategias distintas de orientación para navegar, como lo son la orientación egocéntrica y la orientación aloécéntrica (Burt de Perera, 2011). La primera ocurre cuando el pez memoriza una secuencia de movimientos centrados en sí mismo para elegir una dirección (*e.g.* girar hacia la derecha o izquierda). La segunda cuando el pez usa puntos de referencia del entorno (*e.g.* rocas o plantas) y los integra en su memoria, como un mapa espacial que usa luego para orientarse. Asimismo, para enfrentar el desafío de la orientación en las tres dimensiones del ambiente acuático, los peces con vejiga natatoria cuentan con un tipo de información adicional: la presión hidrostática. Con ella, éstos peces censan los cambios de presión para navegar en el eje vertical de la columna de agua (Burt de Perera, 2011).

1.2.1. Procesamiento de la información espacial

Los peces basan su capacidad de navegar en un proceso cognitivo—un acto que asumo es inconsciente—a través del cual reciben e integran la información espacial del entorno para establecer la mejor estrategia de orientación. Braithwaite (2006) ha clasificado al proceso cognitivo de los peces en las fases siguientes: (i) la de percepción, en la cual se detecta y asimila la información a través de los sistemas sensoriales; (ii) la de aprendizaje, en la cual se procesa la información y, (iii) la de memoria, en la cual se consolida el aprendizaje y forma una base para guardar la información y accederla posteriormente.

Existen muchas fuentes (*i.e.* pistas) de información espacial producidas por el entorno tales como la radiación electromagnética, temperatura, electricidad, el sonido, olor, las vibraciones, entre otras (Schmidt-Nielsen, 1997). Peces como los de arrecife de coral cuentan con sistemas sensoriales como el auditivo, con el cual captan señales acústicas que les sirven para orientarse. El sistema olfatorio sirve a los peces para orientarse a través de una cadena de pistas olfativas, en tanto que el visual les provee información cuya eficiencia dependerá del nivel de absorción de la luz y la profundidad del cuerpo de agua (Braithwaite, 2011). Asimismo, los peces cuentan con un sistema sensorial desarrollado específicamente para la vida bajo el agua: el sistema mecanosensorial de la línea lateral. Éste se compone de mecanoreceptores que detectan el movimiento a través de sensores que miden la corriente del agua y sus cambios de velocidad (Burt de Perera, 2010).

Los animales analizan la información recibida a través de sus sistemas sensoriales utilizando un proceso conocido como discriminación, por medio del cual comparan y distinguen los estímulos (Braithwaite, 2006). La información así procesada se registra en la memoria, que es la capacidad que tienen los animales de recordar información previamente almacenada (Braithwaite, 2011). La retención es uno de los componentes esenciales de la memoria, pues determina el lapso de tiempo que la información perdura. Al respecto, se han identificado dos tipos principales de memoria en los animales: (i) la memoria a corto plazo, en la cual un animal recuerda eventos simples durante un periodo breve de tiempo y (ii) la memoria episódica, por medio de la cual un animal recuerda el lugar y momento de un evento específico (Braithwaite, 2006). La habilidad para generar comportamientos oportunos como resultado de la experiencia (*i.e.* aprendizaje) es común en especies que viven en ambientes cambiantes (Papas, 1986; Smee, 2003). La evidencia acumulada es consistente con el hecho de que los peces que viven en ambientes “estables” y con pocos cambios desarrollan una memoria de largo plazo. En cambio, los peces que viven en lugares que experimentan modificaciones constantes en el ambiente, suelen olvidar rápidamente las habilidades previamente aprendidas (Braithwaite, 2011).

1.2.2. Estrategias de orientación en laberintos

Las pruebas de habilidad espacial como las realizadas en laberintos se emplean comúnmente para investigar procesos de orientación y aprendizaje en los peces (Salas y cols. 2008; Burt de Perera, 2011; Pouca, 2017). Los peces exploran frecuentemente un ambiente novedoso (*e.g.* un laberinto) para adquirir la información espacial del lugar, que luego utilizan

para elegir una estrategia de navegación. La presencia de puntos de referencia visuales dentro o fuera de un laberinto puede servir para tal fin. Salas y colaboradores (2008) han sugerido que los peces pueden de hecho retener la ubicación de pistas visuales en un tipo de mapa espacial, incluyendo su orden de aparición (Reese, 1989; Burt de Perera, 2004). Sin embargo, hay casos en los que los peces utilizan otro tipo de información para orientarse. Por ejemplo, Lucan-Xiccato (2016) descubrió que la estrategia que los guppies (*Poecilia reticulata*) siguen para navegar en un laberinto complejo, sin pistas visuales, se basa en el aprendizaje de movimientos egocéntricos con seis giros consecutivos. No obstante esa aparente especialización, los peces en general pueden ser entrenados a través de técnicas de condicionamiento instrumental—una forma de aprendizaje asociativo—para que aprendan a navegar en un laberinto empleando una estrategia de orientación específica. Con tal propósito suele emplearse alimento como una recompensa para reforzar las respuestas correctas de los peces. Por ejemplo, Sison y colaboradores (2009) entrenaron exitosamente a dos grupos de peces cebra para encontrar una recompensa alimenticia utilizando tal condicionamiento. Uno de los grupos aprendió a encontrar la recompensa reteniendo un punto de referencia visual dentro de un laberinto de cuatro brazos. El otro grupo aprendió a encontrarla asociando su ubicación con puntos de referencia fuera del laberinto. Con este tipo de estudios se ha podido conocer más acerca de las capacidades cognitivas de una especie, así como de sus motivaciones y preferencias de recursos (Dunlop y cols. 2006).

1.3. Sentido magnético en los animales

La Tierra genera un campo magnético que se comporta como un imán gigantesco debido a la composición de su núcleo. Este comportamiento determina el uso de los puntos cardinales como una referencia geoespacial de acuerdo con la dirección de los polos opuestos. La intensidad del campo magnético cambia del ecuador a los polos, lo que provoca una variación geográfica según la latitud terrestre (Krylov, 2016).

La evidencia experimental sugiere que los animales de algunas especies utilizan el campo magnético terrestre para orientarse durante la navegación. Esta característica “magnetoreceptiva” o sentido magnético se define como la capacidad que tiene un organismo para percibir un campo magnético, detectar los cambios en sus propiedades y reaccionar a ellos (Formicki, 2019). El sentido magnético se encuentra presente en varios grupos de vertebrados, entre ellos las aves, los peces, reptiles (*e.g.* las tortugas), mamíferos (*e.g.* las ballenas); así como en varios grupos de invertebrados, como los moluscos, crustáceos e insectos (*e.g.* las abejas) (Blanck, 1993; Formicki, 2008; Lohmann, 2010). Incluso los humanos podrían tener esta capacidad. Wang y colaboradores (2019) registraron actividad neuronal del cerebro humano asociada con rotaciones del campo magnético en una condición experimental *ex profeso*. Esta diversidad de especies sugiere que el sentido magnético es una característica que posiblemente sea más común de lo que generalmente se asume.

Lohmann y Johnsen (2005) han descrito dos tipos de información que los animales pueden obtener del campo magnético terrestre y usarla para navegar: (i) dirección magnética;

es decir, la capacidad de ubicar el norte magnético terrestre para usarlo como una referencia, similar a como funciona una brújula magnética. Y (ii) posición magnética, habilidad que permite a un animal ubicarse geográficamente según las variaciones de la intensidad del campo magnético, muy similar a como funciona un mapa magnético. Alternativamente, los animales podrían usar anomalías magnéticas que ocurren en la superficie de la Tierra (*e.g.* depósitos de hierro, rocas magnéticas y la variación en la inclinación de las líneas del campo magnético) para monitorear su posición geográfica. Los estudios de comportamiento han sido el medio común para describir la existencia del sentido magnético en los animales. Con esos estudios, los investigadores han podido proponer hipótesis de los mecanismos subyacentes responsables de la magnetorecepción (Lohmann, 2010). Los mecanismos propuestos son (i) la inducción electromagnética, (ii) las reacciones químicas mediadas por radicales libres y (iii) los cristales de magnetita. La Tabla 1 describe las características principales de cada uno de estos mecanismos. Autores como Lohmann (2011) consideran que estos mecanismos podrían incluso ser complementarios.

Tabla 1. Relación de los mecanismos probables de la magnetorecepción y sus características principales.

	Magneto receptor	Localización	Mecanismo	Vía de transmisión	Tipo de información	Animales que parecen tenerlo
Inducción electro-magnética	Receptores de electricidad	Ámpula de Lorenzini	El movimiento de una corriente eléctrica sobre las líneas del campo magnético terrestre produce un campo de fuerza; éste tiene la misma dirección del campo terrestre.	No se ha estudiado	Brújula magnética	Peces de la clase <i>Elasmobranchii</i> y la subclase <i>Teolosti</i>
Reacciones químicas	Receptores de luz (criptocromos)	Retina	La absorción de la luz induce una reacción química con transferencia de electrones. Esta reacción genera una molécula con espines desempatados, lo que confiere al individuo percepción magnética.	Nervio óptico	Brújula magnética	Aves
Cristales de magnetita	Cristales de biomagnetita	Lámina cribosa y etmoides	El eje de un cristal se alinea con el campo magnético terrestre. Como consecuencia se genera presión sobre un mecanoreceptor, lo cual produce la apertura de un canal iónico.	Nervio trigémino	Mapa magnético	Insectos, aves, tortugas, delfines y peces

Modificado y traducido de Lohmann (2011).

1.3.1. Sentido magnético en los peces

Se presume que el sentido magnético en los peces se desarrolló como uno de los primeros sistemas sensoriales (Johnsen y Lohmann, 2005; Lohmann 2010; Formicki, 2019). La

primera evidencia sobre la existencia del sentido magnético en los peces surgió a partir de investigaciones acerca de la capacidad que tienen algunas especies de este grupo de vertebrados acuáticos para generar electricidad (*e.g.* clase *Elasmobranchii*), y del mecanismo de navegación que usan otras especies del mismo grupo (*e.g.* familia *Salmonidae*) para migrar distancias grandes.

Los resultados de varios estudios apoyan la presencia del sentido magnético en distintas especies de peces. Formicki y colaboradores (2004) encontraron que especies dulciacuícolas como la perca (*Perca fluviatilis*), el rutilo (*Rutilus rutilus*) y el alburno (*Alburnus alburnus*) reaccionaban al cambio inducido en la intensidad de un campo magnético. Lo encontraron utilizando redes con imanes para atrapar peces en su hábitat natural. Por su parte, Hart (2012) encontró que el pez carpa (*Cyprinus carpio*), puesto en tanques circulares, mostraba una preferencia por acomodarse en la dirección del eje norte-sur, según las líneas del campo magnético terrestre. A su vez Dixon y colaboradores (2012) descubrieron células con magnetita en el tracto olfatorio del pez cebra y la trucha arcoíris (Walbaum, 1792), lo que les sugirió que dichas especies cuentan con un sentido magnético de orientación. Asimismo, Krylov y colaboradores (2016) estudiaron la influencia de la variación de un campo magnético en el cambio de la dirección de movimiento en especímenes del pez cebra en cautiverio, y de rutilos silvestres. El pez cebra mostró una preferencia bimodal de orientación por el eje norte-sur. La preferencia cambiaba al eje este-sur al rotar 90° el laberinto que usaban para las pruebas. Los rutilos respondieron significativamente prefiriendo moverse en la dirección este-noreste; ésta dirección coincide con la de la salida del canal del río donde habitan. Osipova y colaboradores

(2016) confirmaron los hallazgos hechos por Krylov. Lo hicieron estudiando la influencia del campo magnético terrestre en el pez cebra, para lo cual utilizaron pruebas con un laberinto de cuatro brazos. Los peces mostraron una preferencia de dirección este–oeste, nadando a los brazos correspondientes del laberinto; la preferencia en dirección norte–sur se observó al rotar el laberinto 90°.

La variedad de estudios relatados arriba sugiere que el sentido magnético podría ser una característica presente en muchas otras especies, incluidos los peces. *Xenotoca variata* parece ser una de esas especies, y resultaría enriquecedor conocer cómo usa tal sentido.

1.4. Subfamilia Goodeinae

La subfamilia de peces Goodeinae habita cuerpos de agua dulce con turbidez variable en la Meseta Central de México (Macías y cols. 2007). Esta región es una de las más pobladas del país, y como consecuencia, sujeta a una explotación desmedida de los recursos naturales; posee también índices elevados de contaminación (De la Vega-Salazar, 2006). Varias de las especies de goodeinos habitan las cuencas Lerma–Chapala–Santiago que son de las regiones más contaminadas del país. Tales condiciones han propiciado una reducción en la distribución geográfica de las especies. Domínguez-Domínguez (2008) comparó los registros previos de la distribución de las especies de goodeinos en la Meseta Central de México con las cifras de recolectas que llevó a cabo de 1999 a 2004. Encontró que varias especies de goodeinos se habían reducido a la mitad o extinguido.

Las estrategias de orientación que los goodeinos podrían utilizar para desplazarse a otros sitios han sido poco estudiadas. Sovrano y colaboradores (2003) encontraron que los peces *Xenotoca eisini* (una especie de goodeino) tienen la capacidad de codificar la información geométrica y no geométrica de una pecera rectangular en un mapa espacial. Lo consiguen diferenciando la longitud y los cambios de color entre las uniones de las cuatro paredes de la pecera. Esta capacidad sirvió a los peces para encontrar, en una prueba ex profeso, la salida correcta de una pecera y poder unirse a sus conespecíficos (*i.e.* la recompensa). Este resultado sugiere la existencia de habilidades cognitivas de navegación en esta especie, y da pauta a preguntar si los goodeinos en general, poseen un sentido magnético que pudieran utilizar en comportamientos que requieren habilidades de orientación espacial.

1.4.1. *Xenotoca variata*

Xenotoca variata (Bean, 1887) es un pez vivíparo de la subfamilia *Goodeinae* que habita diversos cuerpos de agua en la cuenca del río Lerma. Las escamas iridiscentes de los machos son una de las características distintivas de esta especie, y parecen conferirles ventajas para su reproducción, pues atraen a las hembras cuando las cortejan (Moyaho y cols. 2004). La cantidad de escamas iridiscentes que muestran los machos varía geográficamente, aunque no en modo alguno con la intensidad de la turbidez del agua (Moyaho, 2004). Esta especie, como otras de goodeinos, enfrenta condiciones de contaminación creciente en su entorno, lo que podría causar que migrara en busca de fuentes alternas de alimentación. Por ejemplo, la población de estudio en este proyecto habita la laguna de Yuriria, una represa que tiene una

extensión aproximada de 150 km². Las colectas que se han intentado recientemente han sido infructuosas porque el lirio acuático ha invadido áreas muy grandes (A. Moyaho, comunicación personal), además de que algunas de las orillas de la laguna tienen restos de material contaminante (e.g. plásticos, neumáticos, estructuras para construcción, etc).

No se cuenta con estudios sobre el tipo de información espacial que *X. variata* podría estar percibiendo y los mecanismos de orientación y estrategias de navegación que podría estar utilizando. Fascinetto-Zago (2018) realizó un estudio en machos de esta especie para determinar si optimizaban (i.e. ganancia neta) su comportamiento de cortejo a la hembra. La autora variaba la dirección y el ángulo de incidencia de una fuente luminosa respecto a los puntos cardinales. Los resultados mostraron que los machos exhibían más pautas de cortejo cuando la luz provenía del oeste e incidía sobre la superficie del agua a 15° y 30°. Así, se pudo inferir que los machos—y quizá las hembras—de *X. variata* posiblemente censan el campo magnético terrestre, pues no parece que hubiera otro tipo de pista que usaran para orientarse durante las pruebas. Con base en estas observaciones es oportuno plantear la siguiente pregunta: ¿Qué tipo de información espacial usa *X. variata* para buscar recursos?

2. HIPÓTESIS Y PREDICCIONES

Para responder a esta pregunta propuse las siguientes hipótesis:

2.1. Hipótesis del sentido magnético

X. variata usa el campo magnético terrestre como punto de referencia para orientarse espacialmente.

Si la hipótesis fuera correcta, esperaba que ocurriera lo siguiente:

- Los peces presentados previamente con una recompensa alimenticia puesta en un punto cardinal fijo, en la dirección de uno de los brazos de un laberinto en forma de cruz y una pista visual colocada aleatoriamente en otra dirección, navegaran con mayor frecuencia en la dirección en la que estuviera la recompensa alimenticia que en cualquier otra dirección.
- Los peces presentados previamente con una pista visual puesta en un punto cardinal fijo, en la dirección de uno de los brazos de un laberinto en forma de cruz y una recompensa alimenticia ubicada aleatoriamente en otra dirección, navegaran con mayor frecuencia en cualquier dirección que contenía la recompensa alimenticia que en la dirección en la que estaba la pista visual.

2.2. Hipótesis de las pistas visuales

X. variata usa pistas visuales como punto de referencia para orientarse espacialmente.

Si la hipótesis fuera correcta, esperaba que ocurriera lo siguiente:

- Los peces presentados previamente con una recompensa alimenticia y una pista visual ubicadas cada una en direcciones específicas de un laberinto en forma de cruz, navegaran con mayor frecuencia en la dirección que contenía la recompensa alimenticia que en cualquiera de las otras direcciones.
- Los peces presentados previamente con una pista visual puesta en un punto cardinal fijo, en la dirección de uno de los brazos de un laberinto en forma de cruz y una recompensa alimenticia ubicada aleatoriamente en otra dirección, navegaran con mayor frecuencia en cualquier dirección en la que estuviera la recompensa alimenticia que en la dirección en la que estaba la pista visual.

2.3. Hipótesis de las pistas combinadas

X. variata usa una combinación de pistas visuales y magnéticas como punto de referencia para orientarse espacialmente.

Si la hipótesis fuera correcta, esperaba que ocurriera lo siguiente:

- Los peces presentados previamente con una recompensa alimenticia y una pista visual, ubicadas cada una en direcciones específicas de un laberinto en forma de cruz, navegaran con mayor frecuencia en la dirección que contenía la recompensa alimenticia que en cualquier otra dirección.

A continuación presento una tabla que resume las predicciones esperadas en cada hipótesis, con base en la posición (durante la fase de aprendizaje; ver más adelante) de una recompensa alimenticia y una pista visual dentro de un laberinto en forma de cruz (Tabla 2). La posición fija significa que las pistas estuvieron ubicadas siempre en el mismo brazo del laberinto, y la posición móvil que estuvieron ubicadas aleatoriamente en alguno de los otros tres brazos del laberinto.

Tabla 2. Predicciones esperadas en cada hipótesis

Posición previa	Hipótesis del sentido magnético	Hipótesis de las pistas visuales	Hipótesis de las pistas combinada
- Recompensa alimenticia fija - Pista visual móvil	Los peces navegarían con mayor frecuencia en la dirección en la que estaba la recompensa alimenticia.	No aplica	No aplica
- Recompensa alimenticia móvil - Pista visual fija	Los peces navegarían con menor frecuencia en la dirección en la que estaba la pista visual.	Los peces navegarían con menor frecuencia en la dirección en la que estaba la pista visual.	No aplica
- Recompensa alimenticia fija - Pista visual fija	No aplica	Los peces navegarían con mayor frecuencia en la dirección en la que estaba la recompensa alimenticia	Los peces navegarían con mayor frecuencia en la dirección en la que estaba la recompensa alimenticia

3. OBJETIVO GENERAL

Aportar evidencia acerca de la existencia del sentido magnético en *Xenotoca variata* y de su función, así como de una capacidad de orientación alocétrica para navegar su entorno.

3.1. Objetivos particulares

- (i) Conseguir que los peces se acostumbraran gradualmente a las condiciones experimentales;
- (ii) Conseguir que los peces aprendieran a localizar espacialmente una recompensa (*e.g.* alimento);
- (iii) Lograr que los peces retuvieran la ubicación espacial de una recompensa (*e.g.* alimento);
- (iv) Determinar el tipo de información espacial que los peces utilizan para orientarse en su entorno.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Introducción

Para conocer el tipo de información espacial que *Xenotoca variata* es capaz de percibir y que utiliza para orientarse y navegar diseñé experimentos con dos pistas sensoriales dentro de un laberinto en forma de cruz.

El procedimiento experimental tuvo una duración de 21 a 23 días y fue dividido en cuatro fases consecutivas: (i) aclimatación, (ii) introducción, (iii) aprendizaje y (iv) prueba (Figura 4.1). Durante las primeras dos fases los peces se acostumbraron gradualmente a los cambios en el entorno, a la manipulación, y al traslado desde las peceras en las que vivían hasta el arreglo experimental (ver más abajo). La tercera fase consistió en cuatro tipos de entrenamiento (ver más abajo) durante los cuales—presumo—los peces aprendieron y retuvieron la ubicación de una recompensa alimenticia (*Artemia* sp.) utilizando como puntos de referencia los puntos cardinales y/o una pista visual (un cubo de color magenta). La cuarta fase consistió en una prueba de orientación en la que los peces debían buscar la recompensa alimenticia, que ahora había sido removida. Inferí la estrategia de orientación que los peces utilizaron para buscar la recompensa alimenticia a través de su comportamiento de navegación. Consideré a la frecuencia y duración de las visitas a cada brazo del laberinto, y a cada cámara del laberinto durante las pruebas, como una medida de preferencia y de orientación (Sison y Gerlai, 2010; Osipova y cols. 2015).

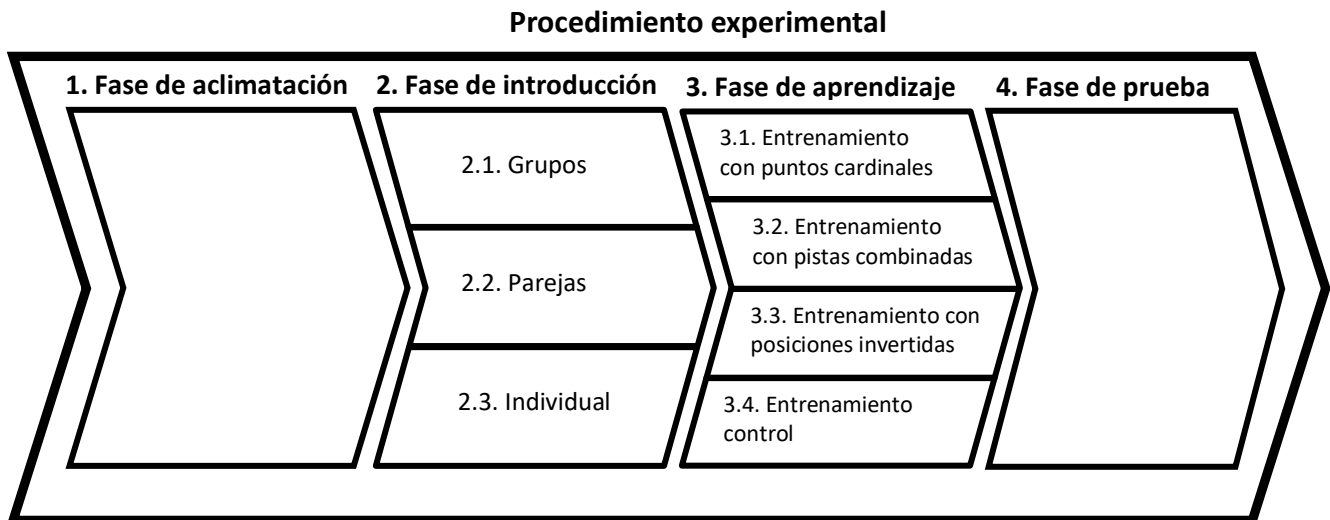


Figura 4.1. Esquema que muestra las fases en las que dividí el procedimiento experimental. Los detalles de cada fase los explico más adelante, en el texto principal.

4.2. Animales de estudio

Usé 12 peces macho y 12 hembras de edad adulta, elegidos aleatoriamente de dos poblaciones disponibles. Dieciséis individuos provinieron de una población del laboratorio de Ecología de la Conducta y 8 individuos provinieron de la población de una poza con condiciones semi-naturales. Después de elegir a los peces, aprendía a reconocerlos de forma individual según sus características morfológicas para ejecutar los experimentos.

Los peces experimentales vivían en grupo para evitar los posibles efectos del aislamiento social en el aprendizaje (Sison, 2010). El grupo experimental en turno vivía dentro de un laberinto de acrílico gris opaco con las siguientes características: cuatro brazos de 40 cm de largo por 10 cm de ancho por 15 cm de altura; el cuadrado central, desde donde inician los

brazos, mide 10 cm por lado. El laberinto también forma una cámara cuadrada de 10 cm por lado en la parte distal de cada brazo (Figura 4.2). Llenaba el laberinto con 16.8 L de agua filtrada, alcanzando la columna de agua una altura de 8 cm. Dentro de este laberinto (en adelante, laberinto acondicionado) colocaba elementos naturales (plantas, rocas, sustrato) y cuatro piedras difusoras conectadas a una bomba de aire para airear el agua en las cámaras. Los peces estuvieron sujetos a un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas (las luces eran encendidas a las 7 a. m.).



Figura 4.2. Vista aérea del laberinto acondicionado con elementos naturales en el que vivían los peces experimentales.

Alimentaba a los peces 2 veces al día con artemias puestas en conos alimentadores para acuario, colocados éstos uno en cada cámara del laberinto. Los conos son de plástico translúcido con perforaciones en las paredes (Figura 4.3). Los peces podían ver a las artemias dentro del cono y atraparlas con la boca a través de las perforaciones. Las artemias eran adquiridas en dos acuarios de la ciudad de Puebla, y también de cultivos propios en el laboratorio.



Figura 4.3. (A) Muestra una fotografía con un cono alimentador comercial para acuarios. El cono mide 6.5 cm de diámetro y 7.5 cm de altura. (B) La imagen muestra artemias, una especie de crustáceo de agua salobre, que utilicé para alimentar a los peces durante el procedimiento experimental.

4.3. Pecera experimental

Para los ensayos experimentales usaba una réplica del laberinto acondicionado como pecera experimental. Llenaba este laberinto (en adelante, laberinto experimental) con 16.8 L de agua purificada cuya columna alcanzaba 8 cm. El agua que utilizaba para llenar el laberinto, en cada ensayo experimental, fue agua de grifo tratada con un purificador (EVANS) de luz

ultravioleta de 5 etapas; el tipo de agua usada habitualmente para el mantenimiento de los peces en el laboratorio.

Realicé los ensayos experimentales dentro de un cuarto cerrado y oscuro. En cada ensayo experimental colocaba el laberinto experimental sobre una mesa cuadrada con una esponja encima para disminuir las vibraciones causadas por el movimiento de objetos externos. Colocaba una fuente luminosa junto con una cámara de video en la parte central y superior del laberinto. La fuente luminosa es una lámpara para acuario de luz tipo LED y voltaje de 60 watts (Aqualllumination). Las características espectrales de la luz fueron: 31% de verde, 59% de rojo, 31% de blanco y 0% de UV, violeta y azul. Cubría todo el arreglo experimental con una cortina de gabardina negra, a manera de casa de campaña, para que los peces no pudieran percibir y utilizar pistas visuales fuera del laberinto para orientarse. La gabardina tiene cuatro aberturas en cada arista lo que me permitía el acceso al interior desde cualquiera de los cuatro puntos cardinales (Figura 4.4).



Figura 4.4. Vista aérea del laberinto experimental y la gabardina a su alrededor.

4.4. Diseño experimental

Utilicé un diseño de bloques aleatorizados (Tabla 4.1). Como no pude hacer todos los experimentos a la vez, los agrupé en 6 grupos a los que llamé bloques experimentales; este procedimiento permite remover estadísticamente la variación producida por el transcurso del tiempo (Moyaho y Beristain-Castillo, 2019). Cada experimento contó con 4 tipos de entrenamiento en la fase de aprendizaje, los que constituyeron a cada uno de los 6 bloques experimentales.

Repartí los 24 peces en los 6 bloques experimentales. Cada bloque experimental consistió de 2 machos y 2 hembras, y cada pez constituyó una unidad experimental. Los 4 peces del bloque fueron asignados aleatoriamente a cada uno de los 4 tipos de entrenamientos.

Tabla 4.1. Diseño experimental

Bloque	Tipos de entrenamiento				Total
	Puntos cardinales	Pistas combinadas	Posiciones invertidas	Control	
I	1 ¹	1	1	1	4
II	1	1	1	1	4
III	1	1	1	1	4
IV	1	1	1	1	4
V	1	1	1	1	4
VI	1	1	1	1	4
Total	6	6	6	6	24

¹Los números hacen referencia a la unidad experimental (*i.e.* un pez) en cada tipo de entrenamiento en cada bloque experimental.

4.5. Procedimiento experimental

4.5.1. Fase de aclimatación

Los peces son susceptibles a experimentar estrés cuando su entorno, físico y social, es modificado. Para evitarlo, dejaba a los peces—los de este estudio—en el laberinto acondicionado una semana antes de iniciar los ensayos experimentales. El primer día de esa semana de aclimatación, seleccionaba aleatoriamente a los dos machos y dos hembras de alguna de las dos poblaciones disponibles y, los ponía luego en el laberinto acondicionado.

Asimismo, introducía al laberinto acondicionado a un pez que ya había aprendido a comer a través de los conos (en adelante, pez experimentado).

Cada día, a las 9:00 y 13:00 horas colocaba 15 artemias en el centro del laberinto y 10 artemias dentro de cada cono. Durante los primeros días los peces comían sólo las artemias libres en el laberinto, ya que no sabían atrapar a las artemias puestas dentro de los conos. Por ello introducía al pez experimentado, para que los otros peces imitaran su comportamiento y aprendieran a comer a través de los conos. Una vez que los peces aprendían a comer de los conos, retiraba al pez experimentado, y ponía 10 artemias dentro de cada cono; no más artemias libres en el centro del laberinto. Que todos los peces del grupo comieran artemias a través de los conos, fue el criterio para pasar a la siguiente fase del procedimiento experimental. Cinco de los grupos experimentales alcanzaron este criterio en 7 días y uno de los grupos experimentales en 9 días.

4.5.2. Fase de introducción

A partir de esta fase trasladaba a los peces desde el laberinto acondicionado hasta el laberinto experimental para alimentarlos (en adelante, sesiones). Desde ese momento los peces podían ser alimentados únicamente durante las sesiones. Por ello, retiraba los conos alimentadores del laberinto acondicionado y cada sesión los colocaba dentro de las cámaras del laberinto experimental, y colocaba 10 artemias dentro de cada cono. Durante una semana repetía este procedimiento para que los peces aprendieran a reconocer el entorno nuevo, y para acostumbrarlos a la manipulación y el traslado.

Para mitigar el estrés que podía causar la separación y el traslado individual de los peces a un entorno nuevo, disminuía gradualmente el tamaño del grupo en el laberinto experimental a lo largo de los días (Sison y cols. 2010). Lo hice de la siguiente manera:

(i) Los primeros dos días trasladaba a los peces en grupo. Este procedimiento tenía cuatro sesiones de 60 minutos cada una a lo largo del día (8:30, 10:30, 12:30 y 14:30 h), tiempo suficiente para que los peces exploraran el laberinto y se alimentaran;

(ii) Los siguientes dos días dividía a los peces en dos parejas, y cada una tenía cuatro sesiones de 30 minutos al día para alimentarse (8:00-8:30 h; 10:00-10:30 h; 12:00-12:30 h; 14:00-14:30 h);

(iii) Los siguientes dos a cuatro días trasladaba a los peces de manera individual. Cada pez tenía dos sesiones de 10 minutos al día para alimentarse. La primera sesión ocurría entre 8:00 y 10:30 h y la segunda entre 12:00 y 14:30 h.

El criterio para pasar a los peces a la siguiente fase del procedimiento experimental fue que al menos tres de los cuatro peces del grupo comieran artemias a través de los conos. Cinco grupos experimentales tardaron 6 días en alcanzar ese criterio, por lo que estuvieron expuestos a 20 sesiones de introducción. El grupo experimental restante tardó 8 días en alcanzar el criterio, por lo que los peces estuvieron expuestos a 24 sesiones de introducción.

Utilizaba una red común de acuario para atrapar y trasladar a cada pez en un vaso de plástico de 300 mL. Llenaba el vaso con 250 mL de agua filtrada y agregaba dos gotas de

acondicionador de agua (Vidallife). La polivinilpirrolidona (PVP), lo que contiene este acondicionador, preserva la capa mucosa natural de los peces y los protege de abrasiones causadas por la manipulación experimental. Antes de iniciar la sesión de alimentación, los peces eran colocados 5 minutos en una división central del laberinto experimental para aclimatarse a la temperatura del agua y la luz en el entorno experimental. La división consistía en cerrar los brazos del laberinto experimental con láminas de acrílico removibles. Implementé estas medidas de cuidado cada vez que requerí capturar y trasladar a los peces; es decir, durante esta y las siguientes fases de del procedimiento experimental.

4.5.3. Fase de aprendizaje

Lograr que los peces aprendieran y retuvieran la ubicación de una recompensa alimenticia dentro del laberinto experimental fue el objetivo de las sesiones de esta fase; específicamente, debían utilizar los puntos cardinales y/o una pista visual como puntos de referencia.

La recompensa alimenticia y la pista visual tenían dos posiciones posibles: fija en un brazo del laberinto experimental o móvil en tres brazos de éste. La posición fija significa que una vez asignado el brazo del laberinto experimental que contenía a las dos cosas, aquella era mantenida así durante todas las sesiones del entrenamiento respectivo. La posición móvil significa que el brazo o cámara del laberinto experimental que contenía a la recompensa alimenticia, y a la pista visual cambiaba aleatoriamente en cada sesión. Las cuatro combinaciones entre las posiciones posibles de la recompensa alimenticia y la pista visual

dieron lugar a cuatro tipos de entrenamientos (Tabla 4.2). Como en cada tipo de entrenamiento asigné aleatoriamente la cámara y el brazo del laberinto experimental que ocuparon la recompensa alimenticia y la pista visual, cada pez tuvo una combinación de ubicación de pistas única.

Tabla 4.2. Resumen de los cuatro tipos de entrenamientos posibles para cada pez.

		Recompensa alimenticia	
		Fijo	Móvil
Pista visual	Móvil	Entrenamiento con puntos cardinales	Entrenamiento control
	Fijo	Entrenamiento con pistas combinadas	Entrenamiento con posiciones invertidas

Cada pez recibió 14 sesiones de entrenamiento con una duración de 10 minutos por sesión. Seguía el mismo horario y procedimiento para todos los grupos y las réplicas de los experimentos. Durante una semana los peces recibieron sesiones de entrenamiento matutinas y vespertinas. Las sesiones de entrenamiento matutinas tuvieron un horario de 8:30 a 10:00 horas y las vespertinas de 12:00 a 14:30 horas.

Durante las sesiones de aprendizaje sólo una de las cámaras contenía la recompensa alimenticia: 10 artemias dentro de un cono. Para la pista visual moldeé un cubo de 2.2 cm con arcilla polimérica (Premo) con un tono #5504 Fucsia (Figura 4.5). Colocaba el cubo en el

extremo distal de uno de los brazos del laberinto experimental, de modo que los peces podían verlo desde el centro, aunque no la cámara que contenía la recompensa alimenticia.



Figura 4.5. Fotografía del cubo de arcilla polimérica que utilizaba como pista visual para las sesiones de entrenamiento. El cubo midió 2.2 cm por arista.

Previo al inicio de cada sesión de entrenamiento, introducía las artemias (el cono) en la cámara y la pista visual en los brazos del laberinto experimental que correspondiera, según el tipo de entrenamiento. Para los entrenamientos de puntos cardinales ponía las artemias en una cámara fija y la pista visual en alguno de los otros brazos del laberinto experimental. Para los entrenamientos de posiciones invertidas ponía la pista visual en un brazo fijo y las artemias en alguna de las otras cámaras del laberinto experimental. En el caso de los entrenamientos controles, ponía las artemias y la pista visual en cámaras y brazos del laberinto experimental asignados aleatoriamente. Y en el caso de los entrenamientos con pistas combinadas ponía las artemias y la pista visual en una cámara y un brazo fijos del laberinto experimental a lo largo de todas las sesiones. Las artemias y la pista visual no podían ocupar ambas el mismo brazo y/o cámara del laberinto, excepto en los entrenamientos controles.

Tomaba una serie de medidas en la preparación del arreglo de cada sesión para evitar que los peces pudieran utilizar otro tipo de pistas sensoriales, dentro y fuera del laberinto experimental, para orientarse en búsqueda de la recompensa alimenticia. En primer lugar, elegía aleatoriamente el brazo del laberinto experimental que orientaría hacia el norte magnético, con ayuda de una brújula. Así, si el primero contaba con marcas o imperfecciones visibles a los peces, aunque no para un humano, éstos no podían utilizarlas como pistas visuales. En segundo lugar, realizaba un cambio total de agua entre sesiones. Al terminar cada sesión, limpiaba las paredes del laberinto con torundas de algodón humedecido con alcohol etílico desnaturalizado al 70%. Con esto evitaba que los peces usaran pistas químicas que otros individuos pudieran haber dejado en las sesiones previas. En tercer lugar, hice tres lavados sucesivos de las artemias que utilicé como recompensa alimenticia. Las artemias provenían de un medio acuático salino, cuyos posibles residuos podían proveer a los peces de pistas químicas para buscarlas dentro del laberinto experimental. Para evitar esto, llenaba 3 vasos de 250 mL con agua filtrada, y lavaba las artemias pasándolas de un vaso a otro hasta realizar 3 cambios de agua. Después, con el agua del tercer vaso llenaba 4 contenedores de 30 mL e introducía las artemias en uno solo. Vertía el contenido de los 4 contenedores en los conos del laberinto experimental. En cuarto lugar, elegía aleatoriamente el orden en el que los peces pasaban a las sesiones; de ese modo evitaba que pudieran utilizar pistas auditivas (*e.g.* sonido o vibraciones) producidas regularmente o periódicamente fuera del cuarto de observación.

Finalmente, elegía aleatoriamente el punto cardinal por el que mi mano accedía al arreglo experimental para introducir, liberar o retirar a los peces del laberinto experimental, de

manera que no la pudieran asociar con una dirección. Antes del inicio de cada sesión, colocaba y dejaba al pez 5 min dentro de una separación de acrílico opaco en el centro del laberinto. De este modo busqué que el pez se aclimatara a la temperatura del agua, la cual no difirió más de 2 °C de la temperatura del agua en el laberinto acondicionado. Al terminar la sesión regresaba al pez al laberinto acondicionado con el resto de los peces del grupo experimental en turno.

4.5.4. Fase de prueba

Expuse a los peces individualmente a una prueba de orientación en la que debían buscar la ubicación de la recompensa alimenticia—ahora inexistente—que habían tenido durante el entrenamiento. Las pruebas se llevaron a cabo al día siguiente del último día de entrenamiento y comenzaban a las 12:00 horas. No alimenté a los peces a la hora habitual de las sesiones matutinas para incrementar su motivación para buscar alimento (Sison y Gerlai, 2010). Dentro del laberinto experimental colocaba conos vacíos, y colocaba la pista visual según su posición fija o móvil de acuerdo con el tipo de entrenamiento respectivo. Cada pez realizó una prueba con una duración de 10 minutos.

A continuación presento una tabla que resume las características y las diferencias entre cada fase del procedimiento experimental (Tabla 4.3).

Tabla 4.3. Resumen de las principales características de las fases del procedimiento experimental final.

	Aclimatación	Introducción	Aprendizaje	Prueba
Duración	7 - 9 días	6 - 8 días	7 días	1 día
Sesiones	Sin sesiones	20 sesiones	14 sesiones	1 sesión
Lugar	Laberinto acondicionado	Laberinto experimental	Laberinto experimental	Laberinto experimental
Cantidad de individuos	Grupal	Disminución gradual: - Grupo - Parejas - Individual	Individual	Individual
Alimento	15 artemias libres y 10 artemias en cada cono	5 a 10 artemias en cada cono	10 artemias en un solo cono	Sin alimento
Presencia de pista visual	Sin cubo	Sin cubo	Con cubo	Con cubo

Realizaba una videograbación continua de cada prueba. Para ello utilizaba una videocámara de grabación de alta definición (Swann). Posteriormente editaba los videos en el programa Filmforth de Windows 10. Con la finalidad de facilitar la observación y registro del comportamiento de navegación de los peces, hice lo siguiente: sobre la imagen del video colocaba líneas que indicaran claramente la entrada a los brazos y las cámaras del laberinto experimental. Así mismo, asignaba aleatoriamente una secuencia de 4 letras del alfabeto a los brazos del laberinto experimental (Figura 4.6). Hice esto con la intención de que el observador

(ver abajo) identificara los brazos del laberinto experimental sin referencia a los puntos cardinales. También agregaba un cronómetro digital en la imagen.

Pedí a un observador ajeno al objetivo de este trabajo que tomara registro de la frecuencia y de la duración de las visitas a cada brazo y a cada cámara del laberinto experimental. Para ello, el observador llenaba una bitácora de visitas anotando el tiempo que el cronómetro marcaba cuando el cuerpo completo del pez cruzaba las líneas de entrada a los brazos y a las cámaras del laberinto experimental (Figura 4.6). Consideré como medida de preferencia y de orientación la frecuencia y la duración de las visitas a cada brazo y a cada cámara del laberinto experimental (Sison y Gerlai, 2010; Osipova y cols. 2015).

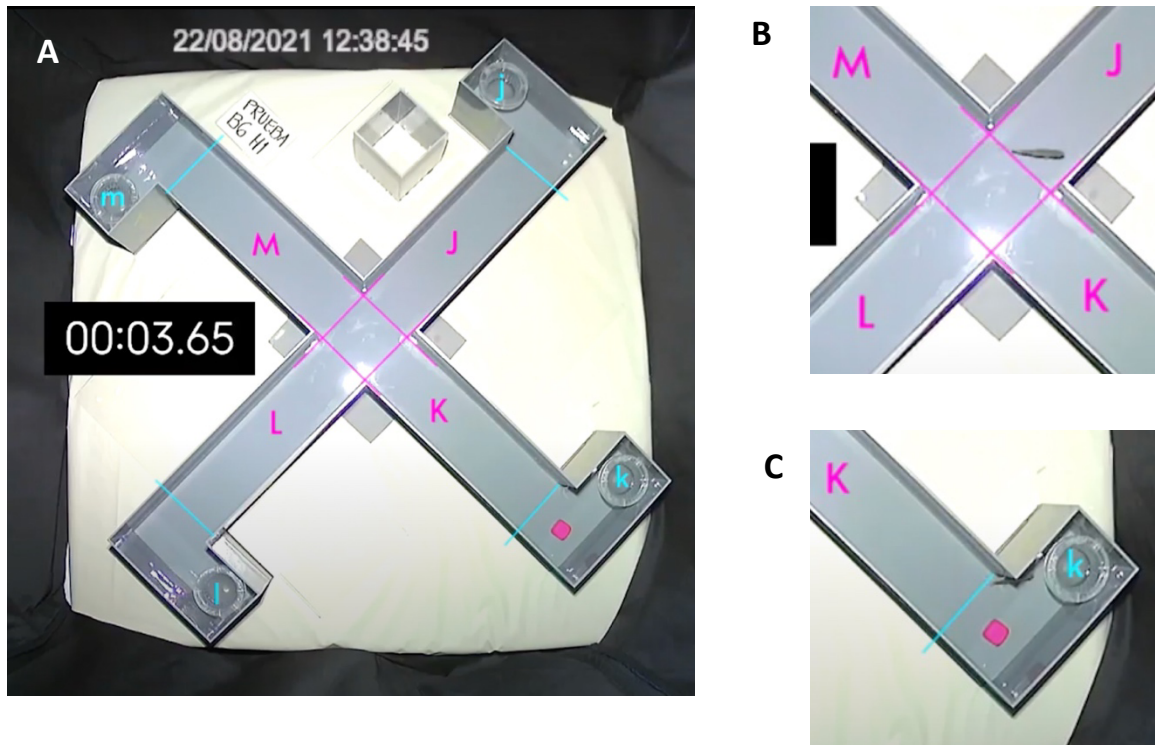


Figura 4.6. (A) Imágenes extraídas de un video de prueba editado para el observador. Agregué a la imagen un cronómetro digital y dibujé líneas color magenta y azul para marcar la entrada a los brazos y las cámaras del laberinto experimental, respectivamente. También añadí una secuencia aleatoria de letras del alfabeto para identificar cada brazo y cámara del laberinto experimental. (B) y (C); el observador anotaba el momento en que el cuerpo completo del pez cruzaba la línea de entrada al brazo “J” y a la cámara “k” del laberinto experimental respectivamente.

Al día siguiente de las pruebas tomaba fotografías de los peces para obtener su longitud estándar. Para ello los anestesiaba por inmersión en eugenol a una concentración de 100 μ M (Xancal, 2021) y tomaba fotografías digitales con la cámara de un teléfono móvil. Utilicé el programa ImageJ para estimar la longitud estándar de los peces, la cual medí como la distancia en centímetros de la boca del pez al pedúnculo caudal.

4.6. Análisis estadístico de los datos

Los datos fueron analizados aplicando estadística bayesiana. Así se hizo por dos razones. La primera es que los datos provienen de una muestra pequeña, y la estadística tradicional no puede, en general, aplicarse a este tipo de muestras (McElreath, 2020). La segunda razón es que los paquetes estadísticos provenientes de la estadística tradicional son inestables, cuando se usan para ajustar modelos lineales generalizados mixtos (Zuur y cols., 2017), que es el caso en esta tesis. Los paquetes que provienen de la estadística bayesiana no presentan estos inconvenientes.

De manera muy simplificada se puede decir que la aplicación de modelos estadísticos bayesianos proveen una distribución *a posteriori* (posterior en el idioma inglés) de las probabilidades relativas de los distintos valores que puede tomar cada parámetro (o una combinación de éstos). Para lograrlo, el modelo estadístico (el software) requiere que se le informe lo que se sabe acerca del parámetro o relación entre parámetros. Esa información previa es una distribución *a priori* (prior en el idioma inglés), con la cual el modelo hace una actualización de las probabilidades relativas de todas las combinaciones posibles de los valores que pueden tomar los parámetros. A diferencia de la estadística convencional, cuya aplicación resulta en un solo valor estimado para cada parámetro del modelo estadístico, la estadística bayesiana arroja una distribución de probabilidades relativas de los valores que podría tomar el/los parámetro.

Para los análisis estadísticos se utilizaron distribuciones *a priori* reguladoras; es decir, que sus rangos de valores se establecieron de manera que no hubiera un sobreajuste o un subajuste del modelo estadístico aplicado. Consecuentemente, son distribuciones *a priori* que se determinan de acuerdo con suposiciones razonables acerca de los datos, antes de conocer éstos.

Los valores utilizados para las distribuciones *a priori* de la frecuencia y duración de las visitas a los brazos y a las cámaras del laberinto experimental fueron obtenidos a partir de las pruebas piloto (Figuras 4.7-4.10). Elegí los valores de las distribuciones *a priori* para la covariable sexo con base en lo que otros autores usan comúnmente para variables dicotómicas.

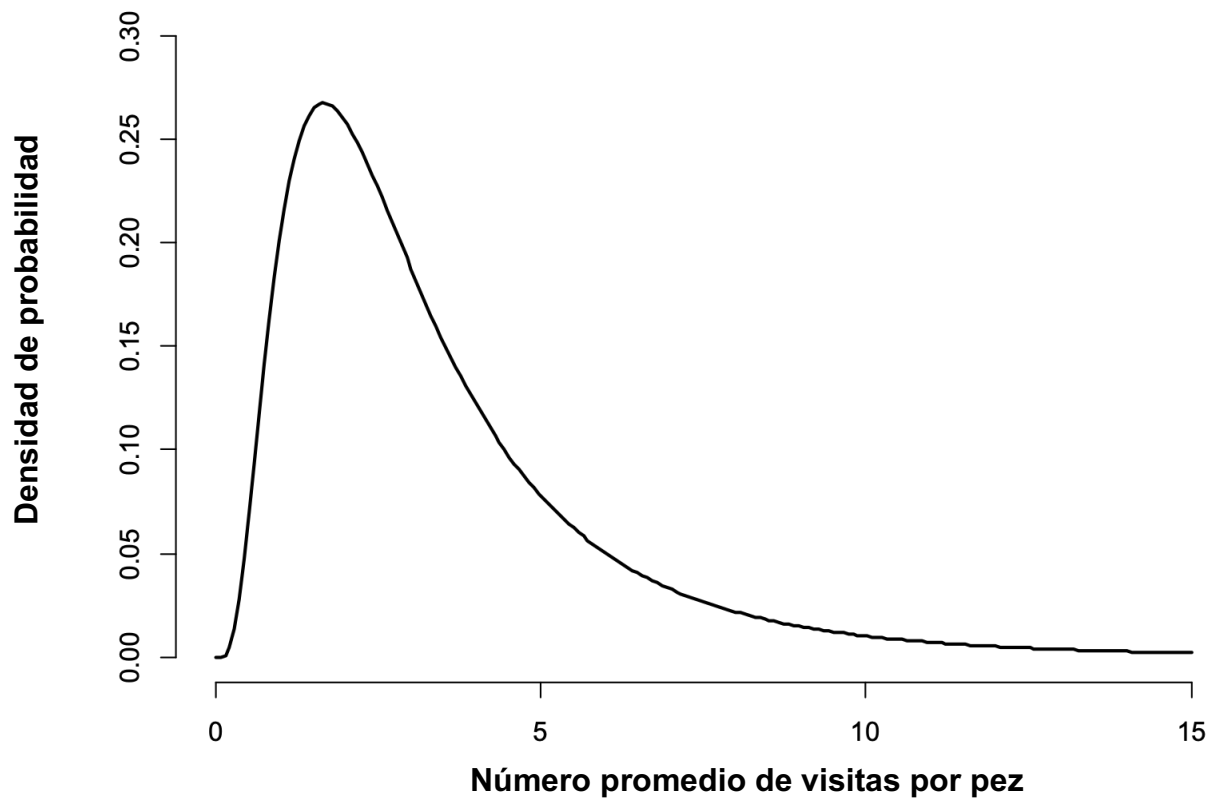


Figura 4.7. Distribución *a priori* del promedio de visitas a las cámaras del laberinto experimental, por pez.

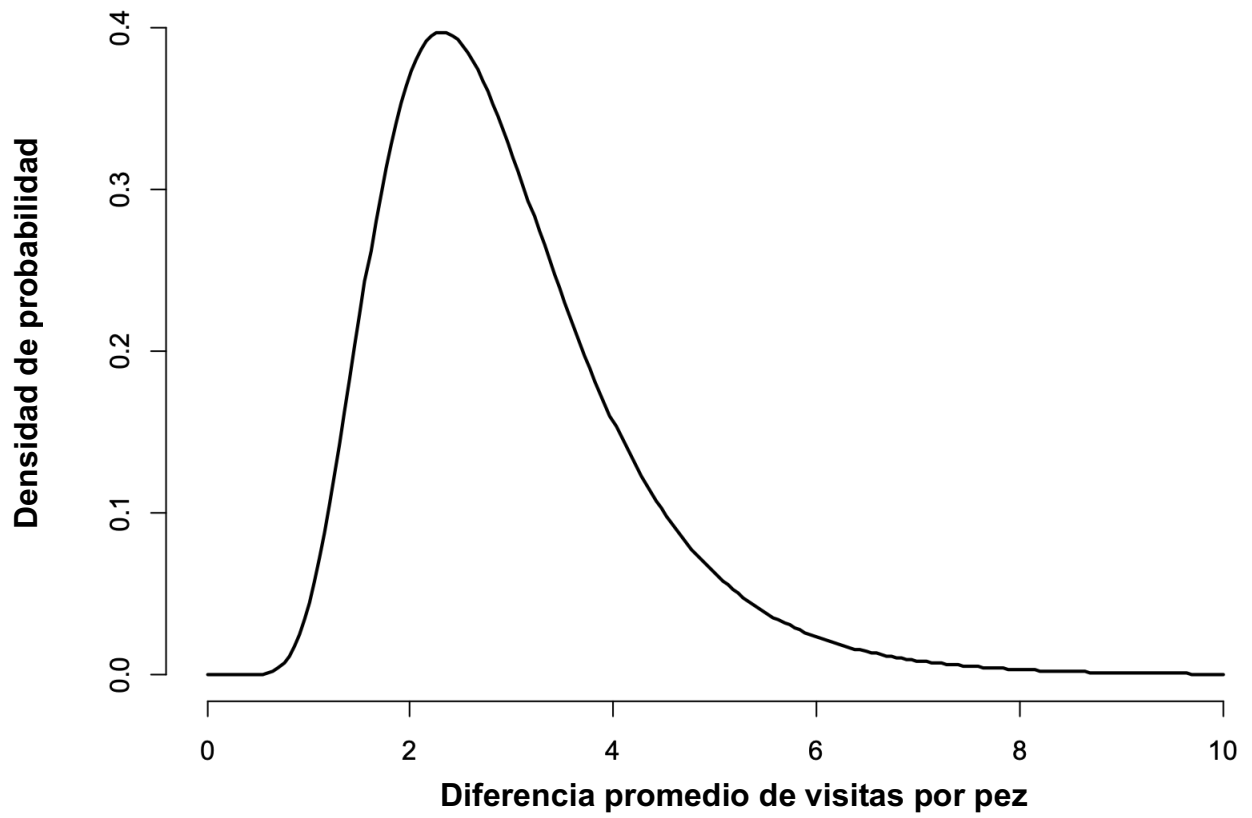


Figura 4.8. Distribución *a priori* de la diferencia promedio de las visitas a las cámaras del laberinto experimental, por pez.

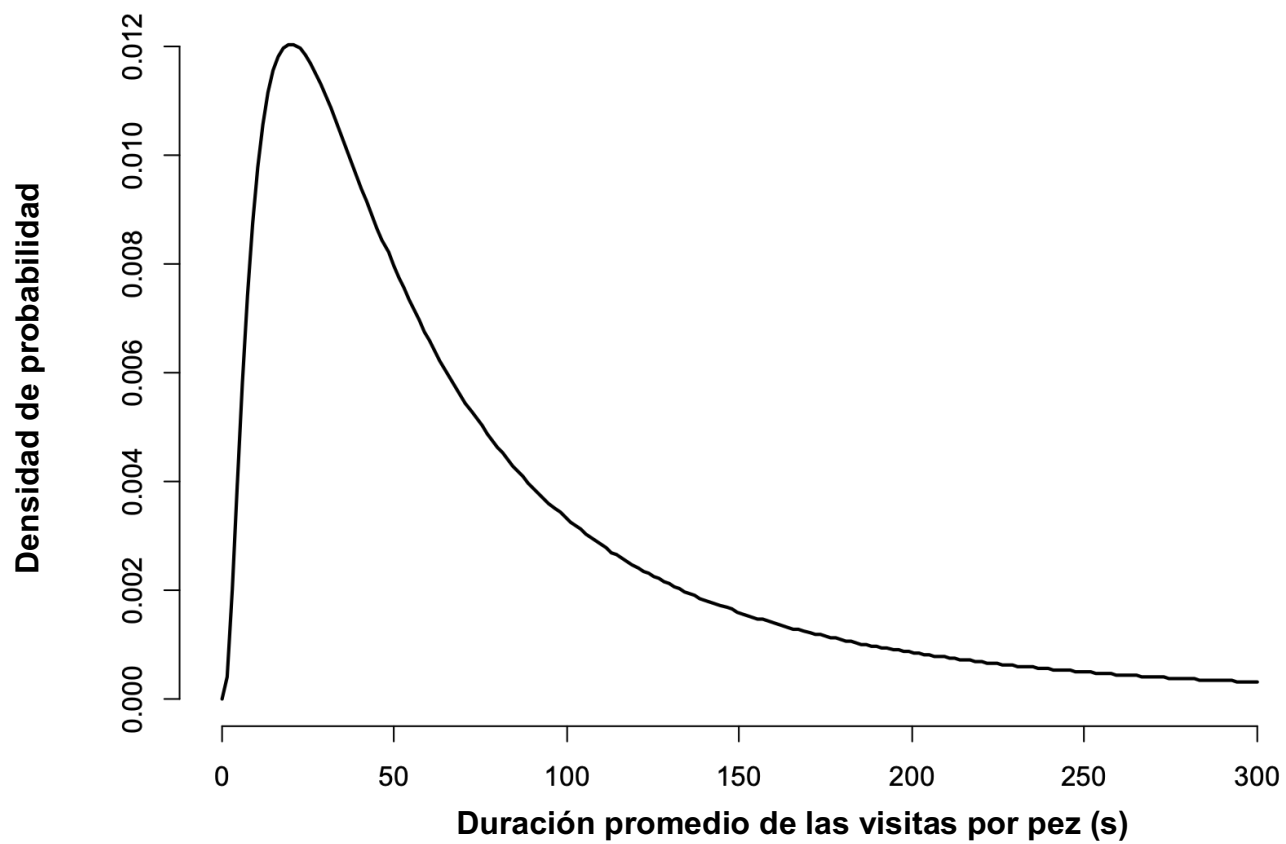


Figura 4.9. Distribución *a priori* del promedio de la duración de las visitas a las cámaras del laberinto experimental, por pez.

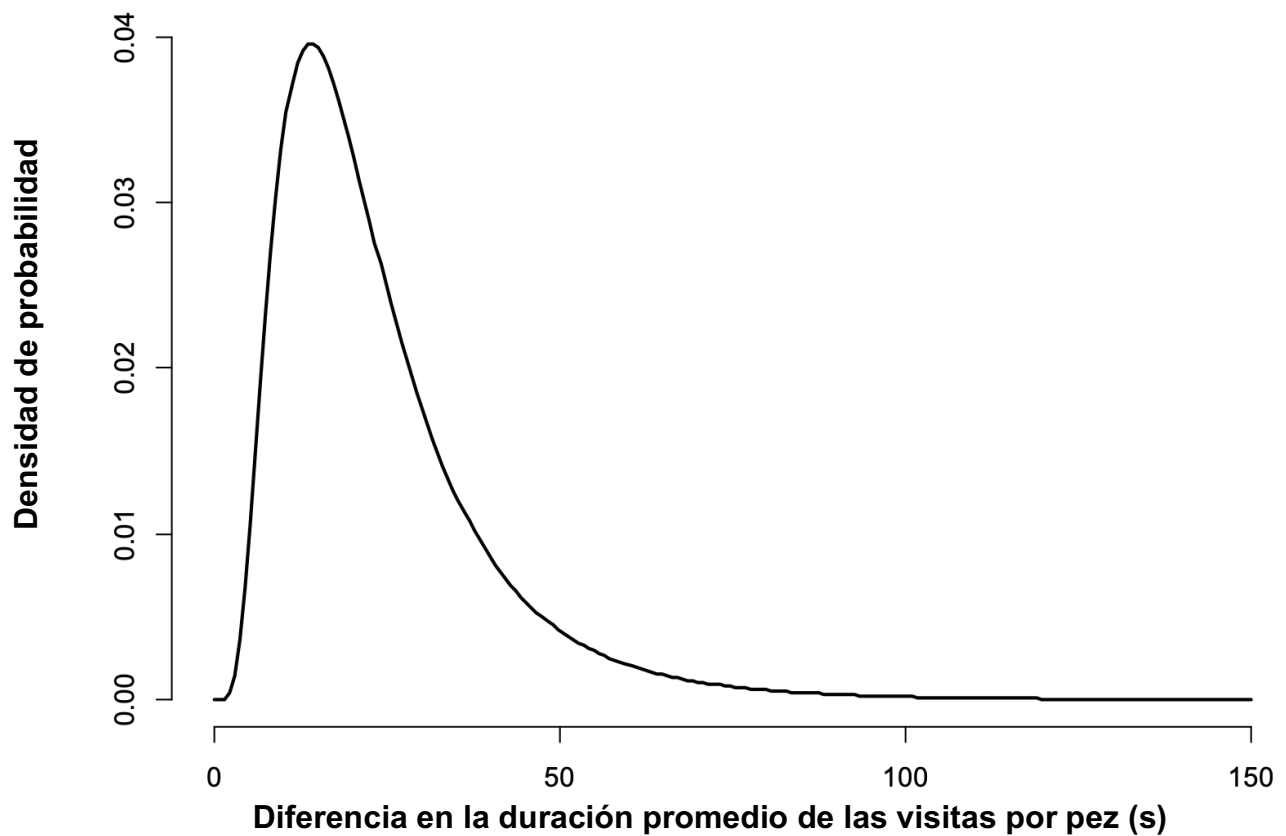


Figura 4.10. Distribución *a priori* de la diferencia del promedio de la duración de las visitas a las cámaras del laberinto experimental, por pez.

En el análisis estadístico las visitas y las duraciones de éstas a los brazos y a las cámaras del laberinto experimental representan variables dependientes. La orientación de los brazos y las cámaras del laberinto experimental respecto a los puntos cardinales, el tipo de entrenamiento (*i.e.* ubicaciones de la recompensa alimenticia y la pista visual) y la dirección de interés según las predicciones, representan variables independientes (Tabla 4.4); es decir, variables de efectos fijos en el modelo estadístico.

La variable tipo de entrenamiento contiene la información de la ubicación (número de cámara) y la posición (fijo/móvil) que la recompensa alimenticia y la pista visual tuvieron dentro del laberinto experimental. Es decir, asigné una numeración a los brazos y las cámaras del laberinto experimental: el número 1 a los que contenían la pista visual fija durante los entrenamientos y durante la prueba; el número 2 a los que contenían la recompensa alimenticia fija durante los entrenamientos; los números 3 y 4 los asigné aleatoriamente a los que permanecieron vacíos.

La variable dirección de interés es dicotómica. Un valor contiene la información de la dirección—brazo y cámara del laberinto experimental—en la que se espera ver una respuesta según las predicciones de las hipótesis. El otro valor contiene la información de las otras tres direcciones en las que no se espera ver una respuesta, según las predicciones de las hipótesis. Entonces, esta variable permitió hacer comparaciones (*i.e.* contrastes) del promedio de la frecuencia y duración de las visitas entre lo que se esperaba que resultara y lo que no se esperaba, de acuerdo con las predicciones puestas a prueba.

Es conveniente recalcar que en los tipos de entrenamientos con puntos cardinales y con pistas combinadas, la dirección de interés (cámara y brazo del laberinto experimental) contuvo la recompensa alimenticia durante los entrenamientos, y se espera que la frecuencia y duración de las visitas al brazo y cámara correspondientes del laberinto experimental sean mayores que para al resto de cámaras y brazos del laberinto experimental. Para el tipo de entrenamiento con posiciones invertidas, la dirección de interés (cámara y brazo del laberinto experimental)

contuvo la pista visual durante la prueba y se espera que la frecuencia y duración de las visitas al brazo y cámara correspondientes del laberinto experimental sean menores que al resto de los brazos y cámaras del laberinto experimental.

Tabla 4.4. Descripción y clasificación de las variables del estudio usadas en los análisis estadísticos

Variable	Descripción	Tipo
Variables independientes (explicativas)		
Puntos cardinales	Se refiere al punto cardinal al que estaban dirigidos los brazos y las cámaras del laberinto experimental	Discreta
Tipo de entrenamiento	El número asignado a cada brazo y cámara del laberinto experimental indica la posición de la recompensa alimenticia y la pista visual durante los entrenamientos y las pruebas	Discreta
Dirección de interés	Compara las visitas a los brazos y las cámaras del laberinto experimental en los que se espera ver una respuesta según las predicciones de las hipótesis y el resto de los brazos y las cámaras. Esto permite contrastar los resultados con las predicciones de las hipótesis correspondientes	Dicotómica
Variables dependientes (respuesta)		
Frecuencia de las visitas a los brazos del laberinto experimental	Número de veces que el cuerpo completo del pez cruzó la línea de entrada a cada brazo del laberinto experimental	Discreta
Duración de las visitas a los brazos del laberinto experimental	Tiempo acumulado que duraron las visitas a cada brazo del laberinto experimental	Continua
Frecuencia de las visitas a las cámaras del laberinto experimental	Número de veces que el cuerpo completo del pez cruzó la línea de entrada a cada cámara del laberinto experimental	Discreta
Duración de las visitas a las cámaras del laberinto experimental	Tiempo acumulado que duraron las visitas a cada cámara del laberinto experimental	Continua

Como el mismo pez podía visitar los cuatro brazos del laberinto experimental, y por lo tanto dar lugar a mediciones correlacionadas, la identidad de cada pez fue incluida en el análisis estadístico como una variable de efectos aleatorios. De ahí la razón de aplicar modelos lineales generalizados mixtos. La condición de mixto también se conoce como multi nivel o jerárquico (McElreath, 2020). El sexo de los peces también fue incluido en el modelo estadístico, pero como una covariable.

En primer lugar, realicé un análisis de las frecuencias y las duraciones de las visitas de todos los peces a las cámaras de los brazos del laberinto experimental tomando en cuenta únicamente la orientación de éstos respecto a los puntos cardinales, sin considerar los tipos de entrenamiento a los que los peces fueron sometidos. Realicé un análisis similar comparando los efectos de los tipos de entrenamiento, independientemente de los brazos y cámaras del laberinto experimental visitados.

En segundo lugar llevé a cabo un análisis estadístico del efecto que el tipo de entrenamiento y la dirección de interés tuvieron en las variables dependientes; lo realicé sólo para lo que sucedió en las cámaras del laberinto experimental. Lo hice así porque las visitas y sus duraciones a los brazos del laberinto experimental están correlacionadas con las mediciones respectivas en las cámaras del laberinto experimental, pues ambos sitios provienen del mismo laberinto experimental y porque cada pez tenía que pasar por cada brazo del laberinto experimental para alcanzar la cámara correspondiente.

Se asumió una distribución Poisson para las frecuencias de las visitas a los brazos del laberinto experimental y cámaras del mismo, mientras que una distribución normal fue adoptada para la duración de las visitas. En la estadística bayesiana ambas distribuciones corresponden a las funciones de verosimilitud de los datos, condicionado en el parámetro o los parámetros del modelo estadístico. Y es el producto de ésta y la distribución *a priori* que resulta en la distribución *a posteriori*. El procedimiento matemático correspondiente es variado; los métodos más populares son INLA, Integrated Nested Laplace Integration (Zuur y cols. 2017) y MCMC, Markov Chain Monte Carlo (McElreath, 2020). Para el análisis que aquí presento se utilizó el paquete *rethinking* en R (el cual usa MCMC). Este paquete depende a su vez del paquete *rstan*.

Presento los resultados como gráficas de las distribuciones *a posteriori*. Estas gráficas contienen la probabilidad relativa de los valores distintos que puede adoptar cada parámetro del modelo en función de los datos y el modelo estadístico aplicado (McElreath, 2020). Es decir, la compatibilidad relativa de los distintos valores estimados para cada parámetro con los datos, de acuerdo con el modelo aplicado. Una parte de las gráficas (excepto las distribuciones *a posteriori*) presentan el promedio de los valores estimados del parámetro que se trate, junto con un intervalo de compatibilidad al 89%. El valor de este intervalo varía dependiendo del propósito que cada investigador tiene respecto a lo que desea comunicar. El utilizado aquí es el que utiliza el paquete *rethinking* por defecto.

5. RESULTADOS

5.1. Características de los peces y el agua

Aunque la temperatura del agua entre el laberinto acondicionado (21.2 ± 0.8 °C) y el laberinto experimental (19.8 ± 0.6 °C) difirió, los peces puestos en el segundo laberinto fueron sometidos a un periodo de aclimatación antes de la realización de las pruebas de comportamiento.

Las hembras tuvieron una longitud estándar (5.43 ± 0.16 cm; promedio \pm desviación estándar del promedio; $n = 12$) mayor que los machos (4.78 ± 0.12 cm; $n = 12$). No obstante esta diferencia, no parece haber una asociación definida entre la frecuencia/duración de las visitas a las cámaras del laberinto experimental y la longitud estándar de los peces (Figura 5.1). Incluso el análisis estadístico no mostró diferencias entre las hembras y los machos, por lo que en adelante me referiré a los resultados sin hacer una distinción del sexo de los peces.

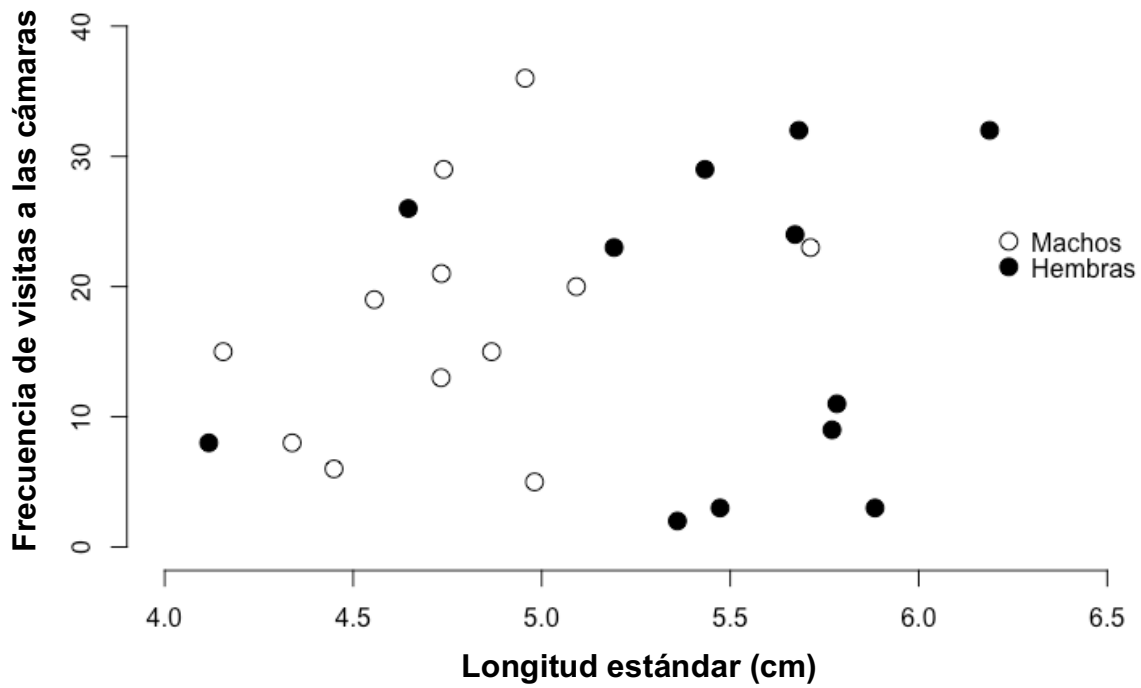


Figura 5.1. Gráfica que muestra la relación entre la frecuencia de las visitas a las cámaras de los brazos del laberinto experimental y la longitud estándar de los peces. Puede apreciarse que no hay algún patrón definido en dicha relación.

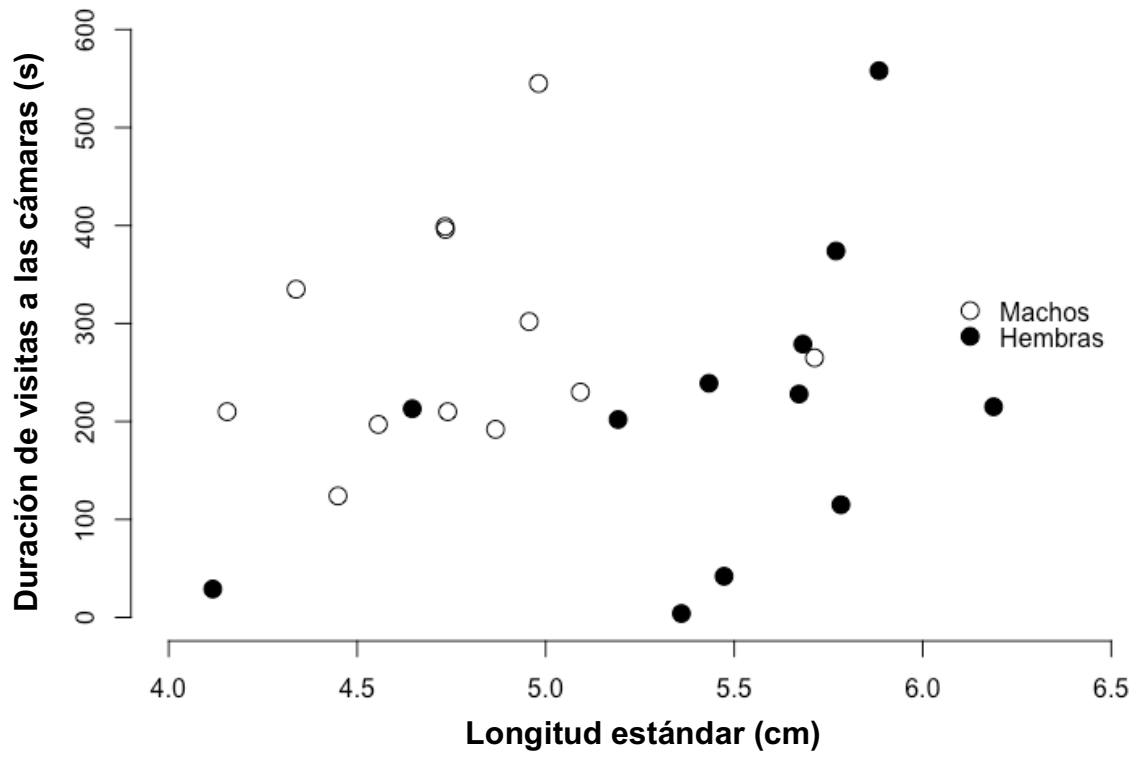


Figura 5.2. Gráfica que muestra la relación entre la duración de las visitas a las cámaras de los brazos del laberinto experimental y la longitud estándar de los peces. Tampoco aquí se aprecia algún patrón definido.

5.2. Efecto de los puntos cardinales en la frecuencia de visitas a las cámaras del laberinto experimental

El resultado del análisis estadístico sugiere que los peces ingresaron más veces a la cámara del laberinto experimental orientada hacia el oeste. El promedio esperado (*i.e.* lo que el modelo predice) de las visitas de todos los peces a la cámara del brazo orientado al oeste difiere del promedio esperado correspondiente a la cámara del brazo este; es decir, de la dirección opuesta (Figura 5.3). El promedio de la diferencia (0.32) y el intervalo de compatibilidad (IC_{89%}) correspondiente (de 0.09 a 0.54) otorgan poca probabilidad a una diferencia de cero; la distribución *a posteriori* así lo confirma (Figura 5.4). Puede decirse entonces que los peces ingresan más veces a la cámara del brazo del laberinto experimental orientado al oeste que al orientado al este.

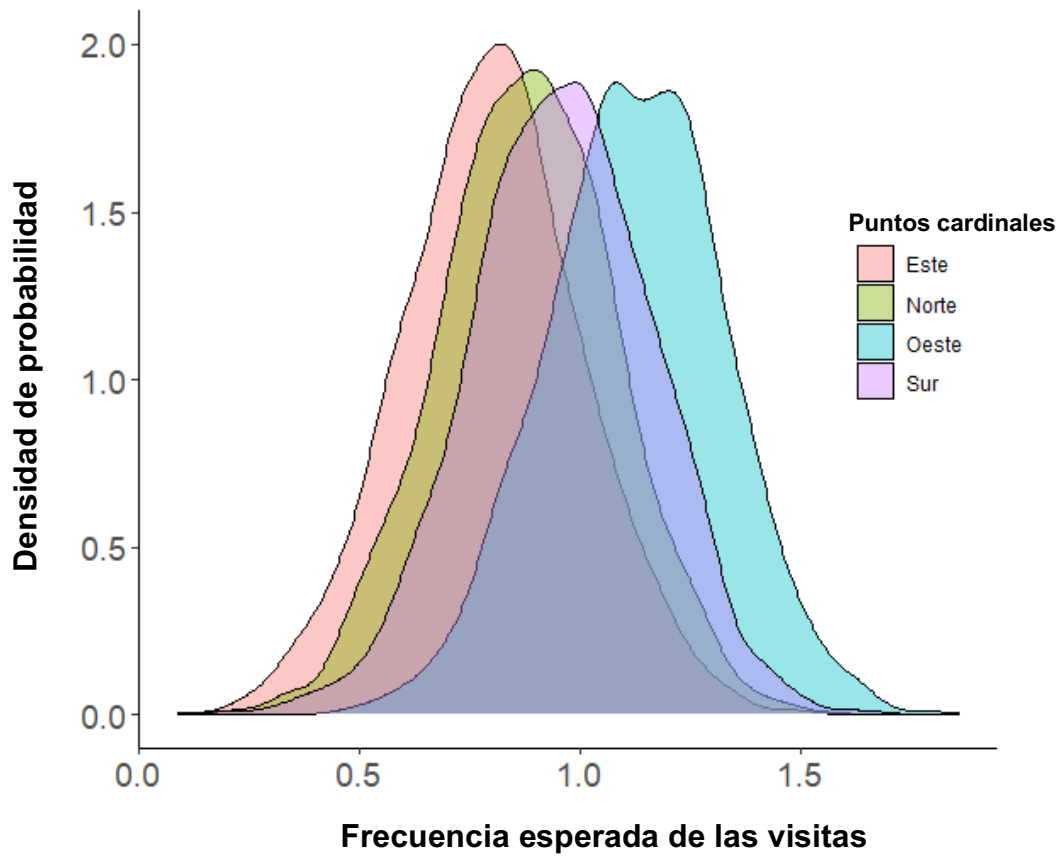


Figura 5.3. Distribuciones *a posteriori* de los promedios del número esperado de las visitas a las cámaras de los brazos del laberinto experimental, según su orientación respecto a los puntos cardinales. Se aprecia que los peces ingresaron más veces a la cámara del laberinto experimental orientada hacia el oeste (curva de color azul turquesa) que a las cámaras orientadas en las otras direcciones.

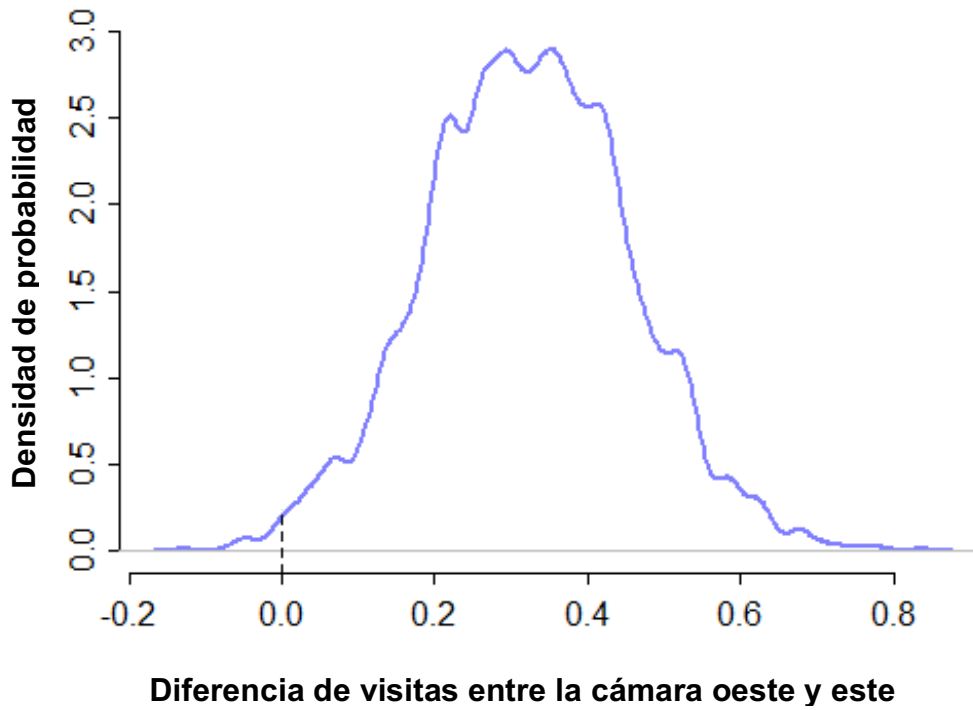


Figura 5.4. La distribución *a posteriori* de la diferencia de la frecuencia de las visitas entre la cámara del brazo del laberinto experimental orientada al oeste y la orientada al este. La línea vertical punteada marca una diferencia nula, cuya probabilidad relativa es baja.

5.3. Efecto de los puntos cardinales en la duración de las visitas a las cámaras del laberinto experimental

Un patrón similar ocurrió con la duración de las visitas de todos los peces a las cámaras de los brazos del laberinto experimental (Figura 5.5). El promedio de la diferencia (29.71 s; IC_{89%}: de 8.65 a 52.04 s) entre las visitas a la cámara del brazo orientado hacia el sur y la cámara orienta al este, indica que la duración promedio esperada de las visitas a la cámara sur fue mayor. En consecuencia, la distribución *a posteriori* confirma que es más probable que los peces prefieran pasar más tiempo en el lado sur que en el lado este (Figura 5.6).

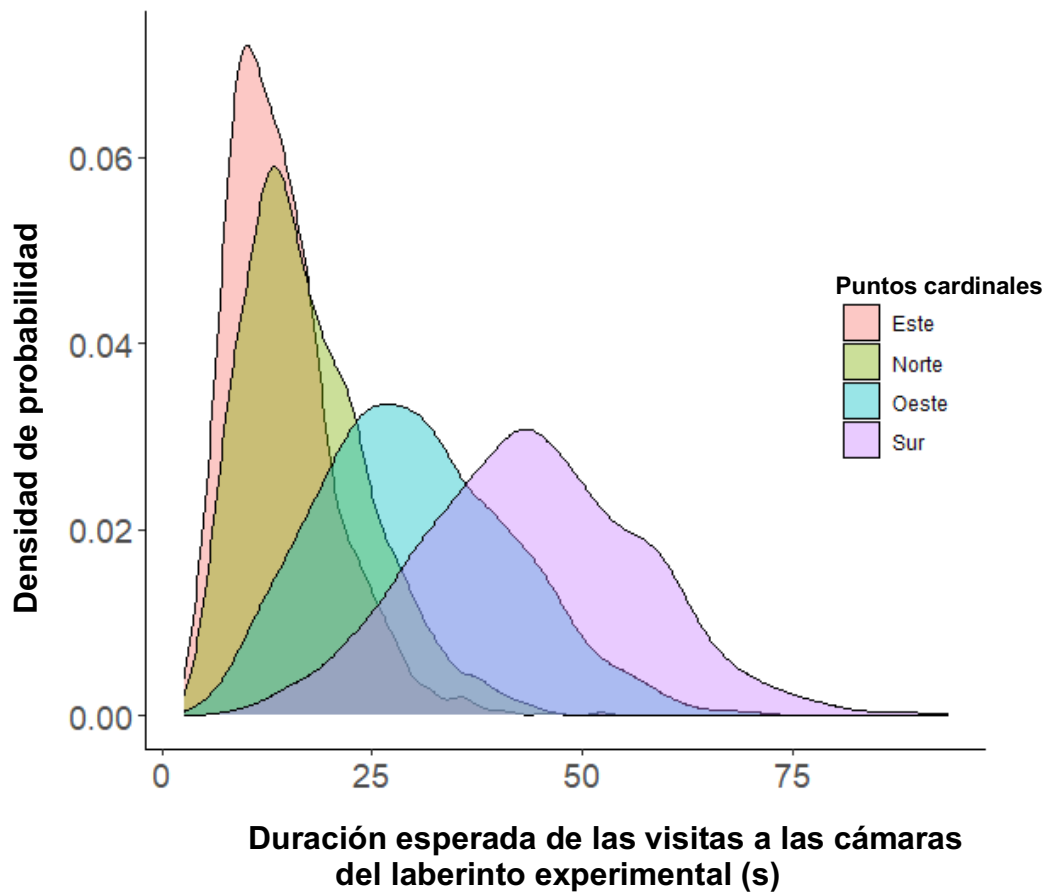


Figura 5.5. Distribuciones *a posteriori* de los promedios de la duración esperada de las visitas a las cámaras de los brazos del laberinto experimental, según su orientación respecto a los puntos cardinales. Se aprecia que los peces permanecieron más tiempo en la cámara del laberinto experimental orientada hacia el sur que en las orientadas en las otras direcciones.

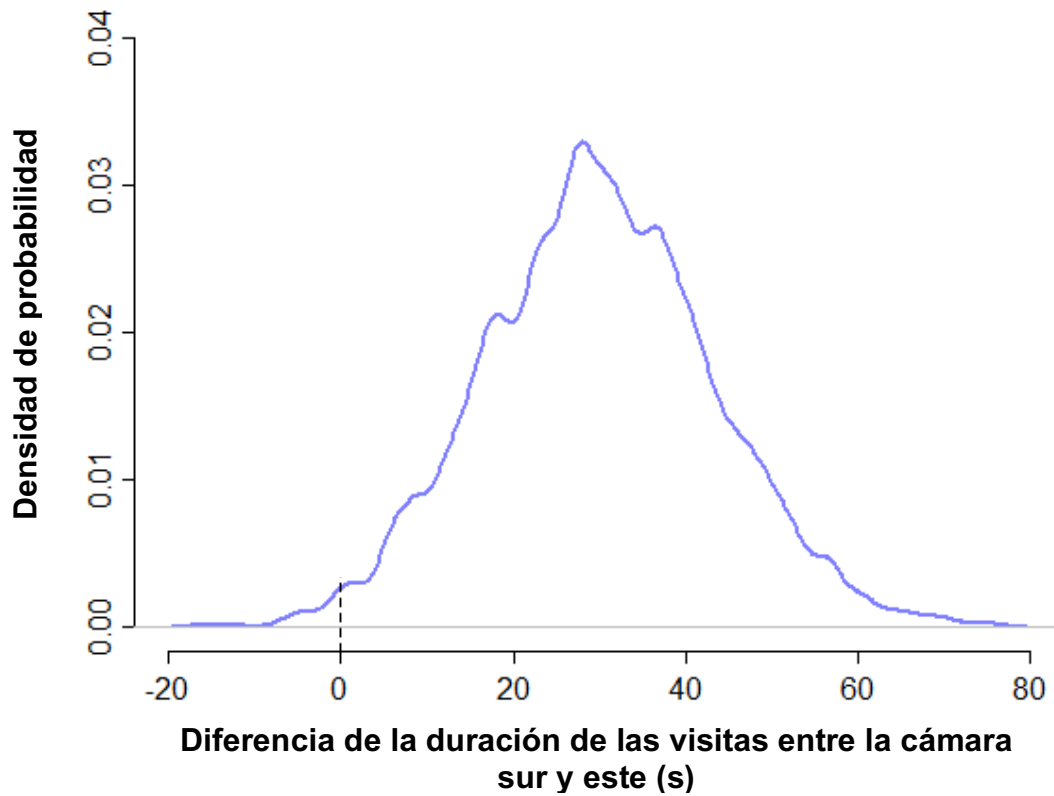


Figura 5.6. Distribución de la diferencia promedio de la duración de las visitas entre la cámara del brazo del laberinto experimental orientado al sur y la cámara del brazo orientada al este. La línea vertical punteada marca una diferencia nula, cuya probabilidad relativa, como puede apreciarse, es baja.

5.4. Diferencias entre los tipos de entrenamiento en la duración de visitas a las cámaras del laberinto experimental

El resultado del análisis estadístico sugiere que la duración esperada de las visitas a las cámaras de los brazos del laberinto experimental difirió entre los tipos de entrenamientos (Figura 5.7). Particularmente, la diferencia promedio (17.4 s) y el IC_{89%} respectivo (de -0.79 a 37.63 s) de la duración de las visitas entre los peces del entrenamiento con puntos cardinales y los peces del entrenamiento con pistas combinadas, indican que una diferencia nula es probable que ocurra, aunque moderadamente. La distribución *a posteriori* así lo apoya (Figura 5.8).

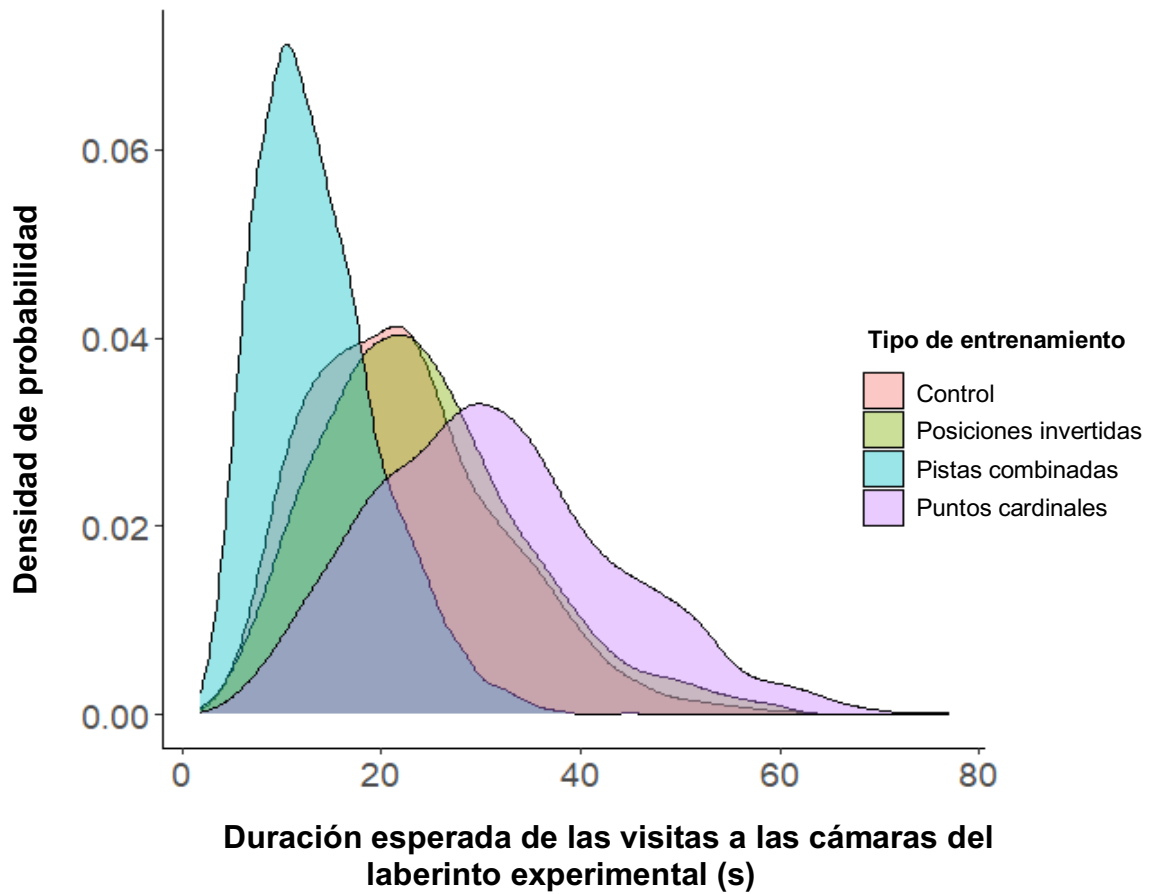


Figura 5.7. Distribuciones *a posteriori* de los promedios de la duración de las visitas a las cámaras de los brazos del laberinto experimental en cada tipo de entrenamiento. Se aprecia que la duración de las visitas a las cámaras del laberinto experimental de los peces sometidos al tipo de entrenamiento puntos cardinales fue mayor.

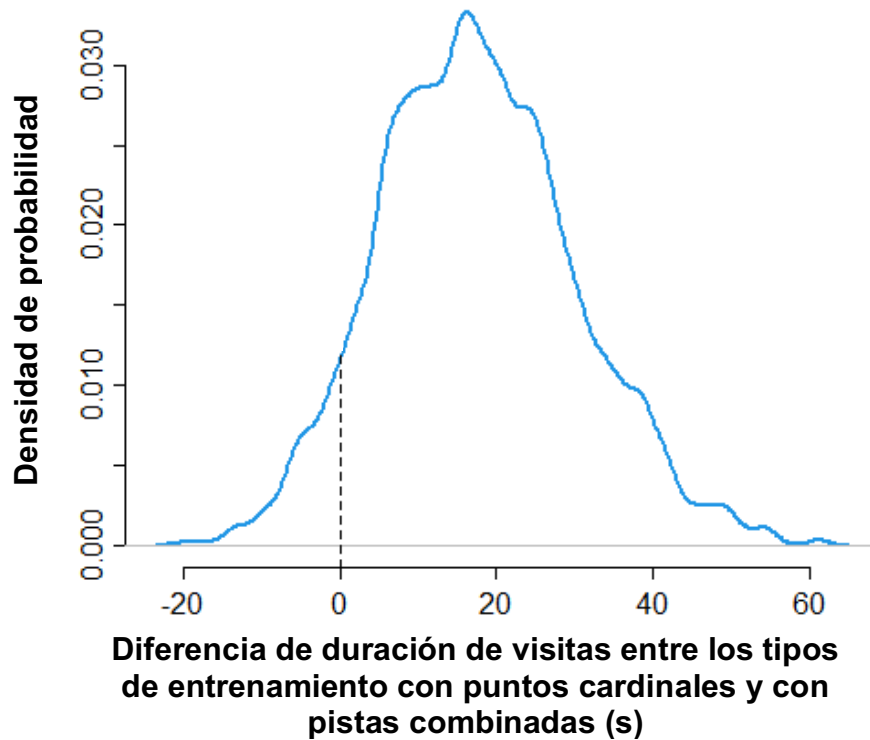


Figura 5.8. Distribución de la diferencia de la duración de las visitas entre los peces sometidos al tipo de entrenamiento con puntos cardinales y los peces sometidos al tipo de entrenamiento con pistas combinadas. La línea vertical punteada marca una diferencia nula, cuya probabilidad relativa es moderada.

5.5. Efectos de los tipos de entrenamiento en la duración de visitas a las cámaras del laberinto experimental

5.5.1. Efecto del tipo de entrenamiento con pistas combinadas

El resultado del análisis estadístico muestra una diferencia posible entre la duración esperada de las visitas a las cámaras de los brazos del laberinto experimental acorde con las predicciones de la hipótesis relevante (Figura 5.9). El promedio esperado de la duración de las visitas a la cámara de interés (30.24 s) y el del resto de las cámaras (13.95 s) de los brazos del laberinto experimental difiere (16.29 s; IC_{89%}: de 3.04 a 29.57 s). La distribución *a posteriori* confirma que los peces de hecho permanecieron más tiempo en esta cámara del laberinto experimental, la cual contenía la recompensa alimenticia (Figura 5.10).

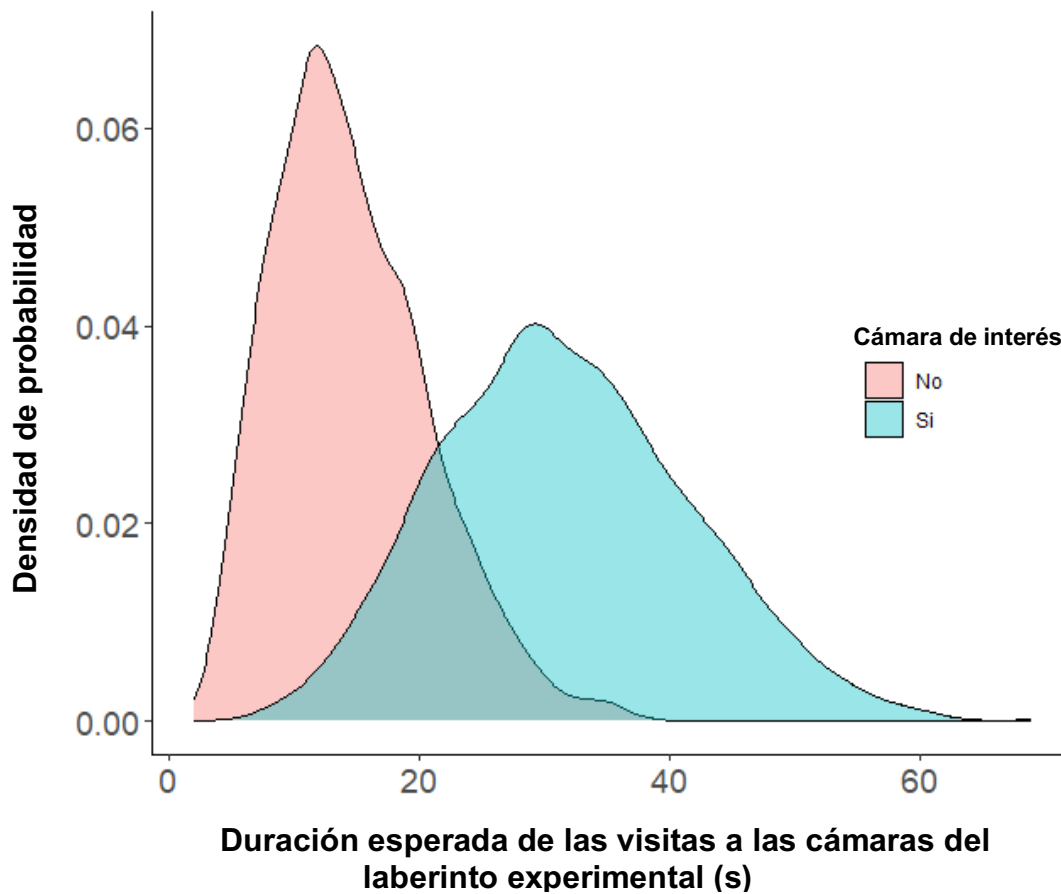


Figura 5.9. Distribuciones *a posteriori* de los promedios de la duración de las visitas a las cámaras de los brazos del laberinto experimental para los peces sometidos al tipo de entrenamiento con pistas combinadas. La cámara de interés particular (Si), según las predicciones de la hipótesis de pistas combinadas, contuvo la recompensa alimenticia, pero no (No) el resto de las cámaras. Se aprecia que la duración de las visitas a la cámara del laberinto experimental con interés particular fue mayor que la duración de las visitas a las otras tres cámaras del laberinto experimental.

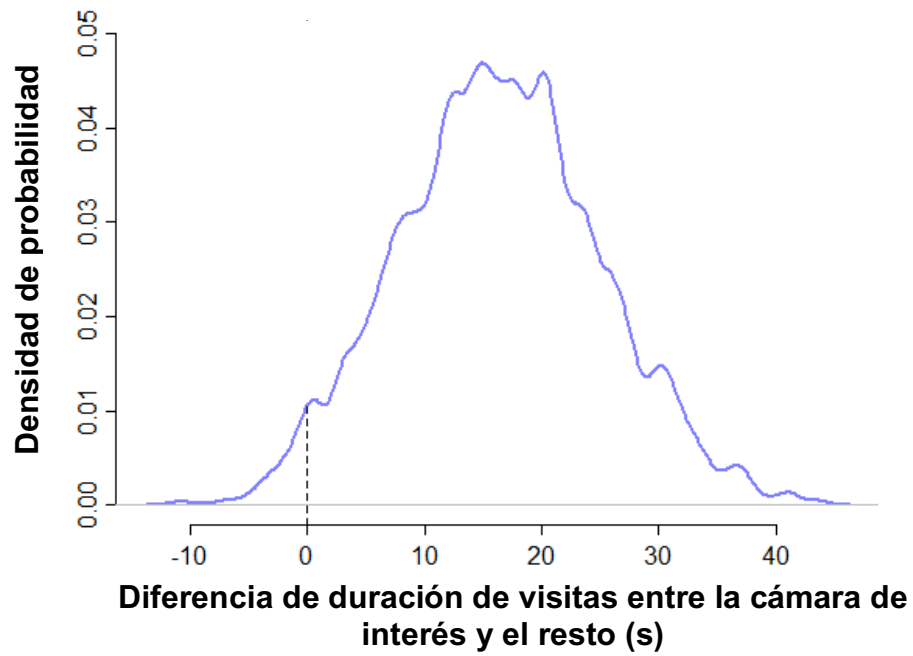


Figura 5.10. Distribución de las diferencias de la duración de las visitas entre la cámara de interés (SI) y el resto de las cámaras del laberinto experimental (NO). La línea vertical punteada marca una diferencia nula, cuya probabilidad relativa es baja.

De igual manera, el resultado del análisis estadístico muestra diferencias entre la duración esperada de las visitas a las 4 cámaras del laberinto experimental (Figura 5.11). Específicamente, los peces pasaron más tiempo en la cámara del laberinto experimental que contenía la recompensa alimenticia (cámara 2) que en la que contenía la pista visual (cámara 1). La distribución *a posteriori* confirma que el promedio de esta diferencia (21.32 s; IC_{89%}: de 5.20 a 36.70 s) dista de ser cero (Figura 5.12).

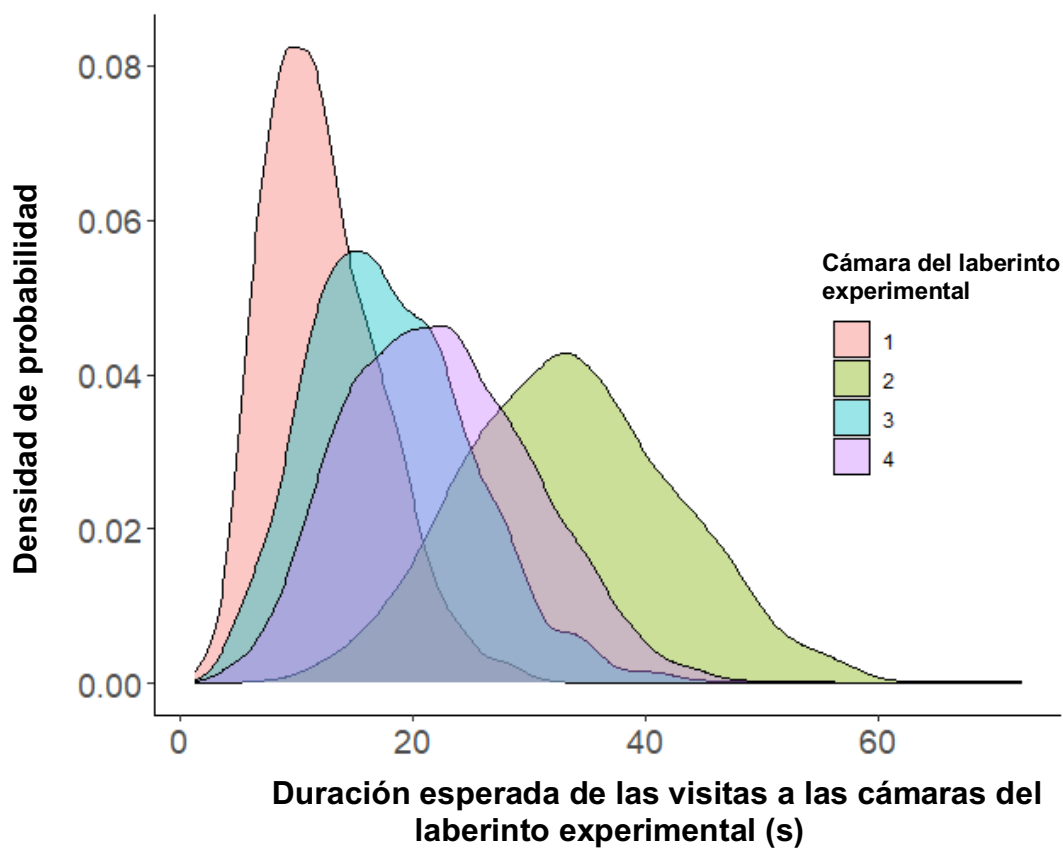


Figura 5.11. Distribuciones *a posteriori* de los promedios de la duración de las visitas a las cuatro cámaras del laberinto experimental. La cámara 1 contuvo la pista visual el día de la prueba; la cámara 2 contuvo la recompensa alimenticia durante la fase de aprendizaje; las cámaras 3 y 4 permanecieron vacías. Se aprecia una duración mayor en las visitas a la cámara del laberinto experimental que contuvo la recompensa alimenticia que en las visitas a las otras cámaras.

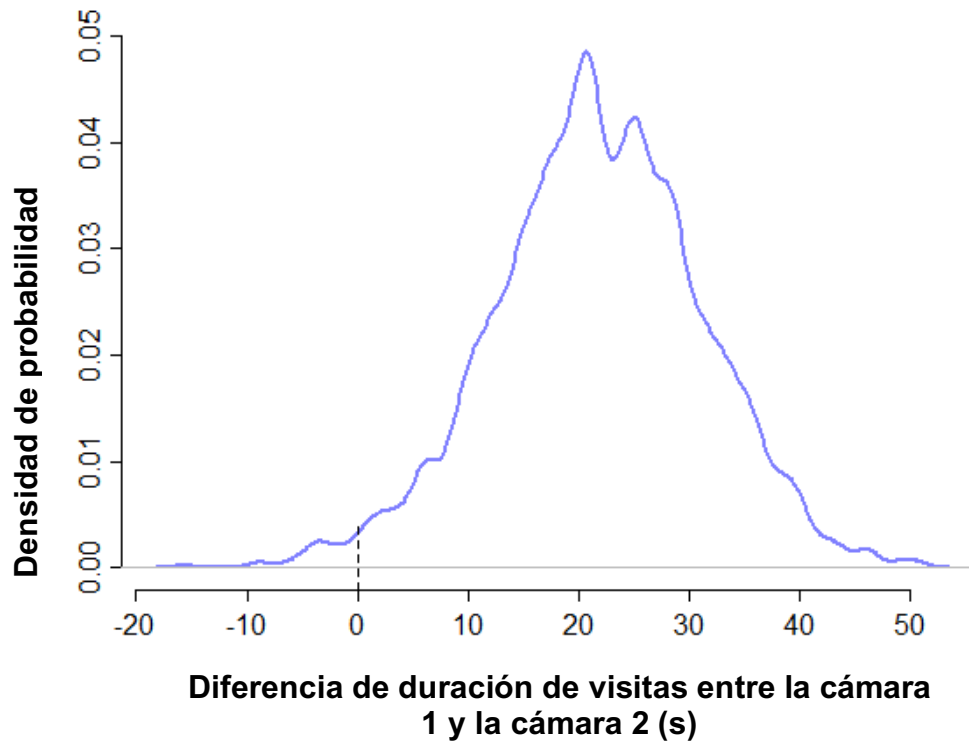


Figura 5.12. Distribución de la diferencia de la duración de las visitas entre la cámara del laberinto experimental que contenía la pista visual (número 1) y la que contenía la recompensa alimenticia (número 2). La línea vertical punteada marca una diferencia nula; la probabilidad de esta es notoriamente baja.

5.5.2. Efecto del tipo entrenamiento con puntos cardinales

Los resultados del análisis estadístico en este tipo de entrenamiento no sugieren alguna variación importante entre la duración esperada de las visitas a las cámaras del laberinto experimental. No obstante, analicé la diferencia de la duración esperada de las visitas entre la cámara de interés, según las predicciones de la hipótesis del sentido magnético (*i.e.* cámara que contuvo la recompensa alimenticia durante las sesiones de entrenamiento), y el resto de las cámaras del laberinto experimental (Figura 5.13). La distribución *a posteriori* no sugiere alguna diferencia relevante (Figura 5.14).

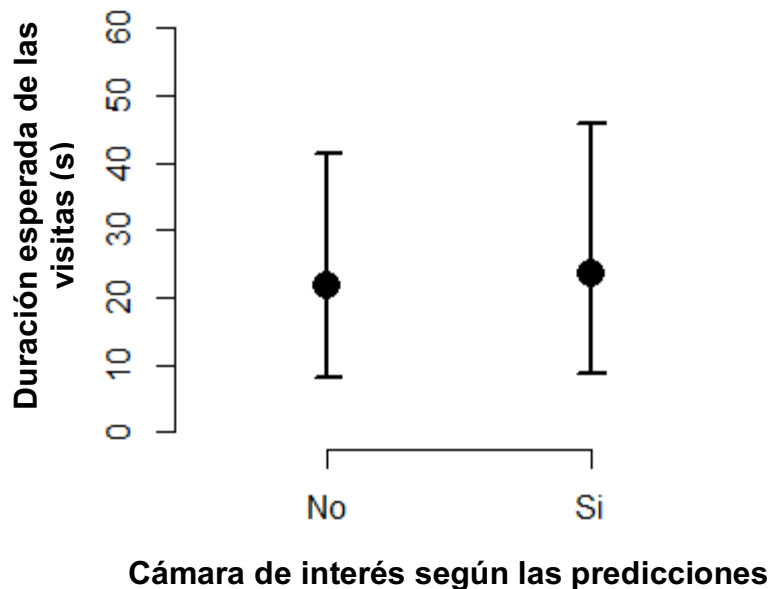


Figura 5.13. Promedios de la duración esperada de las visitas a la cámara de interés particular, según las predicciones de la hipótesis de sentido magnético (\pm el intervalo de compatibilidad al 89%). La cámara de interés contuvo la recompensa alimenticia durante las sesiones de entrenamiento (Si), pero no el resto de las cámaras (No) del laberinto experimental.

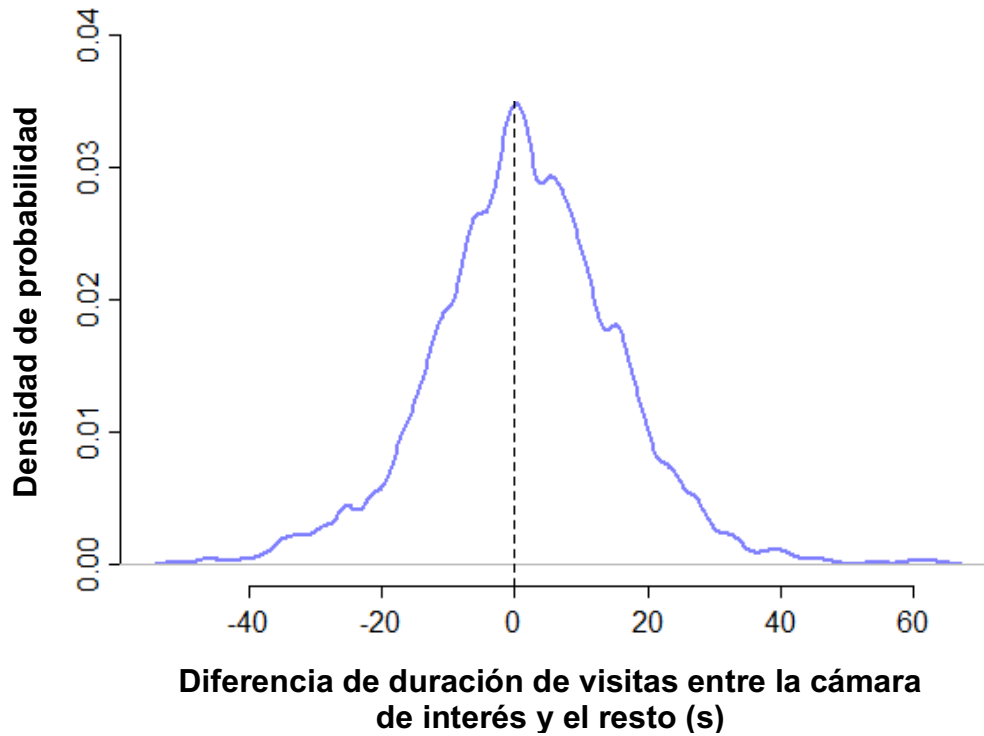


Figura 5.14. Distribución de las diferencias en la duración de las visitas entre la cámara de interés (Si), según las predicciones de la hipótesis del sentido magnético y el resto de las cámaras del laberinto experimental (No). La línea vertical punteada (una diferencia de cero) sugiere que las duraciones de las visitas fueron iguales en ambos casos.

Así mismo, analicé la diferencia de la duración esperada de las visitas entre la cámara del laberinto experimental que contuvo la recompensa alimenticia, durante las sesiones de entrenamiento (cámara 2), y una cámara que permaneció vacía (cámara 3); tampoco para este contraste encontré evidencia de alguna diferencia relevante (-7.5 s; $IC_{89\%}$: de -30.83 a 12.56 s) (Figura 5.15 y 5.16).

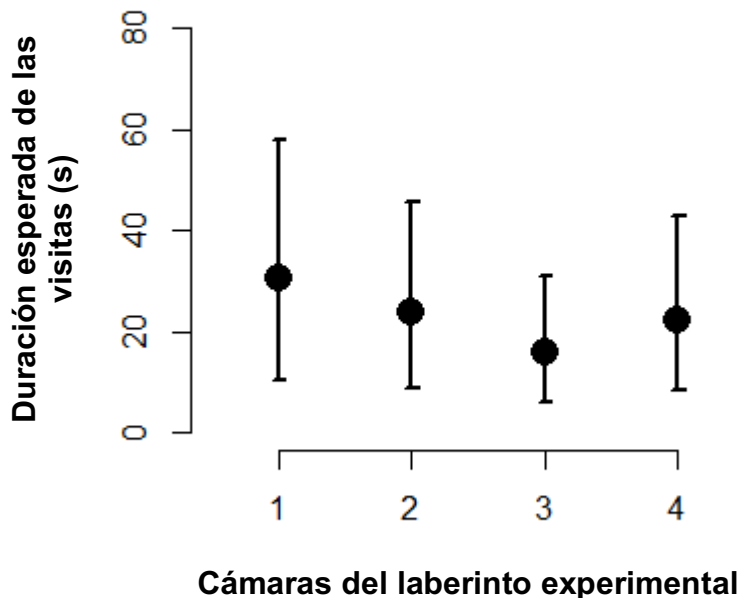


Figura 5.15. Promedio esperado de la duración de las visitas (\pm el intervalo de compatibilidad al 89%) a las 4 cámaras del laberinto experimental. La cámara 1 contuvo la pista visual en la prueba; la cámara 2 contuvo la recompensa alimenticia durante las sesiones de entrenamiento; las cámaras 3 y 4 permanecieron vacías. Se puede observar la carencia de diferencias aparentes entre las 4 cámaras del laberinto experimental.

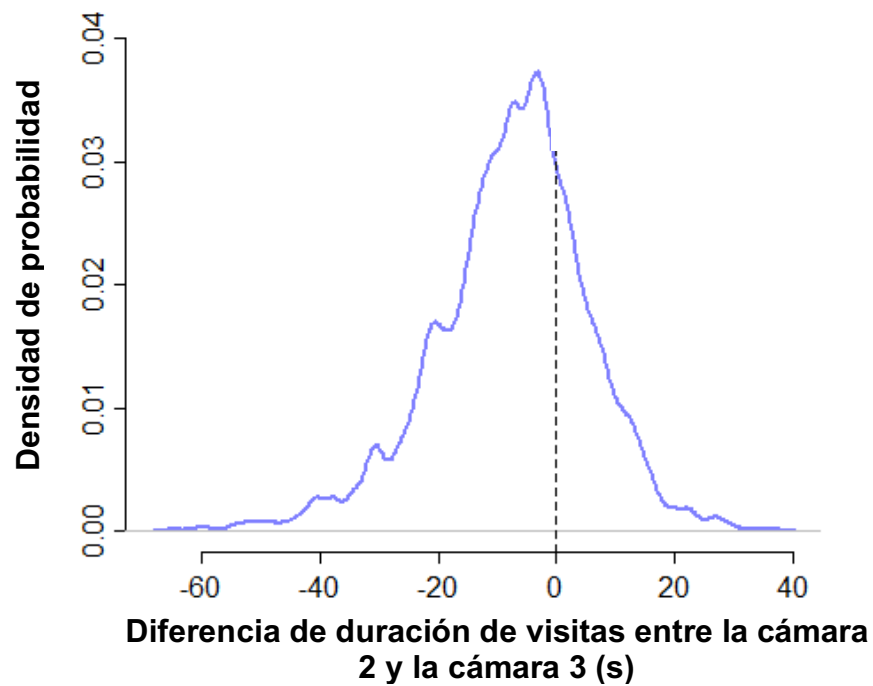


Figura 5.16. Distribución de la diferencia promedio de la duración esperada de las visitas de los peces entre la cámara del laberinto experimental, la que contenía la recompensa alimenticia durante las sesiones de entrenamiento (número 2), y una cámara que permaneció vacía (número 3). La línea vertical punteada marca una diferencia nula muy probable de ocurrir.

5.5.3. Efecto del tipo de entrenamiento con posiciones invertidas

Analicé la diferencia de la duración esperada de las visitas entre la cámara con interés particular, según las predicciones de la hipótesis del sentido magnético y las pistas visuales, y el resto de las cámaras de los brazos del laberinto experimental (Figura 5.17). Los resultados del análisis respectivo no sugieren alguna diferencia importante entre la duración esperada de las visitas a la cámara del laberinto experimental que contuvo la pista visual (posición fija) y el resto de las cámaras del laberinto experimental (-6.3 s; $IC_{89\%}$: de -29.64 a 15.40 s; Figura 5.18).

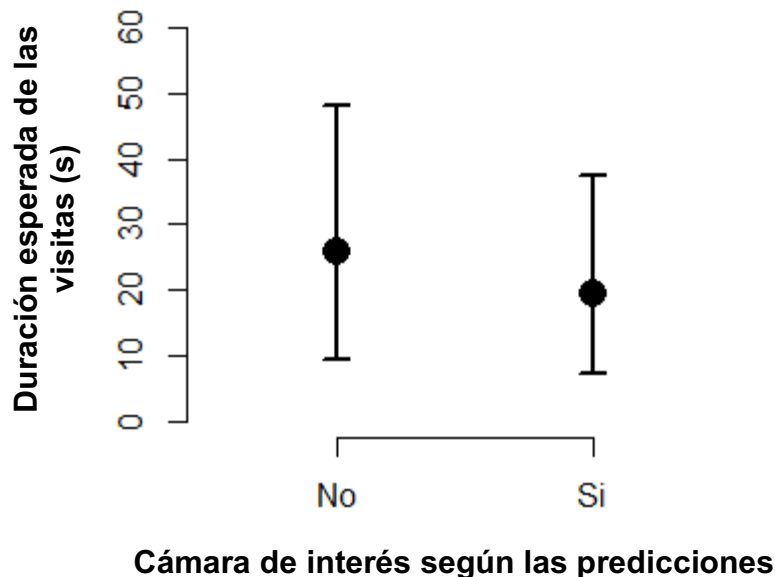


Figura 5.17. Promedios esperados de la duración de las visitas (\pm el intervalo de compatibilidad al 89%) a las cámaras del laberinto experimental, de y sin interés particular, según las predicciones de la hipótesis del sentido magnético y la de pistas visuales. La cámara de interés del laberinto experimental (Si) contuvo la pista visual durante la prueba, mientras que el resto de las cámaras permanecieron vacías (No). No se aprecia alguna diferencia entre las 2 condiciones.

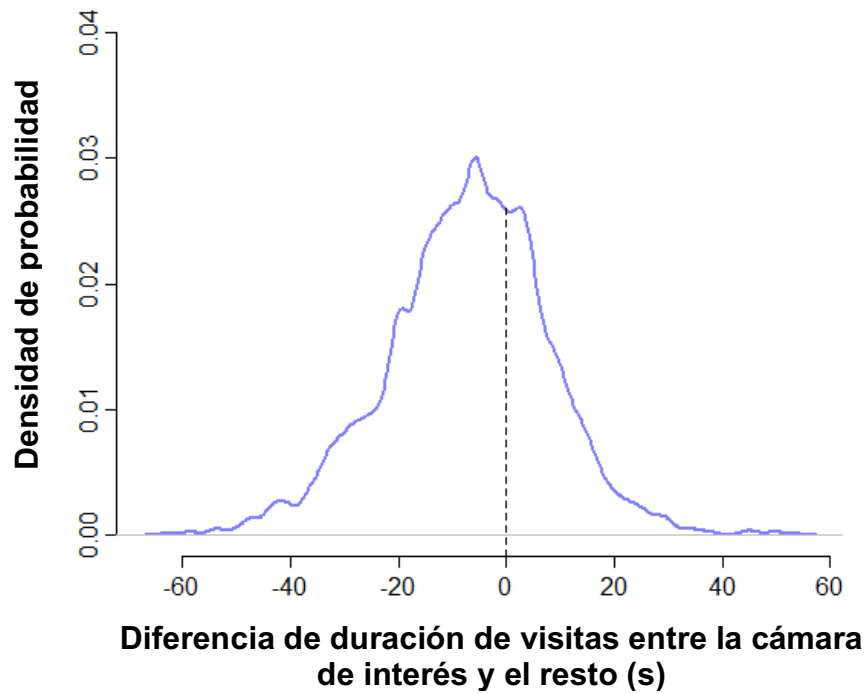


Figura 5.18. Distribución de la diferencia de la duración de las visitas entre la cámara de interés (Si), según las predicciones de la hipótesis del sentido magnético y la de pistas visuales, y el resto de las cámaras (No) del laberinto experimental. La línea vertical punteada marca una diferencia nula, la cual se espera que ocurra con una probabilidad relativa alta.

5.5.4. Efecto del tipo de entrenamiento control

Los resultados del análisis estadístico sugieren que la duración esperada de las visitas a la cámara del brazo del laberinto experimental orientada al sur es mayor que el resto de los puntos cardinales.(Figura 5.19). Particularmente, los promedios de la duración de las visitas entre la cámara sur y la cámara este del laberinto experimental difieren en 17 segundos aproximadamente (17.43 s; IC_{89%}: de -6.37 a 44.43 s), lo que indica que los peces tendieron (probabilidad relativa de 0.025) a permanecer más tiempo en la cámara sur del laberinto experimental. Sin embargo, también es posible que no haya tal diferencia (probabilidad relativa de cero: 0.015) (Figura 5.20)

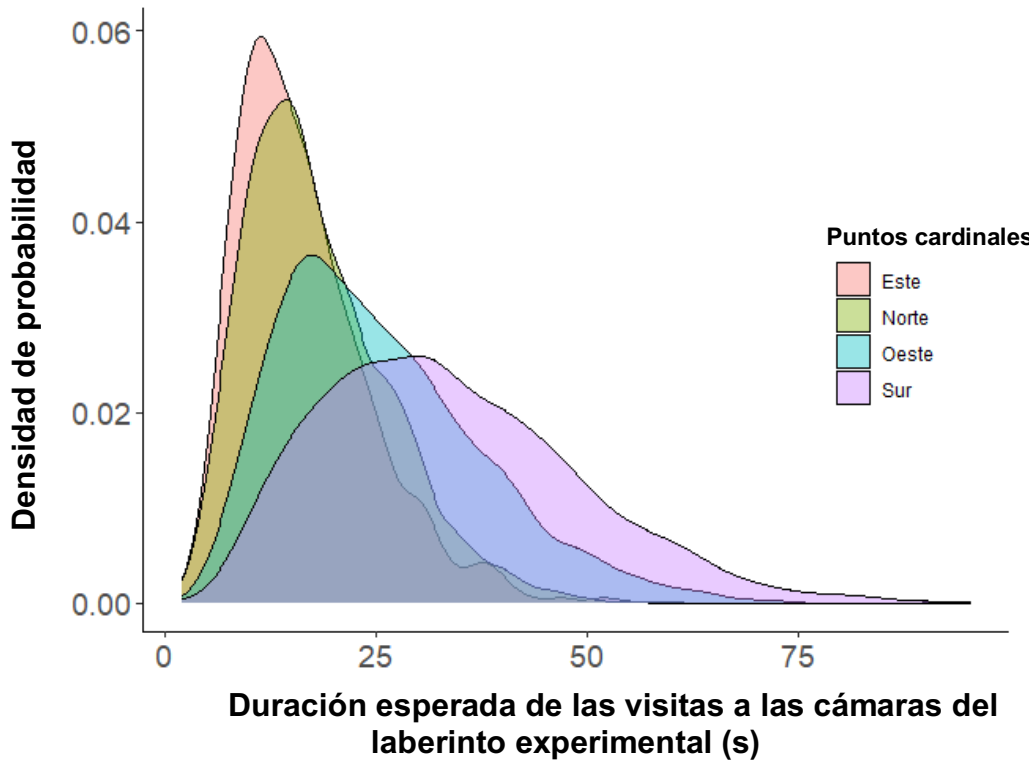


Figura 5.19. Distribuciones *a posteriori* de los promedios de la duración de las visitas a las cámaras de los brazos del laberinto experimental, según su orientación respecto a los puntos cardinales. Se aprecia que el contraste más grande se presenta entre la cámara sur y la cámara este del laberinto experimental.

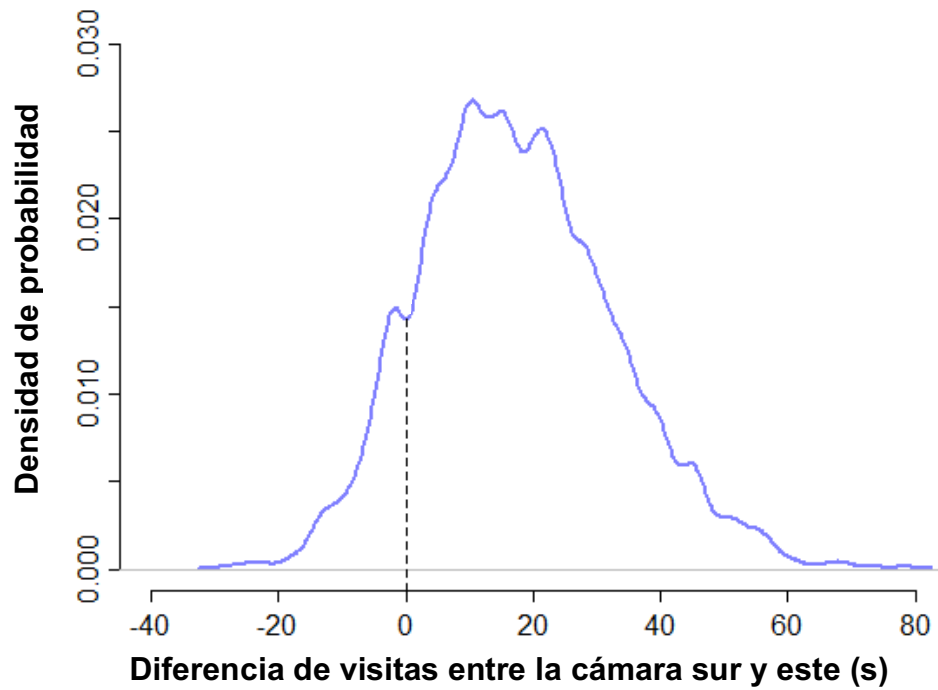


Figura 5.20. Distribución de la diferencia promedio de la duración de las visitas entre la cámara del brazo del laberinto experimental orientado al sur y la cámara del brazo del laberinto experimental orientado al este. La línea vertical punteada marca una diferencia nula, la cual, como puede apreciarse aquí, tiene una probabilidad relativa de ocurrir de 0.015.

De manera similar, analicé la posible diferencia entre el promedio esperado de la duración de las visitas a la cámara sur y la cámara norte del laberinto experimental. Los promedios difieren en 15 segundos (15.74 s; IC_{89%}: de -7.88 a 42.69 s), con una probabilidad relativa de 0.025 aproximadamente de que ocurra esta diferencia, y de 0.0175 de que no ocurra (Figura 5.21).

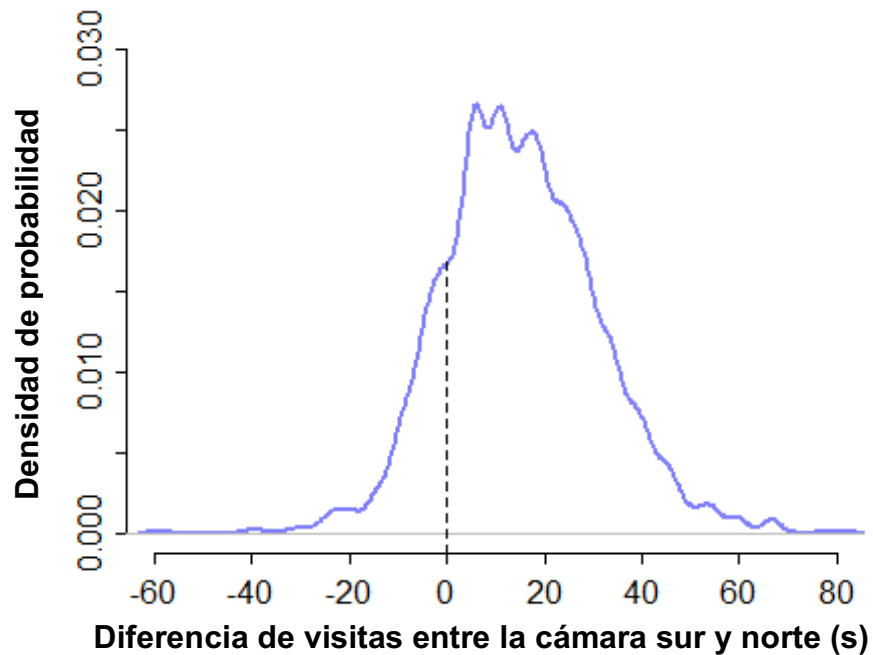


Figura 5.21. Distribución de la diferencia de la duración esperada de las visitas entre la cámara del brazo del laberinto experimental en la posición este y la cámara del brazo del laberinto experimental en la posición sur. La línea vertical punteada marca una diferencia nula, cuya probabilidad relativa es de 0.015 aproximadamente; es decir, es poco probable que haya una diferencia real entre ambos puntos cardinales.

6. DISCUSIÓN

Este trabajo tuvo como objetivo primordial determinar el tipo de información espacial que los peces *Xenotoca variata* usan para orientarse y navegar en su entorno. Puse a prueba las predicciones de tres hipótesis: la hipótesis del uso de pistas magnéticas, la hipótesis del uso de pistas visuales y la hipótesis del uso de pistas magnéticas y pistas visuales. Implementé para 24 peces cuatro tipos de entrenamiento individual y una prueba de orientación dentro de un laberinto de cuatro brazos. Durante la prueba los peces debían buscar una fuente de recursos con base en la ubicación previa de una recompensa alimenticia. A través del comportamiento de navegación que los peces mostraron durante la prueba, inferí las estrategias de orientación que utilizaban para ubicar la recompensa alimenticia. Los resultados del análisis estadístico mostraron que los peces utilizan sobre todo pistas visuales como puntos de referencia para orientarse. Los resultados también sugieren que los peces de esta especie podrían estar utilizando un sentido magnético para orientarse, aunque es incierta la razón de ello.

Las estrategias de navegación individuales dependen de la información ambiental y de las modalidades sensoriales con las que cuenta cada individuo de una especie. Los peces, por ejemplo, pueden jerarquizar la información espacial recibida de un sistema sensorial, o pueden integrar la que proviene de varios sentidos y usarla conjuntamente, de forma redundante o complementaria (de Perera, 2011; Schumacher y cols. 2017). Durante las sesiones de entrenamiento, los peces de este estudio, tuvieron únicamente dos fuentes de información espacial para orientarse en búsqueda de la recompensa alimenticia: el punto cardinal que ésta

ocupaba y la relación espacial que guardaba con la pista visual. Con base en el tipo de entrenamiento al que los peces fueron sometidos, éstos podían utilizar una fuente de información o una combinación de ambas, como referencias para aprender la ubicación de la recompensa alimenticia y elegir una estrategia de navegación acorde.

El análisis de los resultados del tipo de entrenamiento con pistas combinadas muestran que éste tuvo un efecto importante en la duración de las visitas de los peces a las cámaras del laberinto experimental, donde la recompensa alimenticia había estado previamente. A lo largo de las sesiones de este tipo de entrenamiento, la relación espacial entre la pista visual y la recompensa alimenticia se mantuvo fija para cada pez, pero varió entre los seis peces asignados a este tratamiento. Tomando al centro del laberinto experimental como punto de partida, en tres ocasiones la cámara del laberinto experimental que contenía la recompensa alimenticia se ubicó a la derecha del brazo que contenía la pista visual. En dos ocasiones, la cámara del laberinto experimental que contenía la recompensa alimenticia fue ubicada en la cámara del brazo opuesto a la cámara del brazo que contenía la pista visual. Y en una ocasión, la cámara del laberinto experimental que contenía la recompensa alimenticia fue ubicada a la izquierda del brazo del laberinto que contenía la pista visual.

Los resultados del análisis estadístico de esa relación espacial fija muestran que los peces *X. variata* tienen la capacidad de orientarse de forma aloéctrica utilizando pistas visuales como punto de referencia para encontrar una fuente de alimento. Este hallazgo coincide con lo que otros autores han encontrado en otras especies de peces, especialmente en

peces dorados (*Carassius auratus*) y peces cebra (*Danio rerio*) (Rodríguez y cols. 1994; López y cols. 1999; Odling-Smee y Braithwaite, 2003; Schluessel y Bleckmann, 2005; Braithwaite y De Perera, 2006; Salas, 2008).

Por otra parte, los resultados del análisis estadístico no muestran un efecto importante de los tipos de entrenamientos basados en el uso *exclusivo* de los puntos cardinales o al invertir la posición de las pistas, con respecto a la duración de las visitas a las cámaras del laberinto experimental. En ambos tipos de entrenamiento el cubo y la recompensa alimenticia no guardaron entre sí la misma relación espacial a lo largo del entrenamiento, por lo que los peces no podían utilizar la localización del cubo como un punto de referencia para encontrar la recompensa alimenticia. En estos entrenamientos los peces sólo podían reconocer la posición (fija o móvil) de la recompensa alimenticia o del cubo, si reconocían que éstos permanecían en el mismo punto cardinal, pues no contaban con ningún otro tipo de información sensorial dentro del laberinto que pudieran usar como punto de referencia. Este resultado sugiere que los peces no utilizaron el sentido magnético como fuente de información para encontrar la recompensa alimenticia.

El resultado del análisis estadístico mostró un efecto inesperado del tipo de entrenamiento control en la duración de las visitas a las cámaras del laberinto experimental: los peces permanecieron más tiempo en la cámara del laberinto experimental orientada hacia el sur. El análisis comparativo de la frecuencia de las visitas y su duración a las cámaras de los brazos del laberinto experimental, con independencia del tipo de entrenamiento, reveló una

preferencia de los peces *X. variata* por visitar con más frecuencia el oeste y por permanecer más tiempo en el sur. Además, los resultados del análisis estadístico también mostraron que los peces sometidos al entrenamiento de puntos cardinales pasaron más tiempo en las cámaras del laberinto experimental, con independencia de los puntos cardinales, que los peces expuestos al entrenamiento con pistas combinadas. Estos resultados en conjunto sugieren que, aunque los peces no utilizaron exclusivamente pistas magnéticas como fuentes de información para encontrar la recompensa alimenticia, sí podrían haber utilizado un sentido magnético para orientarse. Sin embargo, es difícil saber la razón de la dirección de esa tendencia.

El arreglo experimental que implementé descarta que los peces hubieran utilizado alguna fuente de información adicional obvia. Sin embargo, cabe la posibilidad de que los cables de las videocámaras, luces y computadora hubieran generado un campo magnético suficientemente intenso para ser detectado por los peces. Pero aún así, es difícil, con los resultados de este estudio, determinar por qué los peces preferirían pasar más tiempo en el lado sur del laberinto experimental. Otras fuentes de información como los sonidos generados por los automotores en la avenida aledaña al laboratorio, o vibraciones causadas por objetos cercanos, difícilmente atrajeron la atención de los peces, pues incluso habían disminuido en intensidad por las restricciones de movilidad debido a la contingencia sanitaria.

Algunos autores han encontrado en otras especies de peces, que las preferencias de orientación en una dirección particular podrían tener una relevancia ecológica (Mann y cols. 1988; Hart y cols. 2012; Krylov y cols. 2016). Por ejemplo, el rutilo muestra una preferencia en

una dirección de movimiento—bajo la influencia de un campo magnético y sus modificaciones—que coincide con la dirección del caudal del río que habita. Asimismo, alevines y juveniles del salmón rojo (*Oncorhynchus nerka*) mostraron una preferencia de orientación dentro de una arena circular, en la dirección que desemboca el río en su ruta de migración hacia el mar (Mann y cols. 1988). Trabajos futuros podrían tener como objetivo investigar si la preferencia de orientación de *X. variata* hacia el sur y el oeste tienen alguna relevancia ecológica para la especie. El trabajo de Fascinetto-Zago (201) así lo sugiere, pues los machos *X. variata* preferían cortejar a las hembras cuando la fuente luminosa del arreglo experimental provenía del sur oeste y con una inclinación que asemejaba la puesta del sol. Quizás, entonces estos peces asocien esa dirección con sitios/periodos de cortejo.

Con este estudio busqué aportar información sobre la existencia del sentido magnético en peces *X. variata*, específicamente de cómo podrían utilizar el campo magnético terrestre para integrar información espacial, y para qué podrían estar utilizándola. Otros autores han investigado el efecto de campos magnéticos—generados artificialmente para el estudio—de intensidades superiores o inferiores a las del eje de la tierra, en el comportamiento de orientación de algunos animales (Shcherbakov y cols. 2005; Osipova y cols. 2016). Estos estudios han aportado información valiosa sobre la capacidad de los animales de detectar estímulos magnéticos variados (Shcherbakov y cols. 2005; Osipova y cols. 2016). A pesar de la importancia de estos estudios, sus resultados no pueden confirmar que los individuos de las especies involucradas tengan la capacidad de percibir la información del campo magnético terrestre, ni de la función que este sistema sensorial podría tener para ellas. El estudio que yo

llevé a cabo tiene validez externa, en la medida en que los resultados se obtuvieron exponiendo a los peces a situaciones ecológicamente relevantes.

El estrés agudo producido por una manipulación experimental no invasiva puede todavía impedir que animales como los peces aprendan una tarea (Barreto y cols. 2006; Salena y cols. 2021). La introducción de una fase de aclimatación al arreglo experimental y una fase de pre-entrenamiento, como en este estudio, han sido usadas para reducir el estrés experimentado por los peces durante la implementación de programas de entrenamiento (Sison y Gerlai, 2010; Schumacher y cols. 2017; Lucon-Xiccato y Bisazza, 2017), lo que ha permitido aislar el efecto del entrenamiento en el comportamiento de interés. Por lo tanto, los resultados de este trabajo, apegado a los cuidados de diseño experimental recomendados, pueden interpretarse en función exclusivamente del efecto de los tipo de entrenamiento a los que los peces fueron expuestos.

Con base en los resultados mostrados y los antecedentes aquí expuestos, concluyo que los peces *Xenotoca variata* tienen la capacidad de utilizar pistas visuales como fuentes de información para orientarse de forma aloentrónica respecto a una fuente alimenticia. Además, también obtuve evidencia de que los peces tienen una preferencia por dirigirse y permanecer en dirección oeste y sur. Estudios posteriores podrían estar encaminados a estudiar la relevancia ecológica que pudiera tener esta tendencia, la cual sugiere fuertemente que esta especie tiene la capacidad de percibir el eje magnético terrestre.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Braithwaite, V. A., & De Perera, T. B. (2006). Short-range orientation in fish: how fish map space. *Marine and freshwater behavior and physiology*, 39(1), 37-47.
- Braithwaite, V.A. 2011. Fish Learning and Memory (707-712). En: *Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment*. Volume I: The senses, supporting tissues, reproduction and behavior. Eds: Farrell, A. P. Academic Press.
- De la Rosa, D. O. (2020). Caracterización de la visión a color de *Xenotoca variata*. Tesis de Licenciatura, Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.
- de Perera, T. B. 2011. Spatial Orientation: How do fish find their way around? (720-725). En: *Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment*. Volume I: The senses, supporting tissues, reproduction and behavior. Eds: Farrell, A. P. Academic Press.
- de Perera, T. B., Holbrook, R. I., & Davis, V. (2016). The representation of three-dimensional space in fish. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 10, 40.
- de Perera, T. B. (2004). Fish can encode order in their spatial map. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 271(1553), 2131-2134.
- Domínguez-Domínguez, O., Zambrano, L., Escalera-Vázquez, L. H., Pérez-Rodríguez, R., & Pérez-Ponce de León, G. (2008). Cambio en la distribución de goodeidos (Osteichthyes: Cyprinodontiformes: Goodeidae) en cuencas hidrológicas del centro de México. *Revista mexicana de biodiversidad*, 79(2), 501-512.
- Fascinetto-Zago, P. 2018. Optimización del comportamiento de cortejo de los machos de *Xenotoca variata* en función de la luz ambiental. Tesis de Maestría, Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.
- Fitak, R. R., Wheeler, B. R., Ernst, D. A., Lohmann, K. J., & Johnsen, S. (2017). Candidate genes mediating magnetoreception in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Biology letters*, 13(4), 20170142.
- Formicki, K., Korzelecka-Orkisz, A., & Tański, A. (2019). Magnetoreception in fish. *Journal of fish biology*, 95(1), 73-91.
- Hart, V., Kušta, T., Němec, P., Bláhová, V., Ježek, M., Nováková, P., ... & Štípek, K. (2012). Magnetic alignment in carps: evidence from the Czech Christmas fish market. *PLoS One*, 7(12), e51100.
- Hewitt P.G. (2007). *Física Conceptual*. México: Pearson Educación.
- Holbrook, R. I., & de Perera, T. B. (2009). Separate encoding of vertical and horizontal components of space during orientation in fish. *Animal Behaviour*, 78(2), 241-245.

- Johnsen, S., & Lohmann, K. J. (2005). The physics and neurobiology of magnetoreception. *Nature Reviews Neuroscience*, 6(9), 703.
- Kirschvink, J. L., Walker, M. M., & Diebel, C. E. (2001). Magnetite-based magnetoreception. *Current opinion in neurobiology*, 11(4), 462-467.
- Krylov, V. V., Izyumov, Y. G., Izvekov, E. I., & Nepomnyashchikh, V. A. (2014). Magnetic fields and fish behavior. *Biology Bulletin Reviews*, 4(3), 222-231.
- Krylov, V. V., Osipova, E. A., Pavlova, V. V., & Batrakova, A. A. (2016). Influence of magnetic field on the spatial orientation in zebrafish (*Danio rerio*)(Cyprinidae) and Roach (*Rutilus rutilus*)(Cyprinidae). *Journal of ichthyology*, 56(3), 456-461.
- la Vega-Salazar, D., & Marina, Y. (2006). Estado de conservación de los peces de la familia Goodeidae (Cyprinodontiformes) en la mesa central de México. *Revista de biología tropical*, 54(1), 163-177.
- Lohmann, K. J. (2010). Q&A: Animal behaviour: Magnetic-field perception. *Nature*, 464(7292), 1140.
- Lohmann, K. J. (2016). Protein complexes: a candidate magnetoreceptor. *Nature materials*, 15(2), 136.
- Lohmann, K. J., & Johnsen, S. (2000). The neurobiology of magnetoreception in vertebrate animals. *Trends in neurosciences*, 23(4), 153-159.
- Lucon-Xiccato, T., & Bisazza, A. (2017). Complex maze learning by fish. *Animal behaviour*, 125, 69-75.
- Macías, C. Gesundheit, P. 2005. Biogeografía cladística de la familia Goodeidae (Cyprinodontiformes) (319-338). En: Regionalización biogeográfica en Iberoamérica y tópicos afines. Eds: Llorente, J. Morrone J. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Manjarrez, J., Rivas-González, E., Venegas-Barrera, C. S., & Moyaho, A. (2015). Visual detection of speckles in the fish *Xenotoca variata* by the predatory snake *Thamnophis melanogaster* in water of different turbidity. *PloS one*, 10(6), e0129429.
- McElreath, R. 2020. *Statistical Rethinking*. Second Edition. Boca Raton, FL.: CRC Press.
- Moyaho, A., García, C. M., & Manjarrez, J. (2004). Predation risk is associated with the geographic variation of a sexually selected trait in a viviparous fish (*Xenotoca variata*). *Journal of Zoology*, 262(3), 265-270.
- Odling-Smee, L., & Braithwaite, V. A. (2003). The influence of habitat stability on landmark use during spatial learning in the three-spined stickleback. *Animal Behaviour*, 65(4), 701-707.
- Osipova, E. A., Pavlova, V. V., Nepomnyashchikh, V. A., & Krylov, V. V. (2016). Influence of magnetic field on zebrafish activity and orientation in a plus maze. *Behavioural processes*, 122, 80-86.

- Petrazzini, M. E. M., Lucon-Xiccato, T., Agrillo, C., & Bisazza, A. (2015). Use of ordinal information by fish. *Scientific reports*, 5, 15497.
- Pouca, C. V., & Brown, C. (2017). Contemporary topics in fish cognition and behaviour. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 16, 46-52.
- Putman, N. F., Scanlan, M. M., Billman, E. J., O'Neil, J. P., Couture, R. B., Quinn, T. P., ... & Noakes, D. L. (2014). An inherited magnetic map guides ocean navigation in juvenile Pacific salmon. *Current Biology*, 24(4), 446-450.
- Qin, S., Yin, H., Yang, C., Dou, Y., Liu, Z., Zhang, P., ... & Hao, J. (2016). A magnetic protein biocompass. *Nature materials*, 15(2), 217.
- Roitblat, H. L., Tham, W., & Golub, L. (1982). Performance of *Betta splendens* in a radial arm maze. *Animal Learning & Behavior*, 10(1), 108-114.
- Salas, C. (2008) Spatial Learning in Fish (499-527). En: *Learning and memory: a comprehensive reference*. Volume 4. Eds: Byrne, J. H. Academic Press.
- Salena, M. G., Turko, A. J., Singh, A., Pathak, A., Hughes, E., Brown, C., & Balshine, S. (2021). Understanding fish cognition: a review and appraisal of current practices. *Animal Cognition*, 1-12.
- Schmidt-Nielsen K. (1997). *Animal Physiology: Adaptation and Environment*. Quinta Edición, Estados Unidos de América: Cambridge University Press.
- Shcherbakov, D. Winklhofer, M. Petersen, N. Steidle, J. Hilbig, R. Blum, M. (2005). Magnetosensation in zebrafish. *Current biology* : CB. 15. R161-2. 10.1016/j.cub.2005.02.039.
- Sison, M., & Gerlai, R. (2010). Associative learning in zebrafish (*Danio rerio*) in the plus maze. *Behavioural brain research*, 207(1), 99-104.
- Sovrano, V. A., Bisazza, A., & Vallortigara, G. (2003). Modularity as a fish (*Xenotoca eiseni*) views it: conjoining geometric and nongeometric information for spatial reorientation. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 29(3), 199.
- Sovrano, V. A., Bisazza, A., & Vallortigara, G. (2007). How fish do geometry in large and in small spaces. *Animal cognition*, 10(1), 47-54.
- Walker, MM. 2011. Magnetic Sense in Fishes. (726-735). En: *Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment*. Volume I: The senses, supporting tissues, reproduction and behavior. Eds: Farrell, A. P. Academic Press.
- Wang, C. X., Hilburn, I. A., Wu, D. A., Mizuhara, Y., Cousté, C. P., Abrahams, J. N., ... & Kirschvink, J. L. (2019). Transduction of the Geomagnetic Field as Evidenced from Alpha-band Activity in the Human Brain. *eneuro*, 6(2).
- Wilson J., Buffa A.J. & Lou B. (2007). *Física*. Sexta Edición. México: Pearson Educación.

- Wyatt, TD. (2017). *Animal behavior: A short introduction*. 1a edición, Reino Unido: Oxford University Press.
- Xancal, Luis Fernando. 2021. Análisis comparativo del efecto anestésico del eugenol en machos y hembras de la especie de pez *Xenotoca variata*. Tesis de Licenciatura en Química Clínica. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma de Tlaxcala, México.
- Zuur, A. F., Ieno, E. N. and Saveliev, A. A. 2017. *Beginner's Guide to Spatial, Temporal and Spatial-Temporal Ecological Data Analysis with R-INLA*. Newburgh, UK: Highland Statistics Ltd.