



# BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA

Laboratorio de Ecología de la Conducta

**“Efecto de la variación de color de las escamas  
iridiscentes de los machos de *Xenotoca variata*  
en la elección femenina de pareja de  
apareamiento”**

**TESIS**

Que para obtener el grado de  
**MAESTRO EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

Presenta:

**Oscar Eduardo Juárez Mora**

Director de Tesis:

**Dr. Alejandro Moyaho Martínez**

Puebla, Pue.

Junio 2015

## Resumen

Los machos de varias especies de vertebrados tienen pelaje, plumas o escamas de colores llamativos para las hembras. Por ejemplo, los machos del pez vivíparo de agua dulce *Xenotoca variata* tienen escamas de colores iridiscentes que son atractivos para las hembras, quienes prefieren acercarse, y posiblemente aparearse, a los machos con más escamas iridiscentes (Moyaho y cols. 2004). Sin embargo, no se conoce la importancia que pudiera tener la variación de coloración en las decisiones de apareamiento de las hembras. En esta especie el macho requiere de la cooperación de la hembra para copular, de tal manera que el macho tiene que desarrollar estratagemas para conseguir la cooperación de la hembra. Este estudio tuvo como objetivo determinar de qué manera la variación del color en las escamas iridiscentes de los machos de *X. variata* afecta la preferencia de las hembras por éstos.

Realicé experimentos que consistieron en presentar a cada una de 58 hembras una serie de 7 señuelos con características similares a las que presentan los machos de *X. variata*. Específicamente, cada señuelo tenía en la superficie estructuras iridiscentes con uno, dos o tres colores, de los cuales analicé sus características espectrales por métodos espectrofotométricos. Determiné la frecuencia y la duración de las visitas que hicieron las hembras a los señuelos. Así mismo, con experimentos similares, medí cuán rápido las hembras dejaban de poner atención al señuelo para responder (i.e. orientarse) a un estímulo distractor. Medí el tiempo de latencia de la respuesta de las hembras a la presentación del estímulo distractor (burbujas de agua).

Analicé los datos de los experimentos y las mediciones espectrofotométricas aplicando modelos lineales generalizados mixtos (GLMMs). Los resultados de los análisis indican que el brillo de las estructuras iridiscentes es un predictor de la frecuencia de las visitas de las hembras a los señuelos, y de la latencia de respuesta al estímulo distractor. Encontré que las hembras se acercaron gradualmente menos a los señuelos cuanto más brillo mostraban éstos. Así mismo, las hembras tardaron gradualmente más tiempo en responder al estímulo distractor cuanto más brillante era el señuelo que observaban. Estos hallazgos proporcionaron evidencia para apoyar la hipótesis del embelesamiento que propone que los machos de *X. variata* usan la variedad de colores en sus escamas iridiscentes para capturar la atención de la hembra, lo cual facilita el apareamiento. Además los hallazgos del estudio permiten anticipar los mecanismos neurofisiológicos que participan en el procesamiento de la información del color en esta especie.

## ÍNDICE

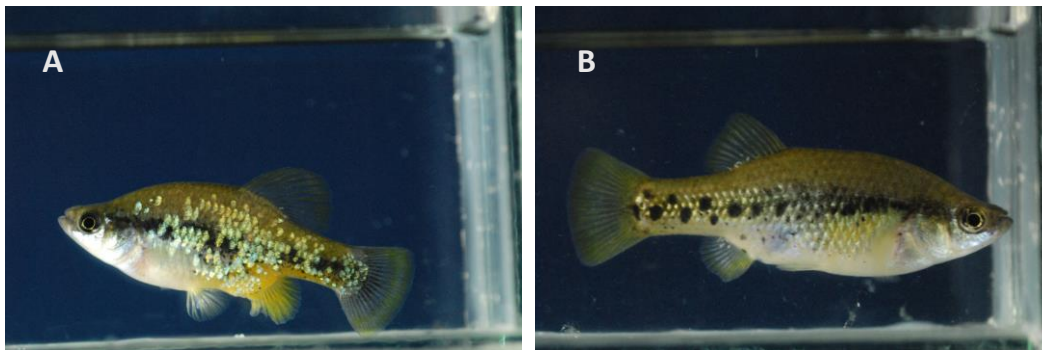
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Caracteres dimórficos como señales visuales	1
1.2. Luz y color	5
1.3. Sistema visual	10
1.3.1. <i>La óptica del sistema visual</i>	10
1.3.2. <i>La retina</i>	12
1.3.3. <i>Los fotorreceptores</i>	13
1.3.4. <i>El proceso de fototransducción</i>	15
1.3.5. <i>El procesamiento de la información en la retina</i>	20
1.3.6. <i>El procesamiento del color</i>	23
1.3.7. <i>Las vías de la visión</i>	27
1.4. <i>Xenotoca variata</i>	29
1.4.1. <i>Escamas iridiscentes</i>	31
1.4.2. <i>Capacidad visual</i>	33
<b>2. Pregunta</b>	<b>35</b>
2.1. Hipótesis y predicciones	35
2.2. Objetivo general	36
2.3. Objetivos particulares	36
<b>3. Material y métodos</b>	<b>37</b>
3.1. Diseño experimental	37
3.2. Los peces de estudio	41
3.3. La pecera experimental	43
3.4. La iluminación de la pecera experimental	45
3.5. Los señuelos	46
3.6. Las estructuras iridiscentes	48
3.7. Las condiciones del agua	51

3.8.	El estímulo distractor	55
3.9.	Procedimiento experimental	55
3.10.	Análisis estadístico	57
<b>4.</b>	<b>Resultados</b>	<b>59</b>
4.1.	Medición de la irradiancia	59
4.2.	Mediciones del agua	60
4.3.	Mediciones del estímulo distractor	66
4.4.	Mediciones del brillo de las estructuras iridiscentes	67
4.5.	Visitas de las hembras a los señuelos	75
4.5.1.	<i>Selección del modelo mínimo adecuado para las visitas de las hembras a los señuelos</i>	75
4.5.2.	<i>Relación entre las visitas a los señuelos y su brillo</i>	78
4.6.	Latencias de la respuesta de las hembras a un estímulo distractor	79
4.6.1.	<i>Selección del modelo mínimo adecuado para las latencias de la respuesta de las hembras a un estímulo distractor</i>	79
4.6.2.	<i>Relación entre la latencia de la respuesta al estímulo distractor y el brillo de las estructuras iridiscentes</i>	81
5.	Discusión	82
	Referencias bibliográficas	91
	Anexo	98

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Caracteres dimórficos como señales visuales

Es común que los animales muestren una variedad de estructuras morfológicas conspicuas (e.g. plumas de colores, cornamentas, etc.) y pautas de comportamiento extravagante (e.g. cortejo, canto, etc.). La intensidad con la que expresan estos caracteres varía entre los sexos, lo que se conoce como dimorfismo sexual (Darwin 1971). Un ejemplo que ilustra bien el dimorfismo sexual es el pez *Xenotoca Variata* (Figura 1.1), cuyos machos muestran escamas iridiscentes (Fitzsimons 1972). Las escamas iridiscentes reflejan colores que al ojo humano varían de azul a naranja.



**Figura 1.1.** Fotos de A) un macho y B) una hembra de *Xenotoca variata*. El macho, de menor tamaño, muestra muchas más escamas iridiscentes y éstas varían en color aparente.

La selección natural no podría explicar la evolución de los caracteres sexualmente dimórficos, puesto que éstos no ofrecen beneficios para la supervivencia del animal.

Incluso en algunos casos el carácter puede representar una desventaja, por ejemplo ante depredadores (Moyaho y cols. 2004) o un costo adicional para mantenerlo (Zahavi 1975). Su presencia se ha atribuido a un proceso donde el carácter confiere un beneficio a quien lo porta en la competición por parejas sexuales (Starr 2013). Este beneficio puede ser: 1) en relación a individuos del mismo sexo (i.e. intra-sexual). Por ejemplo, hay caracteres morfológicos que los machos usan para intimidar, disuadir o pelear con rivales (e.g. tamaño corporal, espolones, cornamentas, etc.); 2) en relación a individuos del sexo opuesto (i. e. inter-sexual), esto es cuando los animales desarrollan características que son atractivas para el sexo opuesto (Awise y Ayala 2009). Por ejemplo, el tamaño y colores de las plumas de las aves del paraíso. Los caracteres que son atractivos para los individuos del sexo opuesto están relacionados directa o indirectamente con cualidades y características que ofrecen ventajas reproductivas (e.g. descendencia viable). Por lo tanto, hay una presión de selección que opera sobre los machos para que éstos comuniquen eficientemente sus cualidades. En este caso los caracteres sexualmente dimórficos funcionan como señales.

En la comunicación animal se define a una señal como cualquier acto o estructura que modifica el comportamiento de otros organismos (denominado receptor), que evolucionó precisamente por ese efecto, y que es efectivo porque la respuesta del receptor también ha evolucionado (Maynard-Smith y Harper 2003). Se sabe ahora que al analizar el diseño de las señales (i.e. la forma en que las señales proveen información al receptor) es necesario considerar la manera en la que el receptor percibe, reconoce e

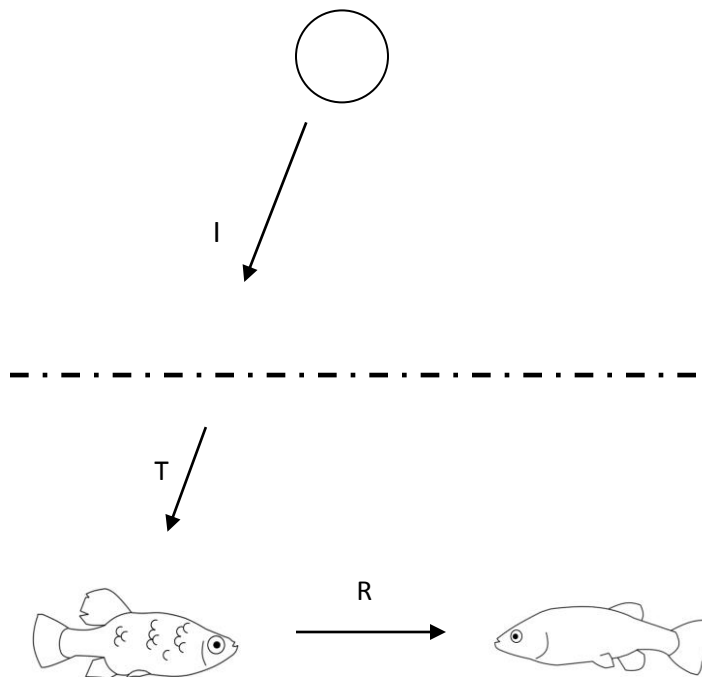
interpreta la señal; es decir cómo la procesa, pues ello influencía el diseño de la misma (Gilford y Dawkins 1991, 1993; Endler 1992; Rowe 1999, 2013). Es importante considerar dos aspectos de las señales: 1) el aspecto estratégico, que se refiere a lo que se informa o el contenido de la señal. En el caso de los caracteres dimórficos atractivos el mensaje sería la ventaja reproductiva que ofrece el portador; 2) el aspecto táctico, que se refiere a la manera cómo se informa el mensaje. Para los caracteres dimórficos involucraría el medio que se utiliza (auditivo, visual, etc.) y la conspicuidad, coloración o tamaño de los mismos entre otros. En el aspecto táctico hay tres características que afectan la efectividad de la señal: 1) detectabilidad, 2) discriminabilidad y 3) memorabilidad.

La detectabilidad se refiere a la facilidad o dificultad con la que una señal es percibida como distinta de su fondo. La discriminabilidad se refiere a la forma en que diferentes señales se reconozcan como tal. La memorabilidad se refiere a la manera en la que es aprendida o la facilidad con la que es recordada. Por lo tanto una señal que es más fácil de detectar, discriminar o recordar, será una señal más efectiva. Y puesto que existe una presión de selección para producir señales más efectivas, éstas suelen estar diseñadas para capitalizar la forma en la que los individuos perciben el medio. Otra estratagema para aumentar la eficacia de las señales es el uso de señales multimodales o multicomponentes (Rowe 1999). Por ejemplo durante el cortejo las aves muestran una combinación de elementos visuales y acústicos, lo que constituye señales de componentes y modalidades múltiples. Experimentos en varios trabajos han evidenciado que la efectividad de este tipo de señales disminuye cuando no están presentes todos los componentes (Welch y cols.

1986). Además se ha visto que los diferentes componentes pueden estar afectando independientemente el aspecto estratégico o el táctico de la señal.

Las señales visuales cromáticas resultan de los colores producidos por los animales. El color en los animales tiene funciones variadas, que incluyen evitar depredadores, defender territorios y seleccionar pareja entre otras (Endler 1978). Las coloraciones que tienen una función importante en la selección de pareja y en conflictos con rivales suelen ser costosas de mantener y estar relacionados con características de calidad en los individuos (Bradbury y Vehrencamp 2011).

En ambientes acuáticos y terrestres las condiciones de luminosidad afectan las señales visuales debido a la interacción de la luz y el medio. Por ejemplo, una razón por la que el agua puede afectar las imágenes es porque las partículas pueden filtrar en mayor o menor medida la luz de longitudes de onda específicas, alterando la luz disponible y el color percibido (Lythgoe 1979). Por lo tanto para comprender el modo en que las señales son percibidas, es necesario conocer la secuencia de sucesos que ocurren desde que la señal es emitida, pasando por cómo el medio la afecta hasta que el receptor responde (Ender 1990; Gilford y Dawkins 1991). El diagrama de la figura 1.2 ilustra cómo el ambiente puede afectar una señal visual.

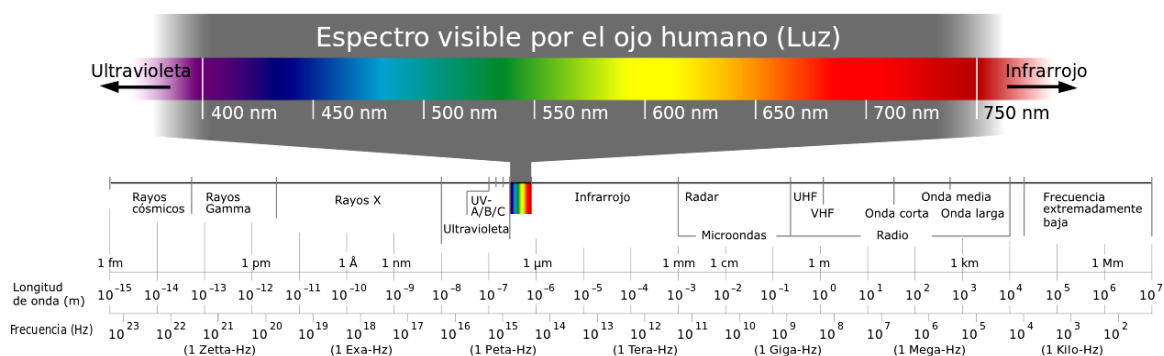


**Figura 1.2.** Diagrama que ilustra una señal visual. Se puede analizar el trayecto de la luz, desde su emisión (Irradiancia I), la absorción y difusión en el ambiente (transmisión del agua T) y su subsecuente reflejo en un objeto (reflectancia R). Figura apartada de Endler (1990).

## 1.2. Luz y color

El color es una apreciación subjetiva de las propiedades físicas de los objetos. Cuando la luz interactúa con la superficie de un objeto, parte de la luz es reflejada y otra parte es

absorbida. La fracción de la luz que es reflejada por un objeto (i.e. reflectancia) es registrada y procesada por el sistema visual y resulta en la percepción del color. Se le llama espectro visible, luz visible o simplemente luz a la radiación electromagnética dentro de la región del espectro electromagnético que los ojos de los animales son capaces de percibir (entre 320 y 700 nm). La figura 1.3 ilustra cómo el espectro electromagnético se extiende desde la radiación de menor longitud de onda, como los rayos gamma y los rayos X, pasando por la luz ultravioleta, la luz visible y los rayos infrarrojos, hasta las ondas electromagnéticas de mayor longitud de onda, como son las ondas de radio.



**Figura 1.3.** Espectro de la radiación electromagnética. El espectro electromagnético se extiende desde los rayos cósmicos hasta las ondas de frecuencia más baja. La región visible (colores) en el humano abarca desde 400 nm a 700 nm. Imagen de Icke, I. (2007).

La mayoría de la luz usada en la visión proviene del sol, y lo que conforma el ambiente lumínico es la manera en la que esta luz es modificada en cantidad y calidad ya

sea por absorción, reflexión o desviación selectiva. Muchos de los fenómenos de la luz como la dispersión, refracción e interferencia pueden entenderse cuando se asume que la luz se comporta como una onda. Sin embargo esta descripción no explica cómo la luz interactúa con la materia. Cualquier objeto iluminado absorbe una parte de las ondas electromagnéticas y refleja las restantes. Las ondas reflejadas son captadas e interpretadas como distintos colores según las longitudes de onda correspondientes.

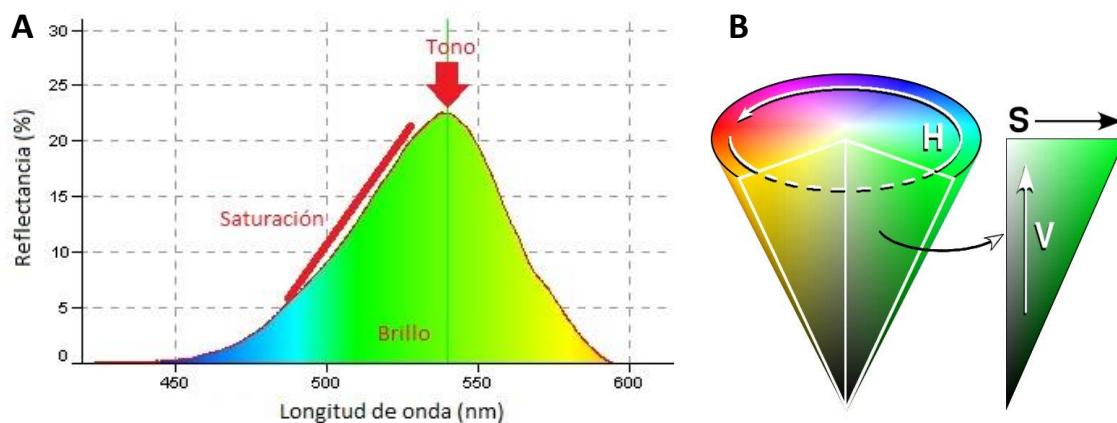
La unidad de la energía absorbida o reflejada es el quantum (cuanta) o en el caso especial de la energía electromagnética visible, el fotón. La energía de cada fotón se transmite o se absorbe de manera absoluta y es proporcional a la frecuencia de luz asociada, siendo la frecuencia proporcional al recíproco de su longitud de onda (Figura 1.3). De esta manera, por ejemplo la luz azul, que tiene una frecuencia alta, tiene fotones con mayor energía que la luz roja. Por lo tanto la luz, ya sea reflejada o emitida tiene una distribución espectral característica (Figura 1.4 A). Un espectro  $Q(\lambda)$  se puede definir como la distribución del número de fotones a cada longitud de onda ( $\lambda$ ) impactando cierta unidad de área por unidad de tiempo.

Muchas de las mediciones de la luz no suelen ser óptimas, debido al uso de unidades psicométricas que se relaciona solo al sistema visual humano. La manera más común de estas unidades son el LUX y pie-candela para la iluminancia; y el Lambert y la Candela para la luminancia (luminancia e iluminancia, son los equivalentes psicométricos de la radiancia (L) e irradiancia (E); Endler 1990). De esta manera la iluminación de cualquier luz puede describirse en un solo número, por ejemplo la iluminación del sol al

medio día, medida en la superficie de la tierra es aproximadamente de 10 000 pies-candela. El principal problema con el uso de las unidades psicométricas es que no contienen información sobre la distribución espectral de la luz; entonces aunque se conociera la sensibilidad espectral del animal, la efectividad visual de la luz no podría ser evaluada. Por lo tanto, aunque las unidades psicométricas pueden proveer información relevante, su uso es limitado en el estudio de los sistemas visuales diferentes al humano.

Para el estudio del color hay trabajos que recomiendan analizar las características físicas de éste mediante el uso de instrumentos que permitan contabilizar la fracción de la luz que es reflejada por un objeto (Lythgoe 1979; Endler 1990; Hill y McGraw 2006). Hill y McGraw (2006) advierten que obtener las distribuciones espectrales de un parche de color es solo el primer paso en el análisis de los colores. La distribución espectral como tal no es de gran utilidad para comparar colores en parte porque conlleva una gran cantidad de información. Por lo tanto es recomendable usar algún indicador de las características específicas del color, por ejemplo medir la distribución espectral de la luz en cuestión, y definirla por las características de su espectro electromagnético (Figura 1.4): 1) tono, es lo que cotidianamente llamamos “color” (e.g. violeta, azul, verde, rojo, etc.). El tono está relacionado con la longitud de onda predominante y por lo tanto se le puede asignar un valor numérico específico basado en la ubicación del pico de reflectancia máxima de una distribución espectral; 2) saturación o croma, es una medida de la “pureza” del color y es una función de la velocidad con la que cambia la intensidad en relación con la longitud de onda. La distribución espectral de un color muy saturado mostrará una pendiente muy

marcada y la de un color poco saturado mostrará una pendiente suave; 3) brillantez o luminosidad, es la intensidad de la luz en función de las condiciones ambientales, tanto de la cantidad de luz ambiental que irradia o refleja un objeto como de la posición del observador. La brillantez puede medirse en una distribución espectral como el área total bajo la curva (Hill y McGraw 2006). La figura 1.4 ilustra estas tres características en una distribución espectral y en el modelo HSV del espacio de color.



**Figura 1.4.** A) Distribución espectral de una lámina de color verde. Se ilustran las características del color: El tono, determinado por el pico de reflectancia alrededor de los 540 nm; La saturación determinada por la pendiente de la curva; El brillo, determinado por el área bajo la curva (iluminada). Registro del material usado en la presente tesis (ver más adelante). B) Sistema HSV (del inglés: Hue, Saturation y Value) basado en el sistema de color de Munsell. Las propiedades del color pueden correlacionarse con las de éste modelo. Hue: Tono o croma, Saturation: Saturación y Value: Brillo. Adaptado de Hill y McGraw (2006).

### **1.3. Sistema visual**

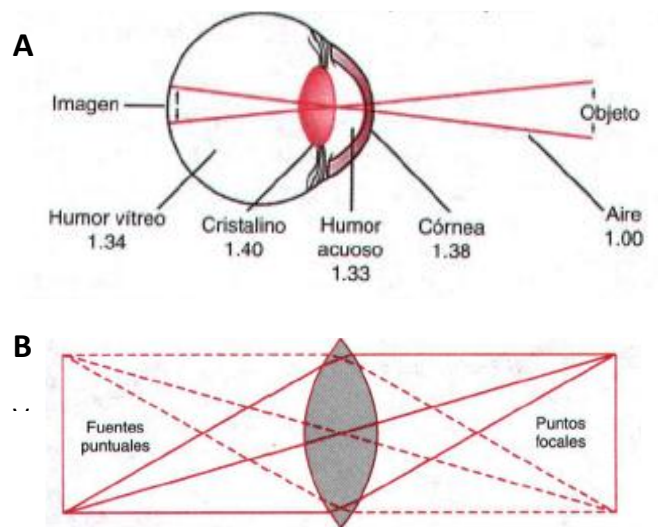
El sistema visual responde a la estimulación lumínica disponible en el medio. Utiliza la interacción de los objetos y la luz para obtener información de sus características. El proceso de la visión puede dividirse en tres etapas (Guyton 2001): Primero la etapa óptica, cuando una imagen del mundo exterior es proyectada en la retina; segundo, la etapa de transducción cuando las células visuales, sensitivas a la luz absorben energía luminosa y responden generando señales eléctricas; y tercero, la etapa fisiológica cuando estas señales primarias son analizadas. La descripción que presento a continuación la tome de Guyton (2001).

#### **1.3.1. La óptica del sistema visual**

A mayor cantidad de luz que llega a formar la escena visual en la retina, mayor es la cantidad de información que se puede analizar de ella, en términos de contraste, color, movimiento y detalle. Por lo tanto, la geometría y ópticas del ojo son de importancia obvia para ofrecer la información más favorable para su análisis.

El ojo compuesto de lentes, representado en la figura 1.5 A, puede enfocar la imagen en la retina por medio de la refracción de la luz en el sistema de lentes. La refracción se produce cuando la luz pasa de un medio de propagación a otro con una densidad óptica diferente, sufriendo un cambio de rapidez y un cambio de dirección si no incide perpendicularmente en la superficie. La figura 1.5 B muestra una lente convexa con dos fuentes puntuales de la luz a la izquierda. Los rayos de la luz que atraviesan el centro

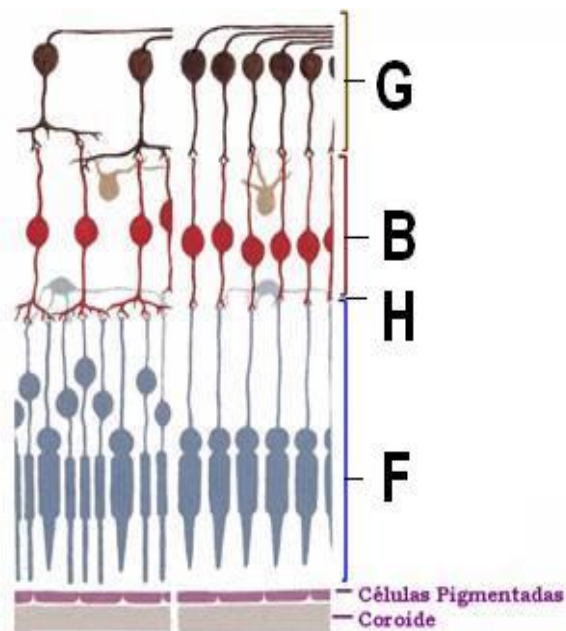
de una lente convexa no se refractan en ninguna dirección, por lo que en la figura, los rayos de la luz que proceden de cada una de las fuentes puntuales de la luz llegan a un punto focal al otro lado de la lente que forma una línea recta con la fuente puntual y con el centro de la lente. Cada fuente puntual de la luz del objeto llega a un punto focal distinto en el lado opuesto de la línea alineado con el centro de la lente.



**Figura 1.5.** Ojo compuesto de lentes. En A) las cuatro interfaces de refracción que componen el sistema de lentes en un ojo: 1) entre el aire y la superficie anterior de la córnea; 2) entre la superficie posterior de la córnea y el humor acuoso; 3) entre el humor acuoso y la superficie anterior del cristalino; 4) entre la superficie posterior del cristalino y el humor vítreo. El índice de refracción es la relación entre la velocidad de propagación de una onda de un medio y otro de referencia. El aire tiene un índice de refracción de 1; la córnea de 1.38; el humor acuoso de 1.33; el cristalino de 1.40 (de media) y el humor vítreo de 1.34. En B) se ilustra cómo una lente convexa puede invertir la imagen por medio de la refracción. Modificada de Guyton (2001).

### 1.3.2. La retina

Una vez que la luz ha atravesado el sistema de lentes y el humor vítreo, penetra en la retina. La retina es la parte del ojo sensible a la luz, tiene un grosor de alrededor de medio milímetro. La retina contiene a los fotorreceptores que responden a la luz y un intrincado circuito neuronal que realiza las primeras etapas del procesamiento de la imagen. Tiene una estructura básica de células nerviosas en una serie de capas: tres capas de cuerpos celulares divididas por dos capas de conexiones sinápticas (Kolb 2003). En la figura 1.6 se muestran los componentes funcionales de la retina dispuestos en capas.



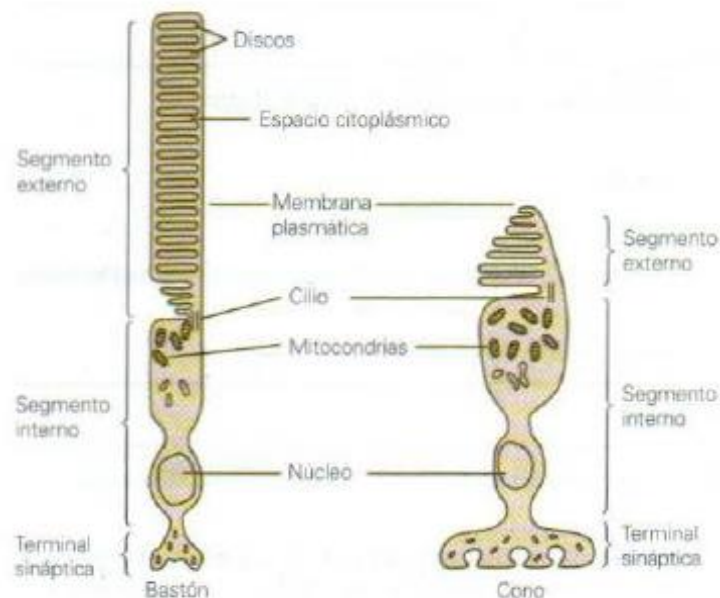
**Figura 1.6.** Componentes de la retina. Tipos de células dispuestas en capas: G, ganglionares; B, bipolares; H, horizontales y F, fotorreceptores. Modificado de Netter (2010).

En la retina la luz atraviesa primero la capa de las células ganglionares, llegando por último a la capa de los fotorreceptores. Éstos transmiten señales a través de las capas sucesivas de neuronas en la propia retina y, por último, a las fibras del nervio óptico. El glutamato es el neurotransmisor que comunica a los fotorreceptores con las células bipolares y éstas a su vez con células ganglionares. Las células horizontales y amacrinas usan mensajeros varios que incluyen amino ácidos tanto excitatorios como inhibitorios, catecolaminas, péptidos y óxido nítrico (Kolb 2013).

### **1.3.3. Los fotorreceptores**

Los fotorreceptores se dividen en dos tipos: los conos, que son los responsables de la visión en color y los bastones, encargados principalmente de la visión en la oscuridad (Figura 1.7). La distribución de conos y bastones en las retinas de diferentes especies se han adaptado a diferentes necesidades (Lytgoe 1979). Muchas especies tales como peces, ranas, tortugas y aves tienen de tres a cinco tipos de conos y consecuentemente una visión de color eficiente. Muchos mamíferos tienen retinas con bastones predominantemente, por ejemplo en algunos animales nocturnos como los roedores los conos son escasos y pequeños, alcanzando apenas del 3% al 5% del total de los fotorreceptores (Kolb 2003). La retina de otros mamíferos mantiene una preponderancia de bastones, pero también tienen una proporción de conos concentrados en regiones especializadas. Por ejemplo en especies como perros o gatos la imagen se enfoca en un área central especializada llamada *área centralis*, donde hay predominantemente conos.

Los primates y algunas aves tienen ojos al frente de la cabeza lo que les confiere una visión binocular y con ella percepción de profundidad. Este tipo de ojos está especializado para una visión diurna adecuada capaz de discriminar color y detalles finos mediante la *fovea*, una región de la retina (aproximadamente de 1 mm<sup>2</sup>) con la concentración más grande de conos y donde la imagen es enfocada.



**Figura 1.7.** Diagrama de un bastón y un cono. Se identifican el segmento externo, donde se encuentran los discos que contienen la rodopsina. El segmento interno con los organelos. Y la terminal sináptica. Tomado de Kandel (2006).

Los bastones miden entre 2 y 5 micrómetros de diámetro, mientras que los conos varían, de los ubicados en la periferia que miden entre 5 y 8 micrómetros, a los ubicados en la fovea que miden solo 1.5 micrómetros. La figura 1.7 es una representación gráfica de los componentes funcionales de los fotorreceptores: 1) el segmento externo; 2) el

segmento interno; 3) el núcleo; 4) la terminal sináptica. Los segmentos externos de los fotorreceptores contienen un número amplio de discos, hasta mil en cada uno. En las membranas de los discos se encuentran los pigmentos visuales en forma de proteínas transmembranales. La concentración de estos pigmentos en los discos es tan grande que constituye por sí misma al rededor del 40% de toda la masa del segmento externo (Guyton 2001). El segmento interno contiene el citoplasma normal de la célula con los organelos habituales; las mitocondrias tienen una importancia especial, debido al gasto energético de estas células. El cuerpo sináptico es la porción conectada con las células neuronales que les siguen, las células horizontales y bipolares que constituyen el siguiente eslabón en la cadena visual.

#### **1.3.4. El proceso de fototransducción**

Los pigmentos visuales son compuestos foto-sensitivos que absorben luz y que en respuesta inician el proceso que lleva al impulso nervioso (Lythgoe 1979). Los pigmentos visuales son cromoproteínas fotosensibles compuestas de un grupo cromóforo unido a una molécula proteica (opsina). El cromóforo puede ser de dos tipos, el aldehído de la vitamina A1 (Retinal) o el de la vitamina A2 (3-dehidroretinal). Tanto químicamente como en la forma de sus espectros de absorbancia, los 2 cromóforos son muy similares entre sí. Pueden existir varias formas isométricas del cromóforo, de las que solo dos son importantes para el proceso visual, *11-cis* y *totalmente trans*.

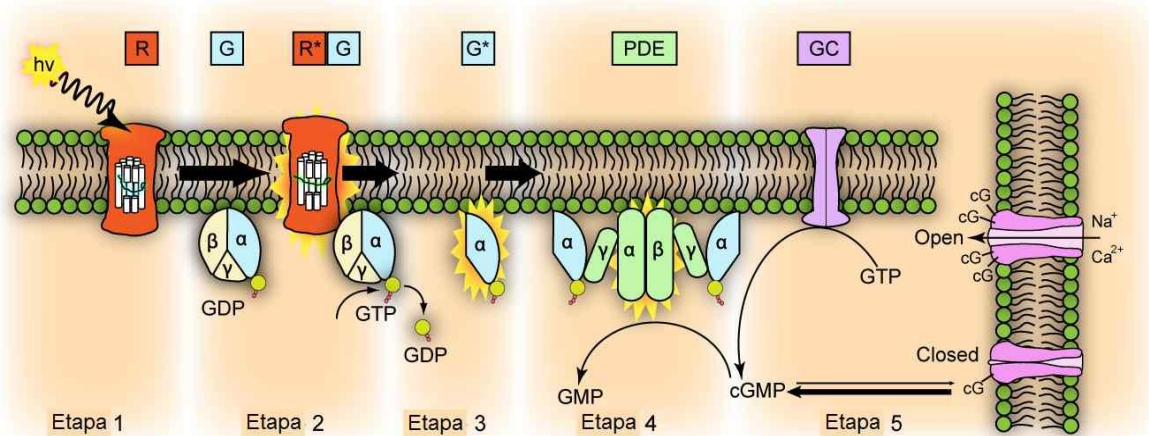
En los bastones el pigmento llamado rodopsina o púrpura visual se compone de una combinación de la proteína escotopsina y del cromóforo *11-cis* retinal. Esta forma *cis* del retinal es importante porque se trata de la única que puede unirse (covalentemente) a la escotopsina para sintetizar la rodopsina. Cuando la rodopsina absorbe la energía lumínica, este pigmento se descompone casi instantáneamente. La causa reside en la fotoactivación de los electrones de la fracción retinal de la rodopsina, que determina un cambio instantáneo de la forma *cis* a la forma *trans* que conserva la misma estructura química pero con una estructura física distinta: se trata de una molécula recta en lugar de una molécula doblada. Como la orientación tridimensional de los sitios de reacción del retinal *trans* ya no se ajusta a los sitios de reacción de la proteína escotopsina, se separa y activa la rodopsina (Lythgoe 1979).

En condiciones óptimas, un fotón de luz, que es la unidad cuántica mínima de energía lumínica, da lugar a un potencial receptor en el bastón de aproximadamente un milivoltio. Treinta fotones de luz bastan para causar una semi saturación del bastón (Alberts 2008). Esto debido a que los fotorreceptores poseen una cascada química sumamente sensible que amplifica los efectos de la estimulación alrededor de un millón de veces de la siguiente forma (Figura 1.8):

1. Cada fotón activa un electrón en la porción *11-cis* retinal de la rodopsina: esto conduce a la síntesis de metarrodopsina II (figura 1.9), que es la forma activa de la rodopsina;

2. La rodopsina activada funciona como una enzima que activa muchas moléculas de transducina, una proteína G presente en su forma inactiva en las membranas de los discos;
3. La transducina activada a su vez activa muchas más moléculas de fosfodiesterasa;
4. La fosfodiesterasa activada es otra enzima que hidroliza de inmediato muchas moléculas de guanosín monofosfato cíclico (GMPc) y por tanto las destruye. Antes de ser destruido, el GMPc ha permanecido unido a la proteína del canal de sodio de la membrana externa del bastón para “inmovilizar” dicho canal en estado abierto;
5. Aproximadamente en un segundo otra enzima, la rodopsina cinasa que siempre está presente, inactiva la rodopsina activada, con lo que toda la cascada se invierte y se recupera el estado normal de los canales de sodio abiertos.

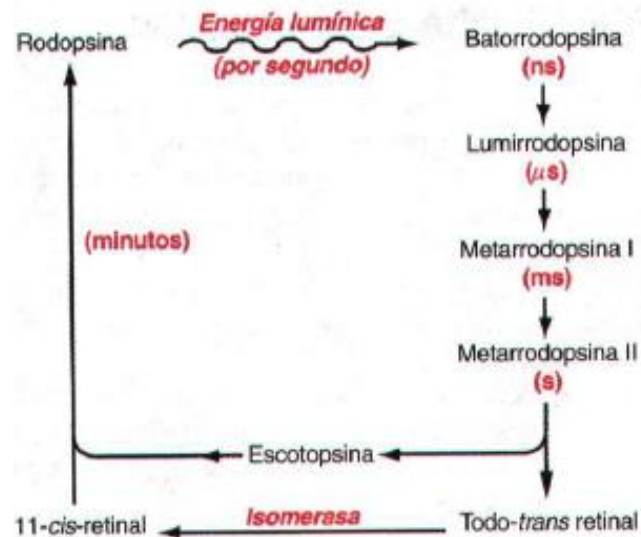
## Activación de la fototransducción



**Figura 1.8.** Representación de las etapas de la fototransducción. Se ilustra la membrana externa de un disco en un bastón. Etapa 1: Un fotón ( $h\nu$ ) incide en la rodopsina (R) provocando un cambio conformacional y activándola. Etapa 2: Después, la rodopsina activada ( $R^*$ ) cataliza la activación de la transducina (G). Etapa 3: La transducina activada ( $G^*$ ) cambia su GDP por GTP citoplasmático liberando la subunidad  $\alpha$ . Etapa 4: Las subunidades  $\alpha$  se unen a las subunidades inhibitoria  $\gamma$  y de la fosfodiesterasa (PDE) con lo cual la activan. Etapa 5: La fosfodiesterasa activada hidroliza el cGMP que es sintetizado por la guanil ciclasa (GS). Lo cual reduce los niveles citosólicos de cGMP lo que cierra canales protónicos activados por nucleótidos cíclicos previniendo la entrada de iones de sodio y calcio. Modificada de Leskov y cols. (2000).

La regeneración de la rodopsina (Figura 1.9) consiste primero en la reconversión del retinal *trans* en el *11-cis*. Este proceso requiere energía metabólica y está catalizado por la enzima retinal isomerasa. Una vez formado el *11-cis* retinal, éste se recombina automáticamente con la escotopsina para volver a formar rodopsina, la cual permanece

estable hasta que la absorción de energía lumínica vuelve a desencadenar su descomposición.



**Figura 1.9.** Esquema del ciclo visual de la rodopsina-retinal en el bastón. Tomado de Guyton (2001).

Los bastones son extremadamente sensibles a la luz pues por cada molécula de rodopsina activada se cierran varios cientos de canales de sodio, lo que bloquea el flujo de más de un millón de iones sodio hasta que los canales se abren de nuevo. Los conos son entre 30 y 300 veces menos sensibles que los bastones, pero ello no impide la visión en color con cualquier luz que sea mayor que la crepuscular.

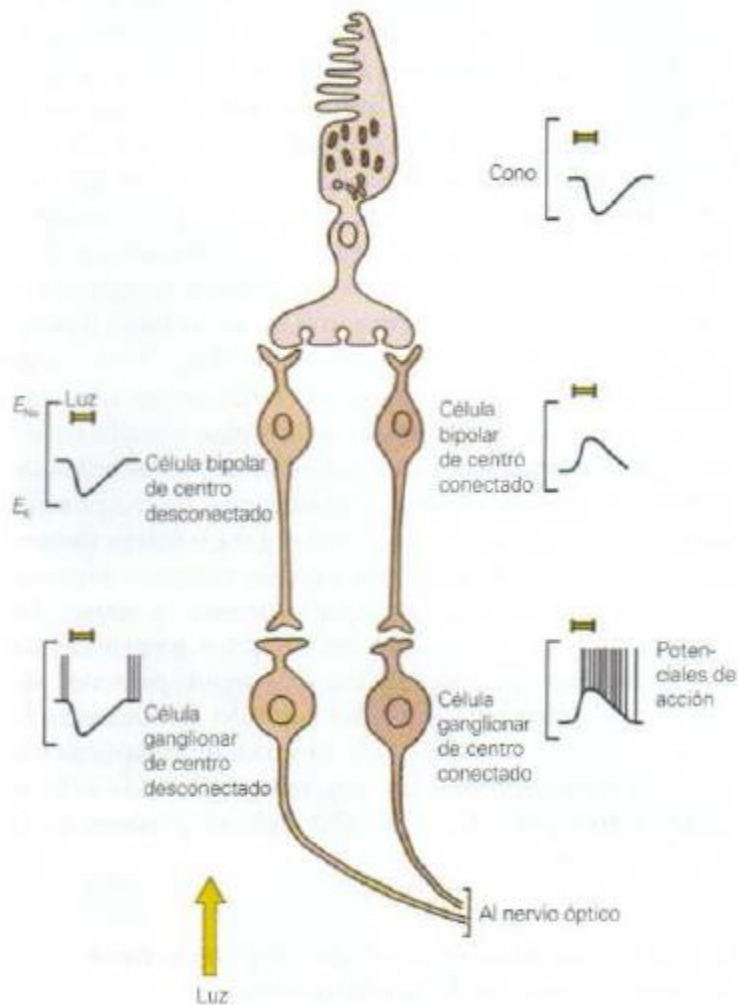
### **1.3.5. El procesamiento de la información en la retina**

Los fotorreceptores no generan potenciales de acción al ser estimulados por la luz. Los fotorreceptores tienen dos tipos de respuesta: 1) en la oscuridad, cuando la membrana es despolarizada y los iones de sodio fluyen libremente a través de la membrana, los fotorreceptores liberan neurotransmisor (glutamato); 2) al exponerse a la luz, los canales iónicos se cierran, la célula se hiperpolariza y no libera el neurotransmisor (Kolb 2003).

Aun cuando los bastones y conos responden de igual manera a la luz, ambos registran propiedades muy diferentes de la imagen. Los bastones detectan luz tenue, respondiendo a cambios relativamente lentos. Los conos responden a señales brillantes y pueden detectar cambios rápidos de luz. En ambos casos, los fotorreceptores inician el proceso de descomposición de la imagen en partes.

La separación de la imagen en sus componentes continúa en la primera sinapsis de la vía visual, entre los fotorreceptores y las células bipolares. Diferentes células bipolares tienen diferentes tipos de receptores a glutamato, permitiendo que diferentes células respondan de manera diferente a una misma señalización de los fotorreceptores (Figura 1.10). En un tipo de células bipolares los receptores responden al glutamato (liberado por el fotorreceptor en la oscuridad) despolarizando la célula bipolar, activando lo que se conoce como la vía OFF (de centro desconectado) del proceso visual, lo que permite detectar imágenes oscuras sobre un fondo claro. Otro tipo de células bipolares tienen receptores inhibitorios al glutamato; en otras palabras, previenen que la célula bipolar se despolarice cuando es expuesta al neurotransmisor. En consecuencia estas células

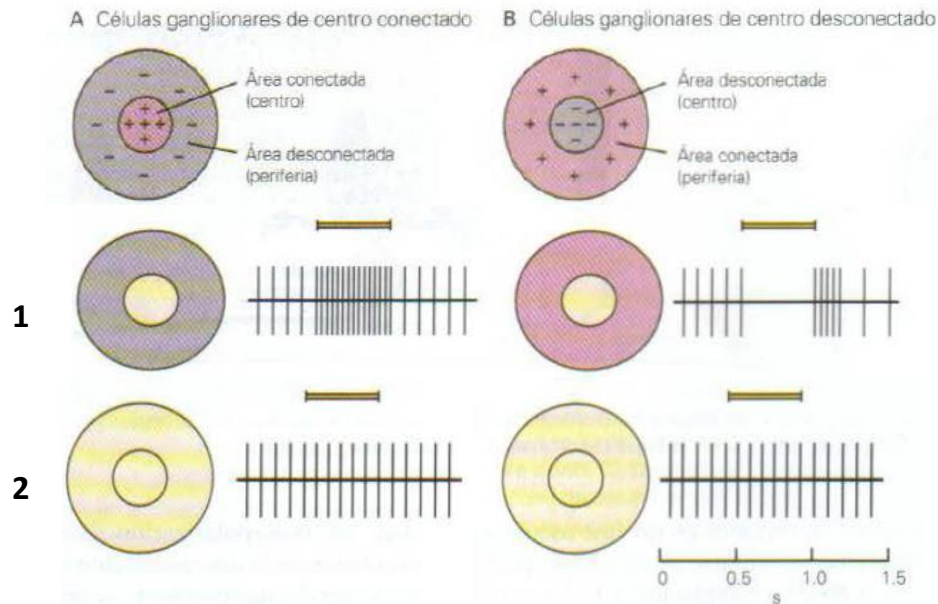
bipolares se despolarizan cuando el fotorreceptor es iluminado lo que activa la vía ON (de centro conectado), lo que hace posible detectar imágenes claras contra un fondo oscuro (Kandel 2006).



**Figura 1.10.** Procesamiento paralelo de las vías ON (de centro conectado) y OFF (de centro desconectado). Cuando la luz hiperpolariza el cono, la célula bipolar ON se despolariza, y la célula bipolar OFF se hiperpolariza. Las respuestas de las células ganglionares siguen la respuesta de las bipolares, disparando en el caso de las ganglionares ON e inhibiendo en las ganglionares OFF. Tomado de Kandel (2006).

Una única célula visual, puede solo señalar que ha absorbido luz (una cantidad de fotones) y el tiempo durante que lo hizo. No puede informar sobre la distribución espectral de la luz, su dirección o su intensidad, puesto que el cambio en la intensidad de la señal puede darse por el cambio en cualquiera de estos hechos. Para obtener información sobre la dirección o el movimiento de una fuente de luz, debe haber al menos dos células con campos receptivos diferentes, y para informar sobre el color (i.e. distribución espectral) debe haber dos tipos de células visuales con diferente sensibilidad espectral. Es gracias a la comparación de las señales de un grupo de células visuales que la retina y el cerebro construyen una imagen del color, forma y brillantez del mundo exterior.

Las señales de las células retinales individuales no se transmiten al cerebro aisladamente de la de sus vecinas. La señal de células vecinas puede interactuar de manera aditiva para mejorar la sensibilidad a expensas de la agudeza, pero también pueden inhibir áreas vecinas. Inherente al diseño de la retina es el fenómeno de la inhibición lateral. Donde la señal de un grupo celular puede inhibirse cuando las células alrededor de su campo receptivo reciben la misma estimulación (Figura 1.11). Se considera que la organización centro-rededor mejora la percepción del contraste sin afectar la agudeza.

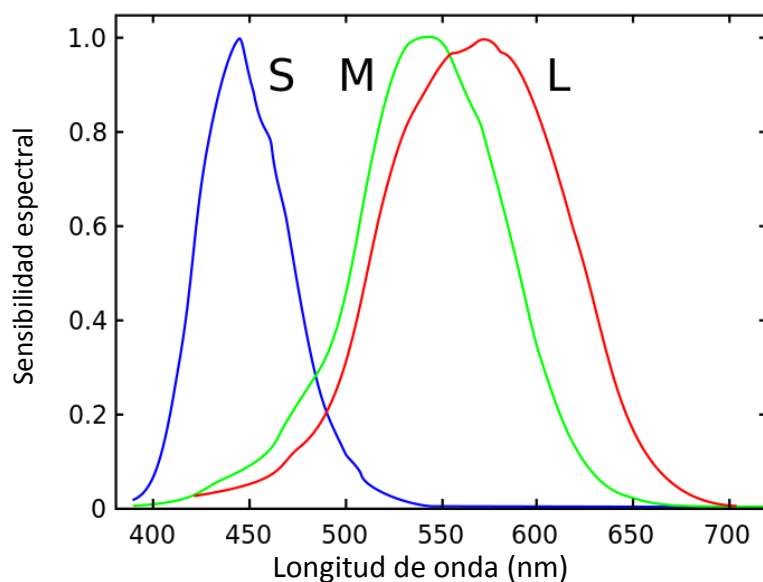


**Figura 1.11.** Representación de la organización centro-rededor en células ganglionares. La señal producida por un haz de luz que cae en el centro del campo aumentará de manera que el área iluminada (mostrada en amarillo) aumenta hasta llenar el área receptiva (1). Sin embargo, conforme aumenta el área iluminada, la señal comenzará a disminuir cuando la luz comience a iluminar el área inhibitoria del rededor (2). El patrón de los potenciales de acción desencadenados en la célula ganglionar como respuesta a cada estímulo se muestra en un registro extracelular. Modificado de Kandel (2006).

### 1.3.6. El procesamiento del color

Un solo fotorreceptor funciona como un medidor de luz (contador de fotones), pero es más sensible a algunas longitudes de onda que a otras. La célula no puede distinguir entre luz tenue de una longitud de onda donde es sensible y luz intensa de una longitud de onda a la que es menos sensible. En parte por esto es que en la visión nocturna, cuando solo los bastones son funcionales, no se percibe color.

Para percibir color es necesario comparar señales de al menos dos tipos de receptores con diferente sensibilidad espectral. Por ejemplo, en el humano hay tres tipos de conos (Figura 1.12), uno (tipo S) es más sensible a la parte “azul” del espectro, otro (tipo M) a la “verde” y otro (tipo L) a la “naranja”. Por ejemplo, la sensación del rojo proviene de comparar la señal de los conos “verde” que absorben poca luz roja, con la señal de los conos “naranja” que absorben más luz roja.

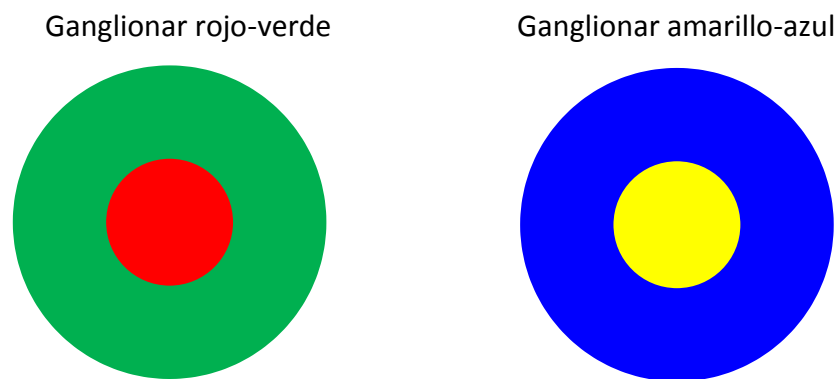


**Figura 1.12.** Diferentes curvas de la sensibilidad espectral de los receptores S, M y L.

Adaptado de Kandel (2006).

La interacción entre centro y rededor del campo receptivo es una parte integral del procesamiento del color. El campo receptivo puede recibir información de varios tipos de conos y la interacción inhibitoria conocida como oponencia espectral tiene importantes consecuencias para la visión a color del animal.

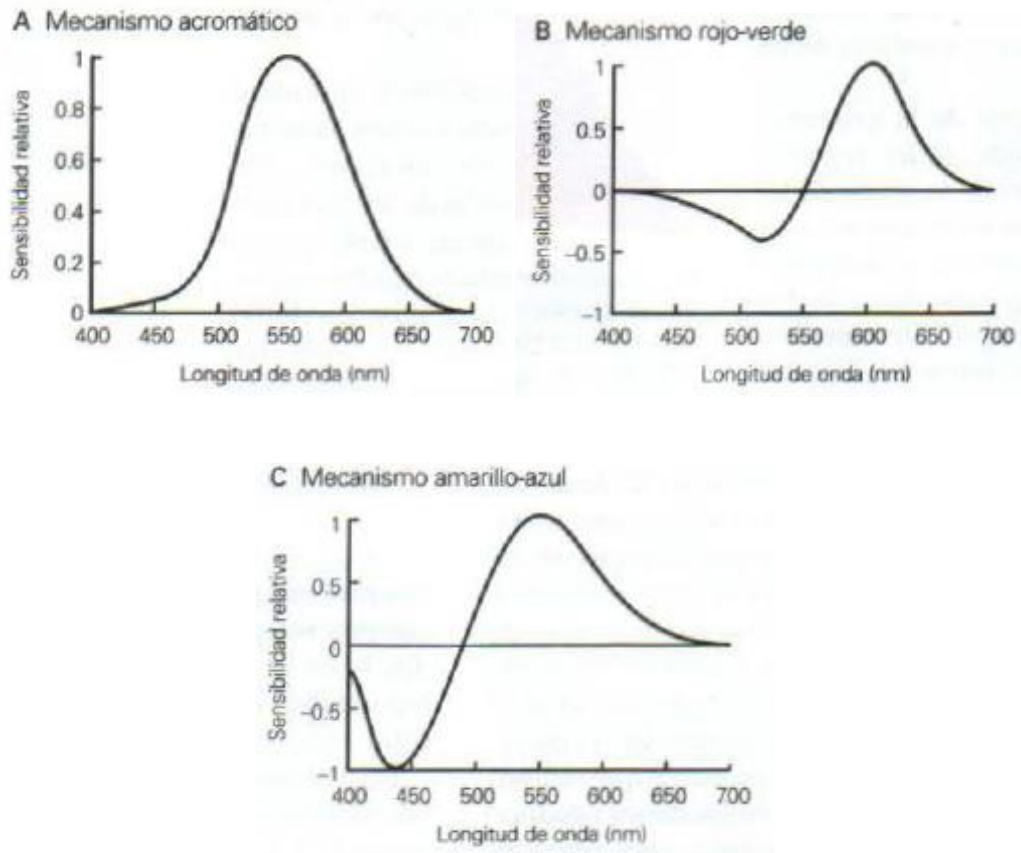
La oponencia espectral en la visión humana se forma por los tres tipos de conos (L, M y S) que convergen en dos clases de células bipolares que a su vez proveen información independiente a dos clases de células ganglionares oponentes (Carlson 2012; Figura 1.13). Un tipo de células bipolares forma el canal Rojo-Verde con información oponente de los conos L y M. El otro tipo forma el canal Amarillo-Azul con la información de los conos S y la oponente información de una combinación de los conos L y M. A estos se les conoce como mecanismos cromáticos de oponencia.



**Figura 1.13.** Campos receptivos de las células ganglionares sensibles al color. Cuando una parte del campo receptor se ilumina con el color representado, la frecuencia de disparo de la célula aumenta, cuando se ilumina con el color complementario, la frecuencia de disparo disminuye. Modificado de Carlson (2012).

La información de los mecanismos de oponencia cromáticos es necesaria para la percepción del brillo, además de la información del canal acromático que capta las variaciones luz-oscuridad (Figura 1.14). Se dice que la percepción del brillo es inherentemente subaditiva en su respuesta a la luz (Figueiro 2008) debido a la entrada de información de los canales oponentes cromáticos. Por ejemplo, si se añade luz “verde” a

una luz “roja” la respuesta del sistema Rojo-Verde disminuirá, reduciendo la saturación de la luz roja y el brillo aparente de la luz roja, incluso cuando en realidad la cantidad de luz ha sido aumentada.



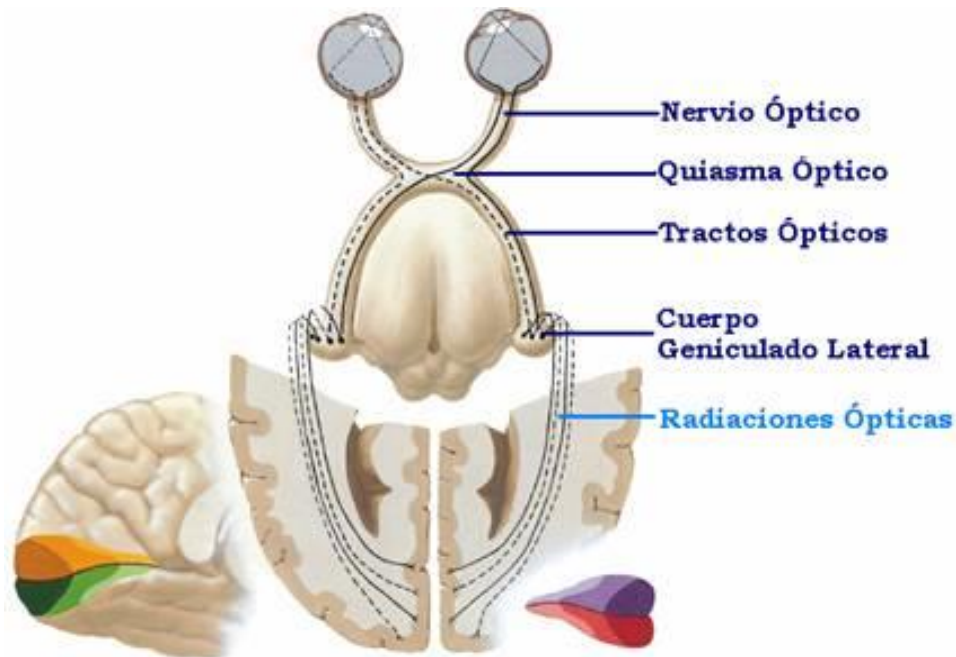
**Figura 1.14.** La sensibilidad espectral de los mecanismos del color. A) Mecanismo acromático formado por la suma de los conos S, M y L. B) Mecanismos rojo-verde que resulta de restar las señales de los conos M de la de los conos L. C) Mecanismo amarillo-azul que se obtiene restando las señales de los conos L y M de la señal de los conos S. Tomado de Kandel (2006).

### **1.3.7. Las vías de la visión**

Aun cuando mucho de la construcción de las imágenes visuales ocurre en la retina, finalmente la percepción de la visión se realiza en el cerebro. Desde la retina los axones de las células ganglionares se agrupan para formar el nervio óptico y se proyectan a través de una región circular llamada disco óptico. Esta región de la retina no contiene fotorreceptores lo que produce un punto ciego.

Los axones del nervio óptico recorren su camino al quiasma óptico en la base del diencefalo. En los humanos, aproximadamente el 60% de estas fibras se decusa en este punto, mientras que el resto (40%) continúa hacia el tálamo y el mesencéfalo del mismo lado. Una vez pasado el quiasma, los axones de las células ganglionares forman a cada lado el tracto óptico. De tal forma que el tracto óptico a diferencia del nervio óptico contiene fibras de ambos ojos. Esto permite que la información correspondiente a puntos en ambas retinas sea procesada en sitios de la corteza de ambos hemisferios.

La mayoría de las proyecciones de la retina llegan al cuerpo geniculado lateral en el tálamo. Las neuronas del cuerpo geniculado lateral proyectan sus axones por vías llamadas radiaciones ópticas a la corteza cerebral, a un área que se encuentra en el lóbulo occipital denominada corteza visual primaria (V1) o corteza estriada. A esta se le conoce como la vía visual primaria o vía retinogeniculoestriada (Figura 1.15).



**Figura 1.15.** Vía visual primaria. La información de la retina se transmite por el nervio óptico, parte de los axones que lo forman se decusa en el quiasma óptico y sigue su trayecto por el tracto óptico hasta el cuerpo geniculado lateral. El cuerpo geniculado lateral proyecta principalmente a las radiaciones ópticas en la corteza visual primaria. Modificado de Netter (2010).

La segunda mayor proyección de los axones de las células ganglionares tienen como objetivo un área entre el tálamo y el mesencéfalo llamada pretectum. Esta área es de particular importancia como el centro coordinador del reflejo pupilar luminoso (i.e. la reducción del diámetro de la pupila que ocurre cuando demasiada luz llega a la retina). Otras proyecciones de los axones de las células ganglionares incluyen al núcleo supraquiasmático del hipotálamo; a través de esta vía, las variaciones de los niveles de luz influyen una variedad amplia de funciones relacionadas con los ciclos circadianos. Otra

vía se proyecta al colículo superior, una estructura visible en la superficie dorsal del mesencéfalo que coordina los movimientos de los ojos y la cabeza relacionados con la visión (Purves 2004).

#### 1.4 *Xenotoca variata*

El pez *X. variata* es un goodeino vivíparo—después de la gestación los alevines nacen vivos— de agua dulce, endémico de la Meseta Central de México. Habita arroyos y estanques en la cuenca del río Lerma (Fitzsimons 1972). Su distribución incluye los estados de San Luis Potosí, Jalisco, Michoacán y Guanajuato. Estos peces habitan cuerpos de agua de poca profundidad y las condiciones de transparencia del agua varían entre poblaciones (Moyaho y cols. 2004). La viviparidad es un evento infrecuente. La fertilización interna es un prerrequisito para la viviparidad y requiere de un órgano intromitorio verdadero o análogo (Meyer y Lydeard 1993). En los goodeinos a este órgano se le llama *andropodium* o *espermatopodium*, una modificación de la aleta anal en los machos cuyos movimientos están controlados por un grupo grande de músculos. La morfología es diferente en cada especie.

Durante la gestación los goodeinos desarrollan una estructura llamada trofotenia, una adaptación que consiste en una superficie simple de epitelio circular y una vascularización interna del núcleo del tejido conectivo. La trofotenia es el sitio principal de la absorción de nutrientes para los embriones de los goodeinos. El periodo de gestación

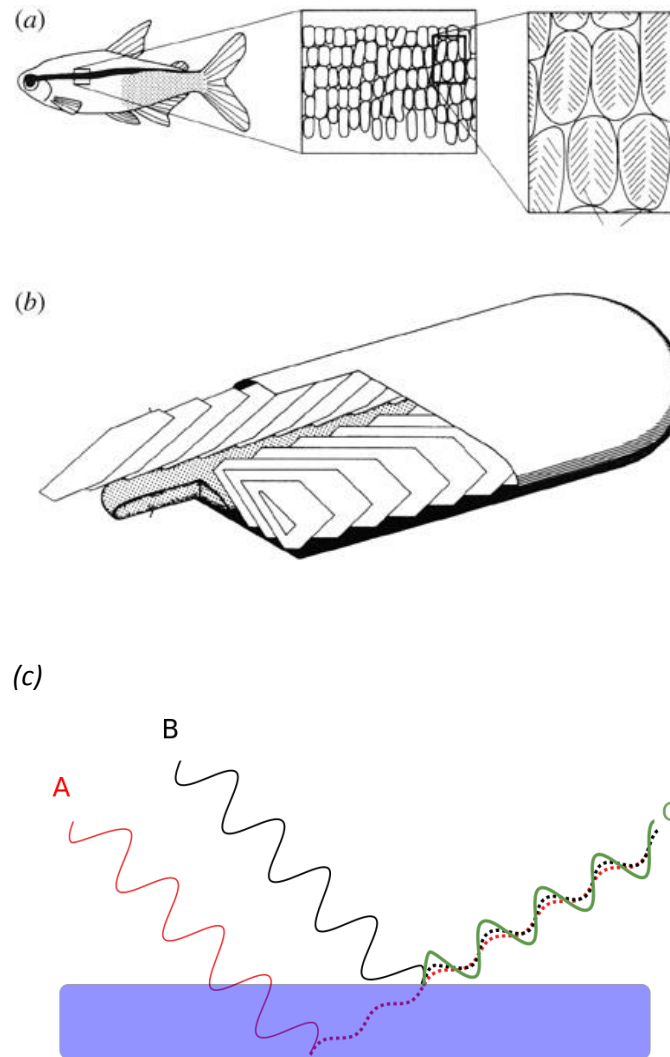
de *X. variata* es de uno a uno y medio meses. Los peces alcanzan la madurez sexual alrededor de los dos meses, aunque pueden seguir creciendo hasta un tamaño aproximado de 4 cm. A partir de este punto y mientras sigan sanos mantendrán su conducta sexual hasta su muerte. En ambiente natural estos peces pueden vivir alrededor de un año, mientras que en cautiverio este tiempo se puede duplicar (datos sin publicar).

Como ocurre en muchos organismos, las condiciones de verano y primavera son más apropiadas para la reproducción, se ha propuesto que el periodo de mayor reproducción sucede entre los meses de febrero y mayo (Miller y cols. 2005). Por su naturaleza vivípara el macho de *X. variata* requiere de la cooperación de la hembra para reproducirse.

*X. variata* presenta dimorfismo sexual: los machos muestran escamas iridiscentes que reflejan colores variados (Fitzsimons 1972; Figura 1). Este dimorfismo sexual varía de acuerdo a la distribución geográfica de las poblaciones de *X. variata* (Moyaho y cols. 2004). Además del hecho de que los machos muestran un número mayor de escamas iridiscentes, éstos se distinguen por tener la aleta dorsal más larga que las hembras y una aleta caudal oscura con una banda terminal amarilla. La coloración del cuerpo varía entre poblaciones en tono ocre y olivo, y contrasta con la presencia de una franja oscura que se extiende a lo largo de los costados. Durante exhibiciones de cortejo el macho realiza movimientos elaborados mostrando sus escamas iridiscentes, con lo cual puede conseguir que la hembra enfoque su atención y eventualmente acceda a copular.

#### **1.4.1. Escamas iridiscentes**

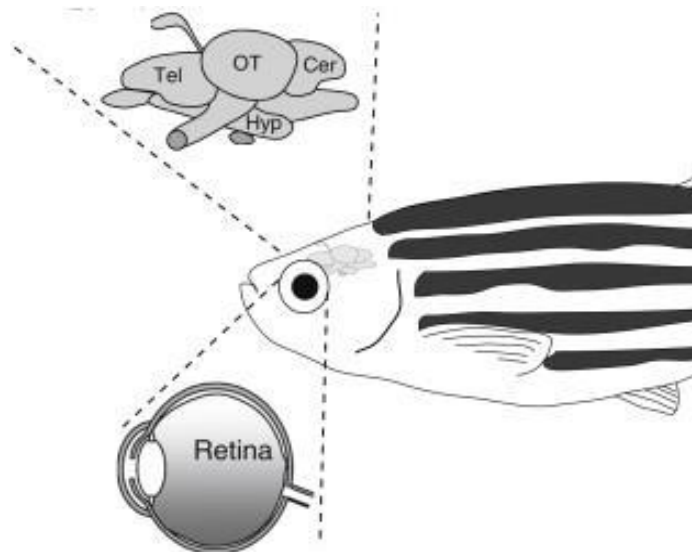
El color en los animales puede ser producido de dos maneras: 1) por pigmentos, en cuyo caso suele ser por las propiedades químicas del tejido; 2) estructural, cuando la naturaleza física del tejido genera un efecto óptico que produce el color y sus mecanismos varían de caso a caso. La iridiscencia es un color estructural que se produce por un fenómeno óptico donde el tono del objeto cambia en relación al ángulo desde el que se observa. Es común que el color iridiscente se origine por un fenómeno conocido como interferencia de láminas delgadas (Doucet y Meadows 2009). En este caso la luz incide en múltiples láminas delgadas (e.g. menos de 1 nm) y una parte es reflejada o transmitida en cada lámina. La luz transmitida a la segunda lámina vuelve a ser reflejada o transmitida otra vez, y así el proceso continúa en cada capa. La luz reflejada por las diferentes láminas interferirá entre sí y el resultado de esta interferencia puede resultar en cambios de la longitud de onda incidente. En las escamas iridiscentes de algunos peces esto se logra alternando capas de guanina y citoplasma (Lythgoe y cols. 1984; Nagashi y Oshima 1992; Figura 1.16).



**Figura 1.16.** Mecanismo de producción de la iridiscencia en las escamas de neon tetra (*Paracheirodon innesi*). Panel a) localización de las escamas iridiscentes, b) composición de las escamas iridiscentes. Se componen de láminas delgadas alternando capas de guanina y citoplasma. Panel c) La interferencia constructiva de las longitudes de onda en capas finas permite el efecto de iridiscencia. Modificado de Nagashi y Oshima (1992).

### 1.4.2. Capacidad visual

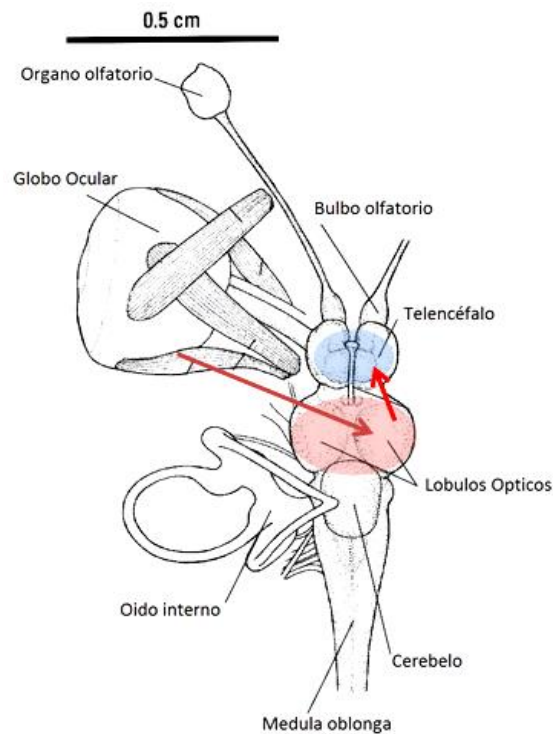
Considerando la importancia que tiene para las especies acuáticas responder a estímulos visuales, es comprensible considerar la capacidad visual que podría tener *X. variata*. Varios trabajos han evidenciado (Lythgoe y Partridge 1989; Bowmaker 1995; Kotschal y cols. 1998;) que existe una predominancia sensorial visual en los peces, especialmente los que viven en aguas no profundas. Estudios comparativos en especies que viven en ambientes diferentes consideran que las necesidades biológicas y las condiciones que establece el medio en el que habita un pez determinan la importancia del uso y desarrollo del sistema visual en una especie. La figura 1.17 ilustra un ejemplo del sistema nervioso de un pez zebra (*Danio reiro*) que vive en agua clara.



**Figura 1.17.** Dibujo que ilustra las estructuras principales responsables de la recepción, conducción y organización de los estímulos visuales. SNC (sistema nervioso central) en el pez: Retina, Tel: telencéfalo; OT: tectum óptico; Cer: cerebelo; Hyp: hipotálamo.

Modificado de Mueller y Neuhauss (2012).

Los estudios indican que el desarrollo de habilidades cognitivas en peces (i.e. aprendizaje espacial, solución de problemas) está asociado con la orientación visual (Kotrschal y cols. 1998). Así mismo, los estudios sugieren que el nivel de desarrollo de las estructuras neurológicas asociadas a la visión en especies emparentadas está determinado sobre todo por las necesidades del organismo (Figura 1.18). Algunos de estos estudios (Bowmaker 1995) incluso han determinado la variación en la sensibilidad cromática del sistema visual, y cómo ésta se correlaciona con las necesidades biológicas y las condiciones del agua en la que se habita (e.g. claridad y profundidad).



**Figura 1.18.** Dibujo que muestra el sistema nervioso central en *Goodea atripinnis*, un goodeino emparentado con *X. variata*. Telencéfalo (azul); lóbulos ópticos (rojo). Las flechas indican la vía visual principal. Adviértase el tamaño proporcional de los lóbulos ópticos, remarcando la importancia de la información visual en esta especie, emparentada con *X. variata*. Modificado de Uribe y Grier (2005).

## 2. PREGUNTA

Se sabe que las hembras de *X. variata* prefieren al macho, de un par, que tiene más escamas iridiscentes. La culebra acuática *Thamnophis melanogaster*, un depredador de goodeinos, también prefiere acercarse al mismo macho (Moyaho y cols. 2004; Manjarrez y cols. 2015). En estos trabajos no se tomó en cuenta el hecho de que las escamas varían en color, aunque sabemos que tanto color como patrón pueden tener un rol relevante en la conducta y ecología de los organismos acuáticos (Lythgoe 1979). Con base en lo anterior es pertinente preguntar ¿qué efecto puede tener la variación de los colores iridiscentes de los machos de *X. variata* en la selección de pareja que hacen las hembras?

### 2.1. Hipótesis y predicciones

Con base en la evidencia presentada en la introducción propongo la hipótesis del embelesamiento: los colores de las escamas iridiscentes capturan la atención de la hembra.

Si ocurre que la variedad de colores capturan la atención de la hembra, entonces cabe esperar que:

1. Una hembra pase más tiempo junto a los señuelos con más colores;
2. Una hembra tarde más tiempo en responder a un estímulo distractor tanto cuanto más colores tenga el señuelo.

## **2.2. Objetivo general**

Determinar cómo la variación del color que presentan las escamas iridiscentes de los machos de *X. variata* afecta la preferencia en la elección de pareja que hacen las hembras.

## **2.3. Objetivos Particulares**

1. Determinar la preferencia relativa de las hembras a diferentes combinaciones de colores usando señuelos;
2. Determinar el efecto de diferentes combinaciones de colores en la latencia de respuesta de las hembras a un estímulo distractor;
3. Determinar de qué forma el tipo de agua (i.e. transparencia) afecta las respuestas de las hembras a la variedad de colores usando señuelos;
4. Determinar el efecto que pueden tener otras variables (como el tamaño corporal de la hembra) en las respuestas de las hembras.

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

Los experimentos consistieron en presentar a cada una de 58 hembras una serie de 7 señuelos con características similares a las que presentan los machos de *X. variata*. Específicamente, cada señuelo tenía en la superficie estructuras iridiscentes con uno, dos o tres colores. Una observadora voluntaria, ajena al interés del estudio, contó la frecuencia y la duración de las visitas que hicieron las hembras a los señuelos y que habían sido videograbadas. Así mismo hice experimentos similares para medir cuán rápido las hembras dejaban de poner atención al señuelo para responder (i.e. orientarse) a un estímulo distractor. La observadora midió el tiempo de latencia de la respuesta de las hembras a la presentación del estímulo distractor.

#### **3.1. Diseño experimental**

Los experimentos se dividieron en dos series experimentales. La primera serie experimental consistió de 30 ensayos donde se contó el número y la duración de las visitas de la hembra a cada señuelo. Cada ensayo duró 15 minutos. La segunda serie experimental de los experimentos consistió en 28 ensayos donde se midió la latencia de respuesta de la hembra a un estímulo distractor. Con este fin se diseñó una prueba similar a la de la primera serie experimental, excepto que no se midió la frecuencia ni la duración de las visitas, además el ensayo tenía una duración variable que dependió del tiempo que tomaba a cada hembra visitar a cada señuelo. Utilicé dos tipos de tratamiento: 1) tipo de

señuelo, el cual consistió en combinar 3 colores de estructuras iridiscentes lo que resultó en 7 señuelos con uno, dos o tres colores de estructuras iridiscentes; 2) el tipo de agua de la pecera experimental (ver adelante), que consistió en usar agua clara o turbia.

Para la primera etapa utilicé un diseño de parcelas divididas. Cada día se hacían dos ensayos (parcelas), 1) agua clara y 2) agua turbia. A su vez cada tipo de agua se subdividió en 7 subparcelas que correspondían a los 7 tipos de señuelo que la pecera experimental contenía. El día fue considerado como un bloque (Tabla 3.1). Bloque se refiere a un grupo de unidades experimentales, las hembras en este caso, que exhiben características muy similares (ver adelante) lo que asegura que respondan de manera también similar en ausencia del efecto de los tratamientos.

**Tabla 3.1.** Diseño experimental para medir el efecto de color del señuelo y el tipo de agua

<i>Condiciones de la Pecera</i>	<i>Bloque/día</i>	<i>Color</i>						
		<i>Azul</i>	<i>Verde</i>	<i>Rojo</i>	<i>AV<sup>1</sup></i>	<i>AR</i>	<i>VR</i>	<i>AVR</i>
Agua Clara	1 ...							
	15							
Agua Turbia	1 ...							
	15							

<sup>1</sup>AV, azul y verde; AR, azul y rojo; VR, verde y rojo; AVR, azul, verde y rojo

Las hembras se ordenaban y empataban por tamaño corporal y se tomaba una muestra aleatoria de 4 pares para los ensayos de 4 días consecutivos. En cada día realicé los ensayos a las 11.30 horas y 13.30 horas, agua clara y turbia en un orden determinado aleatoriamente. En cada día seleccionaba aleatoriamente una de las 4 parejas disponibles de la semana, y aleatoriamente asignaba cada hembra a cada uno de los dos tipos de agua. Los 7 señuelos de la pecera experimental con agua turbia y agua clara de cada día, tenían el mismo arreglo espacial—elegido aleatoriamente—de las estructuras iridiscentes. De este modo, los ensayos de cada día eran muy similares, excepto en el tipo de agua.

VARIABLES INDEPENDIENTES: 1) tipo de agua: agua clara y agua turbia; 2) color de las estructuras iridiscentes en el señuelo: 1) azul, 2) verde, 3) rojo, 4) azul y verde, 5) azul y rojo, 6) verde y rojo y, 7) azul, verde y rojo.

VARIABLES DEPENDIENTES: Las pautas de comportamiento que medí fueron la frecuencia y duración de cada visita. La visita se definió como la orientación de la hembra hacia el señuelo y posterior acercamiento y entrada al cajón del señuelo (ver adelante). La visita iniciaba cuando la hembra entraba por completo al cajón y terminaba cuando salía por completo. La duración de la visita se refiere a la suma total del tiempo que la hembra permanecía en el cajón de cada señuelo.

La segunda etapa experimental difirió de la primera en que la hembra era perturbada encendiendo un estímulo distractor mientras estaba frente a un señuelo. El estímulo distractor fue el encendido de un difusor (una piedra porosa conectada a una bomba de aire) que se colocaba en el centro de la pecera. Se utilizó un diseño

experimental cruzado, lo que hace referencia a que cada hembra fue expuesta a cada uno de los 7 señuelos y al mismo estímulo distractor (Tabla 3.2). El diseño cruzado también permite separar el efecto de los tratamientos del efecto debido al tiempo trascurrido entre el primero y último señuelo visitado (i.e. el turno dentro de la secuencia en la que se aplicó el estímulo distractor durante la visita) y también el probable efecto de carga. Éste se refiere al efecto que puede tener en la respuesta a un señuelo la respuesta al señuelo visitado inmediatamente antes, es decir un efecto acumulado.

**Tabla 3.2.** Diseño cruzado para medir el efecto de un estímulo distractor

<i>SUJETOS</i>	<i>PERIODOS</i>						
	[,1]	[,2]	[,3]	[,4]	[,5]	[,6]	[,7]
[1,]	1 <sup>1</sup>	4	6	5	7	2	3
[2,]	7	6	3	1	2	4	5
[3,]	5	2	4	3	1	7	6
[4,]	3	2	7	5	6	4	1
[5,]	1	6	4	7	5	3	2
[6,]	4	1	5	6	2	7	3
[7,]	5	4	2	1	3	6	7
[8,]	4	5	1	2	6	3	7
[9,]	2	3	5	7	4	6	1
[10,]	3	7	2	6	5	1	4
[11,]	6	7	1	3	4	2	5
[12,]	6	1	7	4	3	5	2
[13,]	2	5	3	4	7	1	6
[14,]	7	3	6	2	1	5	4

<sup>1</sup>Las columnas son las secuencias (periodos) de la presentación del estímulo distractor y las filas son las hembras. Cada número en cada celda indica el señuelo (con una combinación particular de estructuras iridiscentes) que la hembra debía visitar para que el experimentador activara el estímulo distractor.

El número de secuencias posibles para la presentación del estímulo distractor en función de los 7 señuelos, es muy grande (7!). Así que solo se tomaron 14 secuencias utilizando un diseño cruzado generado en R (R Core Team 2014) por el método de Williams (Sailer 2005). La misma secuencia se usó para el agua clara y el agua turbia para un día en particular. El diseño es balanceado para el efecto de carga de 1er orden, lo cual es importante para el análisis estadístico correcto de los datos.

Variables independientes: 1) tipo de agua: agua clara y agua turbia; 2) color de las estructuras iridiscentes en el señuelo: 1) transparente, 2) azul, 3) verde, 4) rojo, 5) azul y verde, 6) verde y rojo y, 7) azul, verde y rojo.

Variable dependiente: Latencia de respuesta, el tiempo que tomaba a la hembra reaccionar a la presencia del estímulo distractor. Específicamente, el tiempo transcurrido entre la iniciación del estímulo distractor y el momento en que la hembra rotaba el cuerpo 45° de manera repentina o gradual en dirección al estímulo distractor.

### **3.2. Los peces de estudio**

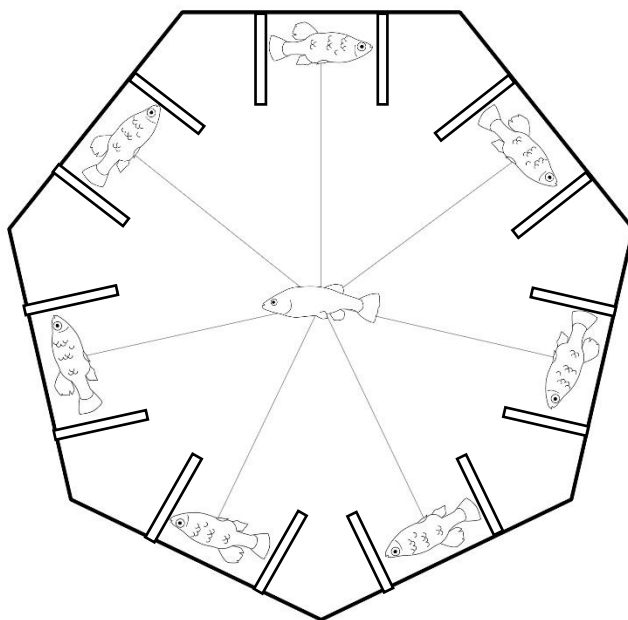
Usé 58 peces hembra de la especie *X. variata* descendientes de una población proveniente de la laguna de Yuriria, Guanajuato. Dicha población fue elegida porque los machos presentan la mayor variación en color y cantidad de escamas iridiscentes (Moyaho y cols. 2004). Años atrás se trajo al Instituto de Fisiología de la BUAP una muestra de estos peces que ahora se ha establecido en una poza dentro de las instalaciones del Instituto. Las

hembras que utilicé se mantuvieron aisladas en otra poza de menor tamaño (105 cm x 205 cm x 130 cm, con capacidad aproximada de 2368 L). De esa poza fui colectando a las hembras para los experimentos y las mantuve en el laboratorio en peceras que miden 51 cm x 26 cm x 30 cm. Cada par de hembras (para cada día) se colocó en una pecera dividida por una lámina de acrílico. El agua de las peceras se mantuvo a un pH aproximado de 7.6 y se aireó con un flujo intermitente que proveía una bomba conectada a un difusor. Las peceras se mantuvieron bajo un fotoperiodo de 12 horas (las luces se encienden a las 7 am) y con una temperatura ambiente constante. Cada pecera tenía una capa de grava en el fondo y plantas acuáticas (*Elodea*) para proveer a los peces sitios para ocultarse, simulando condiciones naturales. Cada pecera se colocó sobre una base de unicel y 3 de sus lados (posterior y laterales) se cubrieron con papel *Kraft* color café claro para evitar que los peces se vieran entre sí y para simular un ambiente natural. Cada pecera estuvo cubierta con una lámina de acrílico para evitar que los peces saltaran y que el nivel de agua disminuyera por evaporación.

Para los ensayos usé hembras que fueran sexualmente maduras, y por eso escogí aquellas de más de 35 mm de longitud, el tamaño corporal de las hembras es proporcional a su edad. Medí cada hembra colocándola en una pecera de medición más pequeña (10 cm x 15 cm x 5 cm). Con una red para atrapar peces empujé suavemente a la hembra a una de las paredes y con una regla medí la longitud estándar (la distancia entre la punta de la boca y la base de la aleta caudal). Para los experimentos evité usar cualquier hembra con signos de enfermedad o lesión física.

### 3.3. La pecera experimental

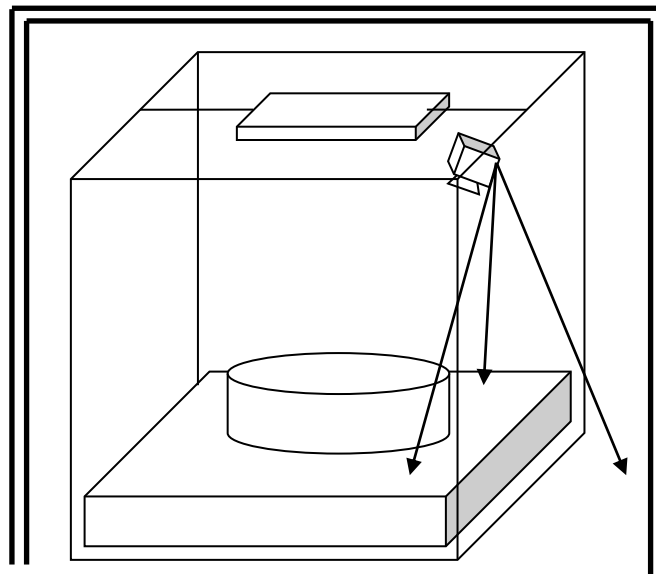
Para los ensayos usé una pecera heptagonal (30 cm de lado) hecha de vidrio esmerilado de 6mm de grosor. En el centro de cada lado de la pecera formé un cajón, colocando dos cuadros de vidrio (10 cm de lado) con una separación entre ellos de 8 cm. Dentro de cada cajón coloqué cada uno de los siete señuelos en un orden aleatorio (Figura 3.1). La pecera estaba centrada y orientada al norte magnético con el fin de que la disposición de cada lado de la pecera no variara de ensayo en ensayo.



**Figura 3.1.** Diagrama de la pecera de experimentación. La pecera heptagonal (siete lados) con el arreglo de los señuelos y los cajones.

La pecera era llenada con 25 L de agua de garrafón y de un estanque en una proporción 1:1. La profundidad del agua en la pecera era de 8cm. Se añadía “Stress Coat”

(Aquarium Pharmaceuticals Inc) al agua, una sustancia comercial utilizada para proteger las mucosas de los peces y tranquilizarlos. Para controlar las condiciones de iluminación de la pecera experimental se construyó una cámara de observación y registro de las pautas de comportamiento (Figura 3.2). Con este fin se hizo fabricar un andamio de metal con una base cuadrada de 90 cm de lado y una altura variable. Sobre la parte superior hay un espacio construido especialmente para descansar la lámpara de iluminación de la pecera experimental. El andamio está cubierto por dos telas gruesas negras que no permiten el paso de la luz, mientras que la pecera experimental se colocó sobre una lámina de hule espuma de 10 cm de espesor para limitar el efecto de vibraciones que pudieran distraer al pez.



**Figura 3.2.** Diagrama de la cámara de observación y registro de las pautas de comportamiento. La pecera experimental en el centro de la cámara, aislada del ruido y la luz externos. La videocámara permite observar y registrar en vivo. Y un panel superior sostiene la lámpara.

### 3.4 La iluminación de la pecera experimental

Las características espectrales de la luz del día natural pueden variar entre días, temporadas, e incluso durante un mismo día. Cambios en la calidad de la luz del día son afectados por las condiciones atmosféricas, la hora del día, la temporada, contaminación, altitud y locación. Todos estos factores afectan la capacidad de evaluar el color, por lo tanto es necesario simular de manera controlada la luz del día. Para simular la iluminación natural usé una lámpara led “AI HYDRA” (Aqua Illumination; Figura 3.3). Esta lámpara permite emular la iluminación natural del sol, a la vez que variarla para diferentes condiciones y momentos del día. Para lograrlo cuenta con un arreglo de LEDs diferentes que cubren el espectro de luz ultravioleta y visible. Variando la intensidad individual de cada led, es posible una iluminación acorde a diferentes situaciones.



**Figura 3.3.** Arreglo de LEDs de la lámpara AI HYDRA. Los LEDs están dispuestos en 4 grupos de 5 diferente tipos de LED y sus valores de iluminación pueden determinarse independientemente. Son 7 tipos diferentes de LEDs nombrados (por sus siglas en inglés) : CW, Blanco; V, violeta; DR, rojo; G, verde; DB, azul oscuro; RY, azul; UV, ultravioleta.

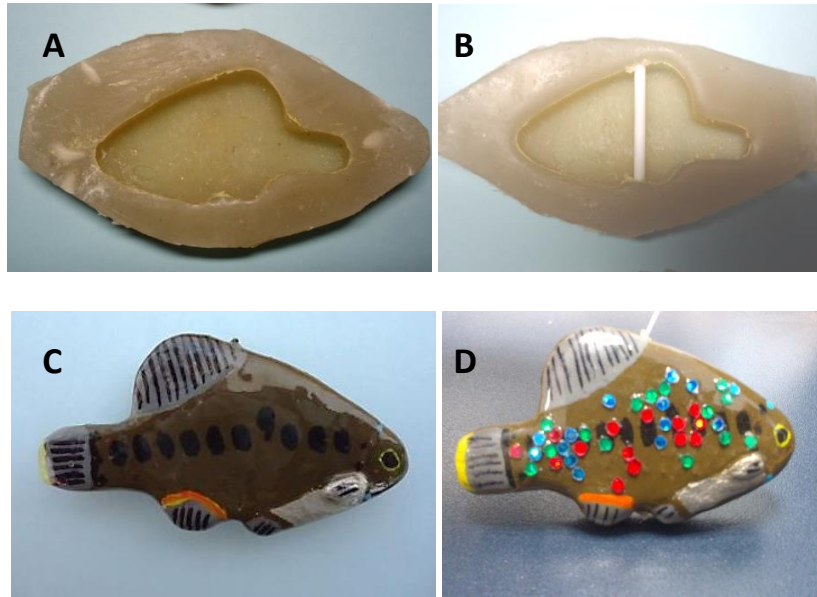
Usé el programa de la lámpara para determinar los valores de iluminación óptima de la zona geográfica del caribe del mes de mayo, entre las 12 y 15 horas. Los valores de iluminación (en porcentaje) para cada led fueron: CW60, V60, DR80, G80, DB80, RY80 y UV80. La irradiancia de la luz de la lámpara se midió dentro de la cámara de observación y registro con las mismas condiciones de los experimentos. Medí la irradiancia absoluta con un espectroradiómetro HR4000 y el programa Spectra Suit. El sensor se colocó a 130 cm de la lámpara, la misma distancia a la superficie del agua en la pecera. Utilicé una lámpara de calibración LS-1-CAL con una fibra óptica de 200 micras (HiOH UV/VIS, 2m de largo) y un corrector coseno (CC-3). El material y aparatos para medir la irradiancia o radiancia (ver más abajo) se compraron en “Ocean Optics”.

### **3.5. Los señuelos**

Para manipular la variación de los colores iridiscentes de las escamas usé señuelos de machos con estructuras iridiscentes. El uso de señuelos permite simular aspectos naturales como el tono, la saturación y el brillo de las manchas coloreadas de los peces que no se puede lograr con imágenes en un monitor (Rowland 1999). Usé cada señuelo sólo una vez para evitar que si hubiera algún rastro o señal química dejada por una hembra experimental, aquella pudiera ser detectada por la hembra del siguiente ensayo.

Los señuelos fueron contruidos por el Biólogo José Luis Salazar Bautista. A partir de fotos y observaciones esculpió un modelo maestro con arcilla para moldear (DAS Airdry

modeling clay). El modelo fue del tamaño promedio de los peces macho de la población (55 mm). Se construyeron 13 moldes de silicón del modelo maestro con lo que se consiguió uniformidad en la forma y tamaño de los señuelos. Para cada molde se derritieron 25 g de silicón comercialmente accesible y se vertieron sobre el modelo maestro en una charola de aluminio previamente cubierta con vaselina. Una vez frío el silicón (aproximadamente 20 minutos después) se separó el molde negativo (Figura 3.4 A). Se vertió en los moldes yeso dental alfa tipo III (color Ved Stone) para construir los señuelos. Para cada señuelo se preparó una mezcla homogénea de 17 g de yeso y 7 ml de agua. Antes de verter el yeso se colocó en el molde un cilindro delgado y hueco de plástico (Figura 3.4 B) para sujetar al señuelo con un hilo nylon (#60) durante los experimentos. Los señuelos se inspeccionaron después de que fraguaron, se les quitaron los bordes de la parte posterior con una lija de agua C-99 (FANDELI). Los señuelos se pintaron con pinturas acrílicas y se barnizaron con barniz antigraffiti (Poliforma, 2 componentes) y luego se les adhirieron las estructuras iridiscentes (Figuras 3.4 C y 3.4 D).

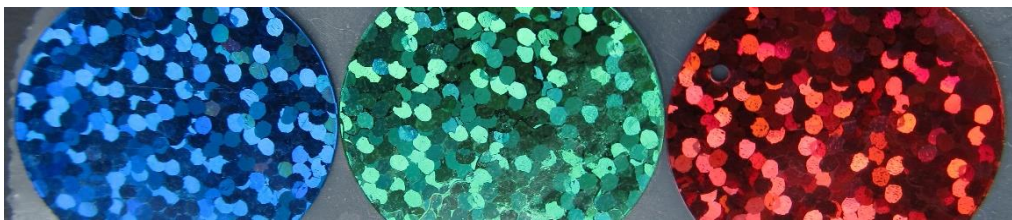


**Figura 3.4.** Proceso de construcción de los señuelos. A) Molde negativo obtenido a partir del modelo maestro; B) Colocación del cilindro hueco; C) Modelo pintado y barnizado; D) Modelo terminado.

### 3.6. Las estructuras Iridiscentes

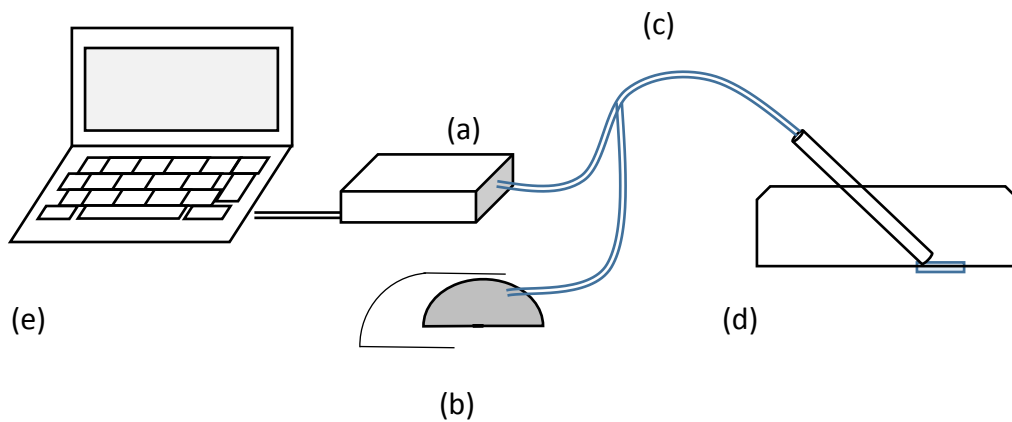
Para modificar el color y número de las escamas iridiscentes usé láminas delgadas de PVC (grosor de 0.2mm) grabadas con láser con efectos iridiscentes (Figura 3.5). Las láminas están disponibles comercialmente en varios colores; seleccioné tres tipos de estas estructuras para abarcar las longitudes de onda que las escamas naturales muestran. En términos de color aparente se eligieron azul, verde y rojo. Para construir los señuelos utilicé siete diferentes combinaciones de estos tres colores: señuelos con estructuras de un solo color, señuelos con la combinación de estructuras de dos colores, y uno con la

combinación de las estructuras de los tres colores. Cuando los señuelos tenían más de un color de estructura, el número de las estructuras se asignó proporcionalmente. El número exacto de estructuras iridiscentes en cada señuelo fue siempre el mismo: 42, el número promedio de las escamas iridiscentes que presentan los machos de *X. variata* de Yuriria. Para que las estructuras correspondieran en tamaño a las escamas naturales recorté círculos de 2 mm de diámetro con una perforadora a partir de una lámina del material. Los círculos fueron adheridos a los señuelos con el mismo barniz que los cubre.



**Figura 3.5.** Estructuras Iridiscentes. Láminas de PVC que muestran efectos iridiscentes en colores aparentes azul verde y rojo respectivamente.

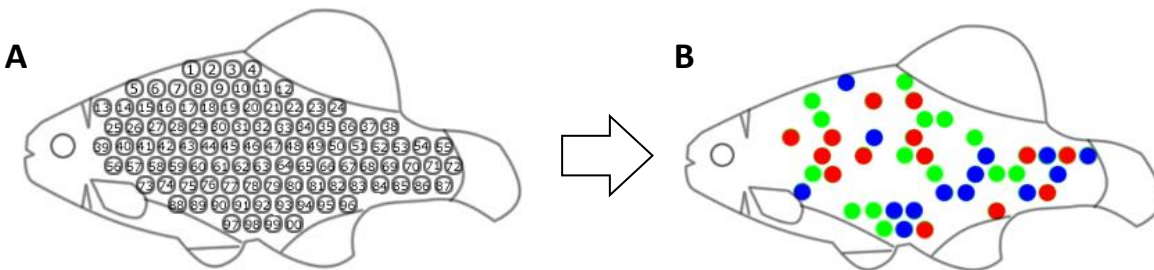
Medí la reflectancia a las estructuras iridiscentes para determinar sus características espectrales utilizando el siguiente equipo y material (Figuras 3.6): 1) un espectroradiómetro HR4000, 2) el programa Spectra Suit, 3) una lámpara DT-MINI-2 GS como fuente de luz, 4) un soporte para muestras con ángulo de 45 grados RPH-1, 5) una fibra óptica bifurcada de 400 micrómetros R400-7-UV/VIS y 6) el estándar blanco WS-1.



**Figura 3.6.** Disposición de los instrumentos y equipo para la medición de la reflectancia. a) espectroradiómetro, b) fuente de luz, c) fibra óptica, d) soporte para muestras, y d) computadora.

Debido a que no se sabe si las escamas iridiscentes en los machos tienen una distribución regular y el efecto que ello pudiera tener en la elección femenina, utilicé arreglos aleatorios de las estructuras iridiscentes. Los arreglos se generaron con una rutina programada en R (R Core Team 2014) que genera secuencias de números aleatorios. Estos números aleatorios corresponden a espacios en una plantilla digital con la forma del pez que incluye los espacios donde típicamente el pez tiene escamas iridiscentes (Figura 3.7 A). De esta manera se pueden generar arreglos para cada señuelo con la ubicación precisa de las estructuras iridiscentes por color para cada señuelo (Figura 3.7 B). Con estos arreglos se hacen plantillas de plástico a la medida con las que se marcan los señuelos para adherir las estructuras iridiscentes. Este proceso permite obtener uniformidad en los señuelos que se usan para un experimento en particular (ver más

abajo) a la vez que los arreglos de las estructuras iridiscentes son parecidos a los que presentan los machos naturalmente.



**Figura 3.7.** Proceso de aleatorización de los patrones de las estructuras iridiscentes. A) Plantilla digital del señuelo con los posibles espacios para colocar estructuras iridiscentes. B) Modelo digital con la selección aleatorizada del patrón de las estructuras iridiscentes.

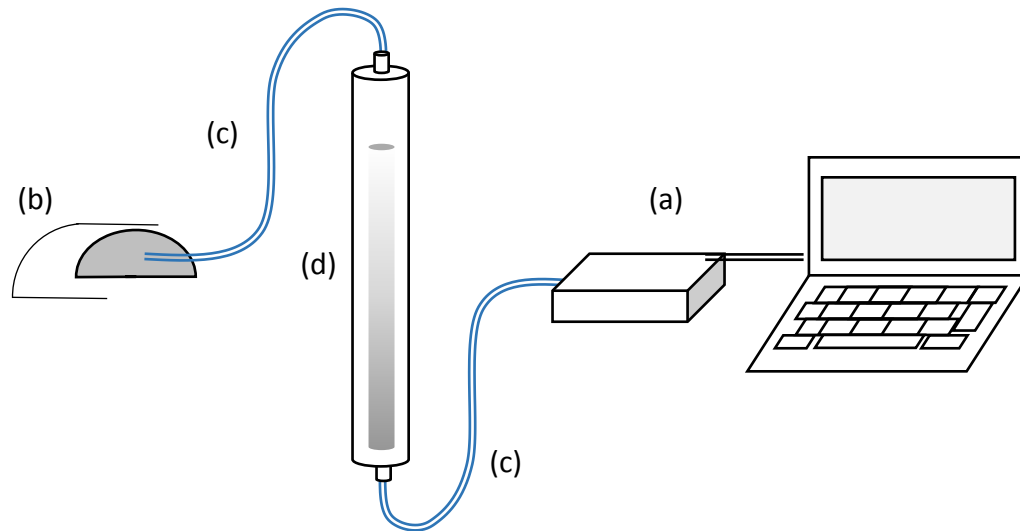
### 3.7. Las condiciones del agua

Para los ensayos utilicé agua clara y turbia. Para enturbiar el agua, la condición del agua donde viven los peces de esta población, usé arcilla cuyas partículas quedan suspendidas formando un coloide. La cantidad de arcilla por unidad de volumen que usé (1g/L) fue determinada así con el objetivo de acercarme lo más posible a las condiciones naturales pero que me permitiera hacer las observaciones de las pautas de comportamiento que conté. La arcilla usada fue recolectada cerca de la carretera Santa Ana Chantempan, Puebla, en las coordenadas 19° 15' 77" longitud norte y 98° 4' 36" latitud oeste. El agua,

independientemente del tratamiento (clara o turbia), se mezcló previamente por tres minutos en una tina de plástico con un agitador mecánico modificado (Agitador A4 Aquatic Eco-Systems). Luego el agua era vertida en la pecera. Esto permitía que las partículas más grandes y pesadas se quedaran en la tina, y las suficientemente pequeñas para formar el coloide pasaran a la pecera.

Con el fin de contar con mediciones consistentes del grado de turbidez del agua, hice 2 tipos de medición.

1) Mediciones de transmitancia usando el método del tubo (Endler 1990). De manera breve, se llenan tubos de diferente longitud con el agua y se mide la cantidad de luz que pasa de un extremo al otro (transmitancia) y se compara con la cantidad de luz que pasa por el tubo vacío. Para este método usé 5 tubos de metal anodizado de 10, 20, 30, 40 y 50 cm de largo. En los extremos los tubos tenían lentes colimados (74-series; para mantener el haz de luz enfocado). La transmitancia se midió con un espectroradiómetro HR4000 y el programa Spectra Suit. Utilicé una lámpara DT-MINI-2 GS como fuente de luz y dos fibras ópticas de 600 micrómetros (Figura 3.8).



**Figura 3.8.** Disposición del material y aparatos para la medición de la transmitancia de la luz. a) espectroradiómetro, b) fuente de luz, c) fibra óptica, d) tubo para muestra y e) computadora.

Un índice de la transmitancia que se usa es el coeficiente de atenuación, el cual describe la medida en que se reduce la intensidad de un haz de energía a medida que pasa a través de un material específico y se obtiene graficando el logaritmo natural del porcentaje de transmitancia para una longitud de onda particular contra la distancia. El valor de la pendiente del ajuste lineal que se hace es una estimación del coeficiente llamado  $\alpha$  (Endler 1990).

2) La turbidez del agua se midió con un Turbidímetro o nefelómetro (LaMotte, modelo 2020). Para tal fin se tomaron muestras de agua de aproximadamente 50ml. Se

tomaron con una pipeta a la mitad de la columna de agua y a una distancia media entre el centro de la pecera y uno de sus lados. La toma de las muestras, su manejo y mediciones fueron realizados por la Química Alejandra Díaz Loyo. El turbidímetro mide la intensidad de la luz dispersada a 90 grados cuando un rayo de luz pasa a través de la muestra de agua. Esta medición se compara contra la de un estándar y expresa el nivel de turbidez de la muestra en unidades nefelométricas de turbidez o NTU por sus siglas en inglés. Tanto las muestras como los estándares se colocan en celdas que se ponen en el espacio correspondiente del aparato. Las celdas deben mantenerse libres de imperfecciones por lo que deben ser manipuladas por la tapa o la base usando guantes, y se limpian y pulen con un trapo que no raye ni deje rastros. Para el caso de muestras y estándares turbios es recomendable agitar las celdas previamente, invirtiéndolas suavemente para evitar formar burbujas. Para cada medición se llenó una celda con agua de la muestra (volumen aproximado de 15ml). Inmediatamente antes de la medición el equipo se calibró con dos estándares (0 y 100 NTU). Debido a que la turbidez de la muestra es sensible al tiempo, la medición se hizo inmediatamente después de tomar la muestra. Después de la medición de turbidez el agua restante de la muestra (aproximadamente 35 ml) se filtró con papel filtro y se midió su pH. Considerando la sensibilidad de los peces a los cambios de acidez del agua y puesto que ésta puede ser afectada por alguno de los elementos de los señuelos, o por la manipulación del agua, se determinó medir el pH del agua. Para medirlo se utilizaron dos potenciómetros, uno proporcionado por el Dr. Eduardo Monjaraz Guzmán (Denver Instruments Basic pH meter) y otro de bolsillo (Hanna Instruments). También se midió la temperatura del agua usando un termómetro común de mercurio.

### **3.8. El estímulo distractor**

Para generar un estímulo distractor utilicé un difusor, conectado a una manguera y ésta a una bomba de aire que genera 1 psi de presión (marca Hagen, modelo Elite 799), que colgaba de la parte superior de la cámara de observación y registro. La bomba estaba controlada por un interruptor eléctrico que se encendía y apagaba a distancia. El difusor genera un flujo de burbujas que resulta llamativo y atractivo para los peces. Puesto que era necesario determinar el momento justo de la activación del estímulo distractor, se colocó un micrófono que registraba el ruido de la actividad mecánica de la bomba de aire. De esta forma junto a la señal de video con la actividad del pez, se grababa la señal de audio donde se podía identificar el momento preciso en que se encendía y apagaba el difusor. Esto me permitió contar el tiempo preciso entre la activación del estímulo distractor y la respuesta de la hembra.

### **3.9. Procedimiento experimental**

En un día típico de ensayo transportaba a la hembra desde su pecera habitual a la pecera de experimentación. Luego la colocaba dentro de un cilindro de vidrio en el centro de la pecera experimental, el experimento comenzaba inmediatamente después de que el cilindro era retirado. Los primeros 15 minutos que la hembra permanecía en la pecera experimental se consideraron como de aclimatación, tiempo suficiente en el que podía visitar y conocer a todos los señuelos. A partir del minuto 15 se daba por iniciado el registro del comportamiento de la hembra, mismo que se videograba. Al concluir el experimento detenía la grabación, sacaba a la hembra y la regresaba a su pecera habitual.

Después de cada experimento vaciaba el agua, limpiaba y secaba cuidadosamente la pecera. Hice esto para evitar que quedara algún rastro o pista química en el agua o la pecera que pudiera afectar el comportamiento de la siguiente hembra de experimentación.

Para la segunda etapa experimental, determiné el orden de la presentación del estímulo distractor de manera aleatoria, y una vez que la hembra entraba al cajón del señuelo en turno el estímulo distractor era iniciado. El estímulo distractor no se activaba a menos que la hembra visitara al señuelo específico del periodo en turno. El procedimiento se repetía hasta que la hembra visitaba a cada uno de los 7 señuelos o bien hasta que hubiesen pasado 75 minutos a partir del inicio de la prueba. En cualquier caso la prueba se daba por terminada y la hembra era atrapada y devuelta a su pecera.

Para la filmación utilicé una cámara de video (Samsung Digital-Cam SDC34) puesta dentro de la cámara de observación y registro apuntando a la pecera con ayuda de un trípode. La videocámara fue conectada a una tarjeta digitalizadora ("TV Capture" Mpeg Usb TV Station) que transmite a una computadora donde, con la ayuda de un programa, se grababa directamente mientras que se podía observar la pecera en tiempo real. Para los experimentos de la primera parte se generaron archivos en formato AVI con una compresión Mpeg4 a una resolución de 320x240 y sin audio. Los archivos generados para la segunda parte fueron en formato MP4 sin compresión y una resolución de 640 x 480.

### **3.10. Análisis estadístico de los datos**

Una persona voluntaria observó y contó las pautas de comportamiento registradas en los videogramas. Para este propósito se usó un procedimiento de muestreo conocido como muestreo focal, y uno de registro conocido como continuo. Es decir, la persona observaba continuamente a la hembra y registraba todas las ocurrencias de la pauta de comportamiento de interés. Los videos fueron analizados con el programa “Lightworks” ([www.lwks.com](http://www.lwks.com)). Se instruyó a la observadora en el manejo del programa y en el uso del formato de registro, para lo cual se le proporcionó una descripción detallada de las pautas de comportamiento que habría de contar. La persona desconocía el objetivo de la aplicación de los tratamientos.

Las respuestas que se midieron se cambiaron a proporciones para disminuir la variación intraindividual. Para obtener la proporción de visitas conté el número de visitas que realizó cada hembra a cada señuelo y lo dividí entre el número total de visitas que hizo. Seguí un procedimiento similar para el caso de la duración de las visitas. Para las latencias medí el tiempo que tardaba la hembra, estando frente al señuelo, en responder al estímulo distractor y lo dividí entre el tiempo total que le tomó responder a todos los señuelos.

El análisis estadístico de los datos se hizo con base en dos aspectos: 1) el tipo de modelo estadístico ajustado a los datos; 2) la elección del modelo que mejor explicara la variación de los datos (Crawley 2002).

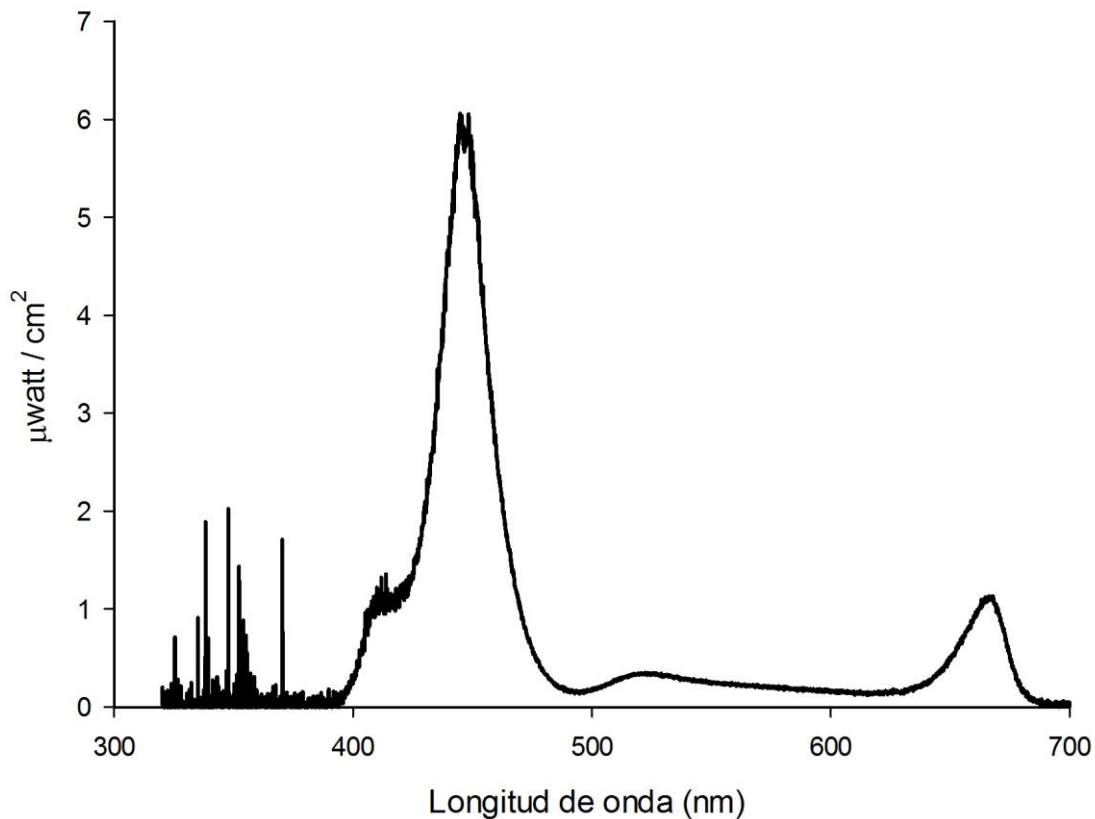
1) Tipo de modelo. Utilicé dos tipos de modelos. A) Modelos lineales mixtos (LMM por sus siglas en inglés). Los modelos lineales mixtos se usan cuando los datos siguen una distribución normal y las variables predictivas (i.e. variables independientes) son de efectos fijos y de efectos aleatorios. Para determinar la normalidad y homogeneidad en la varianza de los datos apliqué la prueba de normalidad llamada Shapiro-Wilk. B) Modelos lineales generalizados mixtos (GLMM por sus siglas en inglés; Bolker y cols. 2008). Estos se refieren a situaciones en las que los datos siguen distribuciones de la familia exponencial (e.g. binomial, Poisson, gama, etc.). Específicamente para el análisis de una parte de los resultados de la tesis apliqué GLMM que asumen una distribución binomial de los datos.

2) Elección del modelo. Utilicé el procedimiento conocido como simplificación del modelo (Crawley 2002) para obtener el modelo mínimo adecuado. Este procedimiento consiste en remover sucesivamente los términos del modelo cuya contribución no es significativa, hasta obtener un modelo con todos sus términos significativos. Para determinar si la variación aportada por cada término era significativa hacía análisis de devianza. El análisis de devianza compara los modelos, con y sin el término a remover usando una pruebas  $X^2$  o  $F$  (dependiendo del tipo de modelo). Una vez obtenido el modelo mínimo adecuado apliqué una prueba de regresión lineal de los promedios de las respuestas contra cada variable predictiva que resultó significativa. Los análisis se realizaron con el programa R (R Core Team 2014). Los resultados de los análisis se consideraron significativos cuando los valores fueron de  $P \leq 0.05$ .

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Medición de irradiancia

Medí la irradiancia de la lámpara que usé como fuente de luz en los experimentos. La figura 4.1 muestra que la distribución espectral no es uniforme en el espectro electromagnético, habiendo una mayor cantidad de energía en la región de longitudes de onda más cortas (400 nm – 480 nm).



**Figura 4.1.** Distribución espectral de la irradiancia de la lámpara Hydra. Medida a 130 cm de la lámpara, la distancia a la que estaba la superficie del agua de la pecera experimental.

## 4.2 Mediciones del agua

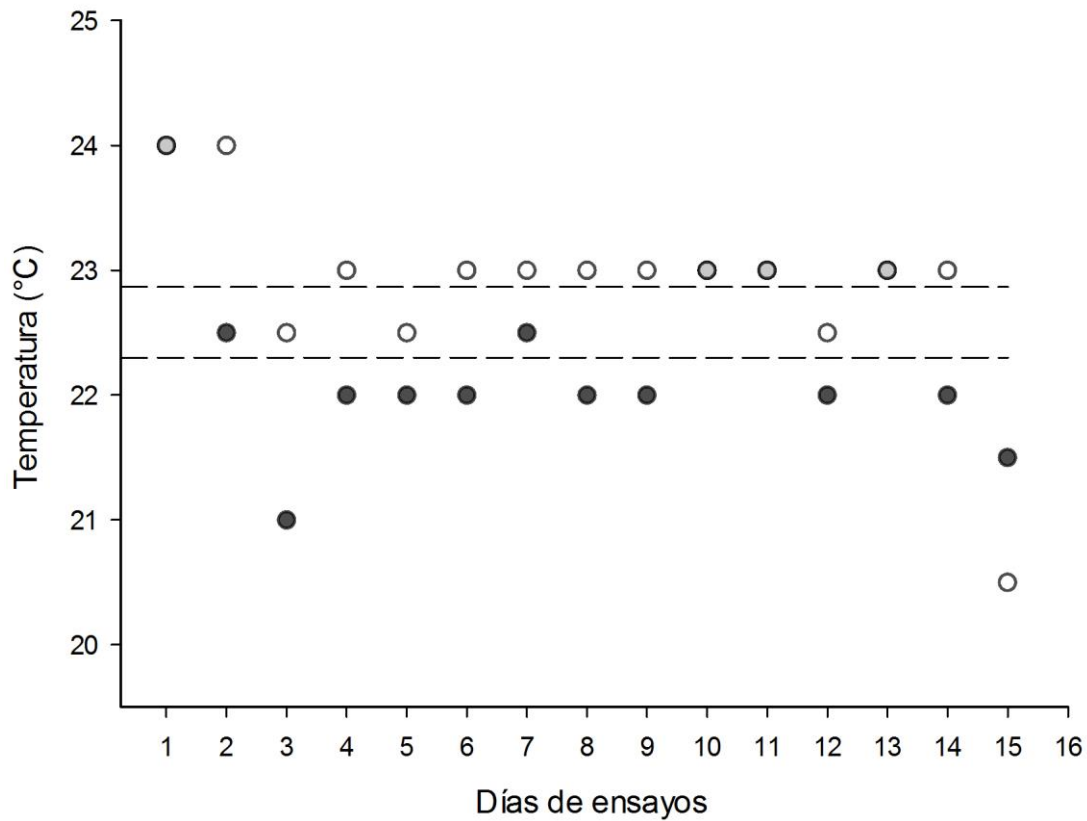
Medí el pH y la temperatura del agua en cada ensayo (Tabla 4.1). Entre las series experimentales hubo diferencias en el pH ( $t = 6.42$ , g.l. = 32,  $P = 0.001$ ). La temperatura también fue diferente entre las series experimentales ( $t = 10.67$ , g.l. = 60,  $P = 0.001$ ). Estas diferencias pueden atribuirse a que las series experimentales se realizaron en diferentes épocas del año.

**Tabla 4.1.** Resumen de las mediciones de temperatura y pH del agua para las dos series experimentales

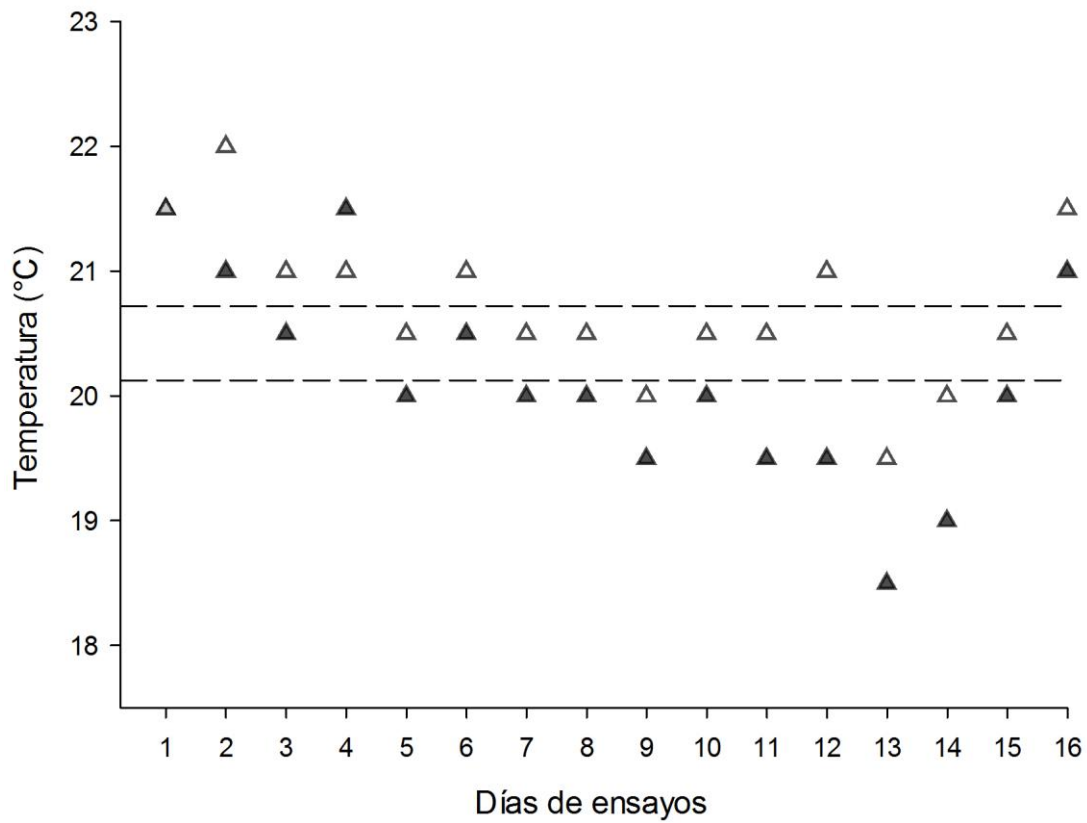
	Temperatura (°C)	pH	n
Serie 1	$22.58 \pm 0.14^1$	$7.57 \pm 0.05$	30
Serie 2	$20.42 \pm 0.15$	$7.24 \pm 0.01$	28

<sup>1</sup>Los valores se expresan en promedio  $\pm$  desviación estándar del promedio. n se refiere al tamaño de la muestra.

Las figuras 4.2 y 4.3 muestran que también hubo diferencias de ensayo a ensayo en la temperatura en la primera ( $t = -3.24$ , g.l. = 14,  $P = 0.006$ ,  $n = 15$ ) como en la segunda serie experimental ( $t = -5.22$ , g.l. = 15,  $P = 0.001$ ,  $n = 16$ ). Las diferencias no pueden considerarse como una variable que haya alterado los resultados puesto que las condiciones de agua que se usaron para cada ensayo fueron aleatorizadas.

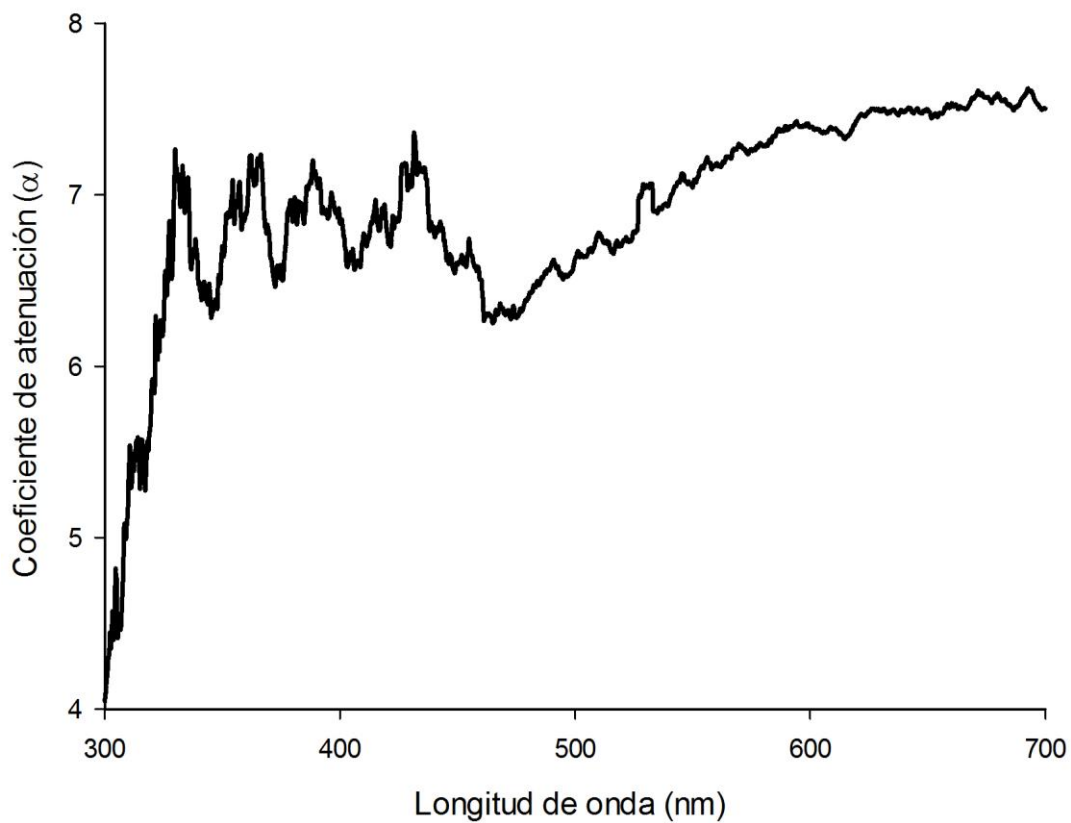


**Figura 4.2.** Medida de la temperatura del agua para la primera serie experimental. Los círculos llenos representan a los ensayos que se realizaron a las 11:30 horas. Los círculos vacíos representan a los ensayos realizados a las 13.30 horas. Los círculos grises representan cuando ambas mediciones fueron iguales. Las líneas punteadas representan la temperatura promedio para cada horario (la línea inferior para las mediciones de las 11:30 horas). Los ensayos se hicieron entre abril y mayo del 2014.



**Figura 4.3.** Medida de la temperatura del agua para la segunda serie experimental. Los triángulos llenos representan a los ensayos que se realizaron a las 11:30 horas. Los triángulos vacíos representan a los ensayos realizados a las 13.30 horas. El triángulo gris representa cuando ambas mediciones fueron iguales. Las líneas punteadas representan la temperatura promedio para cada horario (la línea inferior para las mediciones de las 11:30 horas). Los ensayos se hicieron entre octubre y noviembre del 2014.

Con el espectroradiómetro medí la transmitancia del agua turbia a distancias sucesivamente crecientes (10, 20, 30, 40 y 50 cm) en el rango ultravioleta y visible. La figura 4.4 muestra los coeficientes de atenuación para cada longitud de onda. Se aprecia que la transmitancia varía a lo largo del espectro electromagnético, en general cuanto más grande son las longitudes de onda más rápido se atenúa la intensidad de la luz.



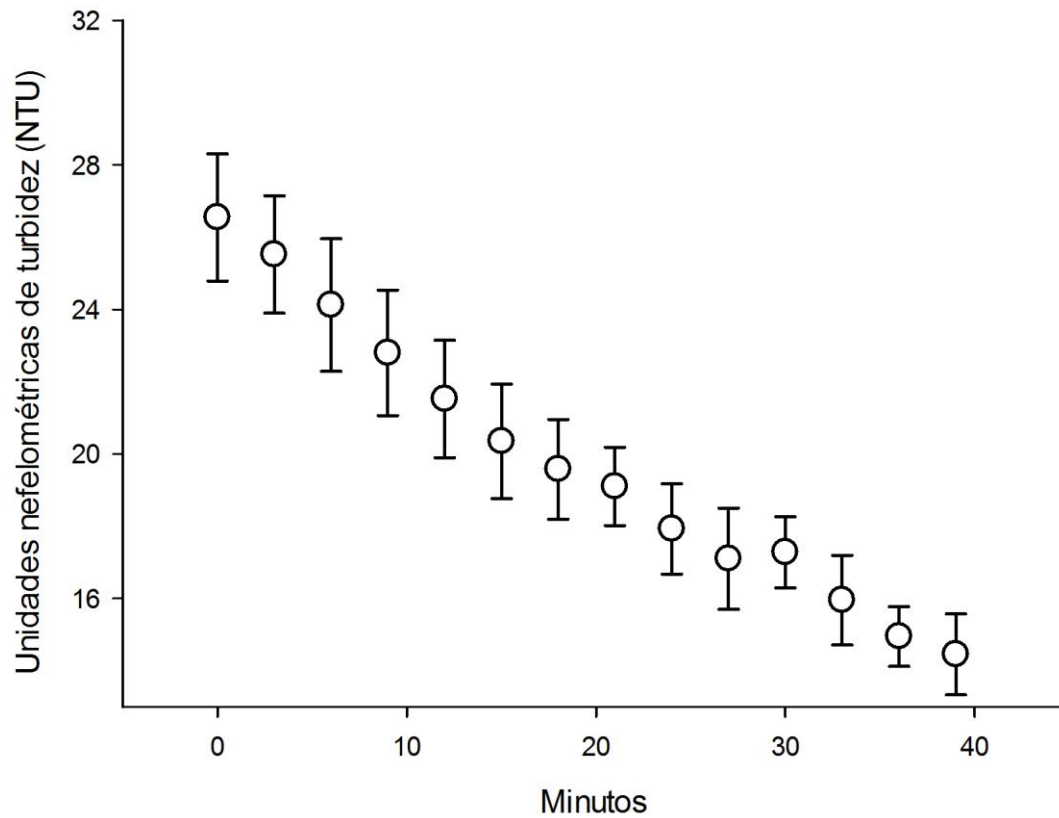
**Figura 4.4.** Coeficientes de atenuación de la luz en agua turbia en función de las longitudes de onda en el rango ultravioleta y visible del espectro electromagnético.

Con el turbidímetro registré la turbidez del agua al inicio y final de cada ensayo en la primera serie experimental (Tabla 4.2). No hubo diferencia entre las mediciones del agua clara ( $t = 0.3$ , g.l. = 14,  $P = 0.77$ ) pero si las hubo entre las mediciones del agua turbia ( $t = 15.23$ , g.l. = 14,  $P = 0.001$ ). Para explorar el cambio de la turbidez del agua en el tiempo realicé cuatro pruebas con preparaciones de agua turbia y registré la turbidez a intervalos de tres minutos (Figura 4.5).

**Tabla 4.2.** Resumen de las mediciones de turbidez del agua en los ensayos para la primera serie experimental

	Medición		n
	Inicial	Final	
Agua turbia	$27.45 \pm 1.09^1$	$15.93 \pm 0.70$	15
Agua clara	$0.25 \pm 0.05$	$0.24 \pm 0.04$	15

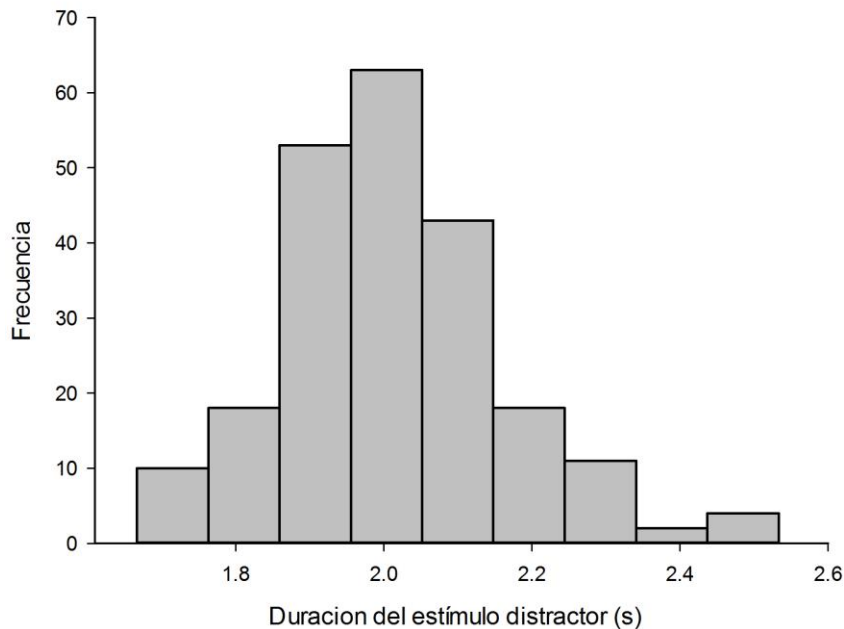
<sup>1</sup>Tomé muestras en cada ensayo al inicio y al final (30 minutos después). <sup>1</sup>Los valores se expresan en unidades nefelométricas de turbidez (NTU) promedio  $\pm$  desviación estándar del promedio.



**Figura 4.5.** Decremento de la turbidez del agua con el tiempo. Los círculos representan el promedio de las mediciones de 4 preparaciones de agua turbia que se hicieron cada tres minutos. Las barras representan la desviación estándar del promedio.

### 4.3 Medición del estímulo distractor

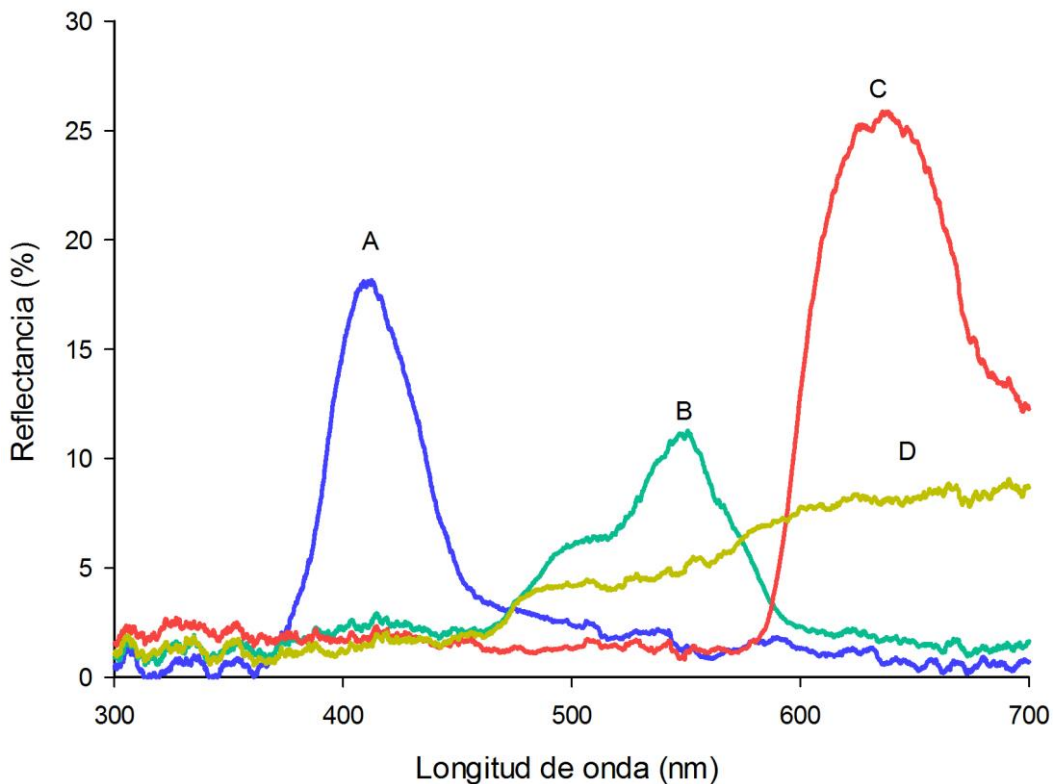
Para medir la latencia de respuesta a un estímulo distractor utilicé un difusor que generó un flujo de burbujas en la pecera experimental. Manualmente encendía y apagaba la bomba de aire que alimentaba al difusor y con la ayuda de un metrónomo traté que el estímulo tuviera una duración constante de dos segundos. Registré la duración del estímulo distractor cada vez que lo apliqué, y como ilustra la figura 4.6 la distribución fue aproximadamente normal. El promedio de la duración fue 2.01 segundos con una desviación estándar del promedio de 0.01 segundo. Por lo tanto la duración del estímulo distractor no fue significativamente diferente de dos segundos ( $t = 1.18$ , g.l. = 221,  $P = 0.23$ ).



**Figura 4.6.** Histograma de frecuencia de la duración del estímulo distractor. Los intervalos de clase son de 0.25 s.

#### 4.4 Mediciones del brillo de las estructuras iridiscuentes

Para medir y usar la variable del color como una variable cuantitativa analicé las distribuciones espectrales de las estructuras iridiscuentes que pegué a los señuelos. La figura 4.7 muestra las distribuciones espectrales de los cuatro tipos de estructuras iridiscuentes que usé. Observe que la estructura azul también mostró reflectancia en el rango ultravioleta (320 nm – 400 nm).



**Figura 4.7.** Distribución espectral de la reflectancia de las estructuras iridiscuentes. Cada trazo representa a cada uno de los cuatro tipos de estructuras iridiscuentes los cuales corresponden a lo que llamamos: (A) azul, (B) verde, (C) rojo y (D) transparente sobre el fondo ocre del señuelo.

Medí el brillo para cada distribución espectral. La forma más confiable de medir el brillo para que sea comparable entre diferentes mediciones, incluso cuando no se tengan las mismas condiciones del equipo, es como el brillo promedio (Hill y McGraw 2006). El brillo promedio ( $B$ ) se obtiene como la sumatoria de todos los porcentajes de reflectancia ( $R$ ) en cada intervalo en el que se mida la región espectral de interés (típicamente desde 320 nm hasta 700 nm), dividido entre el número de intervalos sumados ( $n$ ). El brillo promedio puede calcularse con una sumatoria o una integral (Hill y McGraw 2006). Lo calculé con ambos métodos y no hubo diferencia significativa ( $t = 0.93$ , g.l. = 3,  $P = 0.42$ ,  $n = 4$ ).

$$B = \sum_{\lambda_{320}}^{\lambda_{700}} R_i/n_w$$

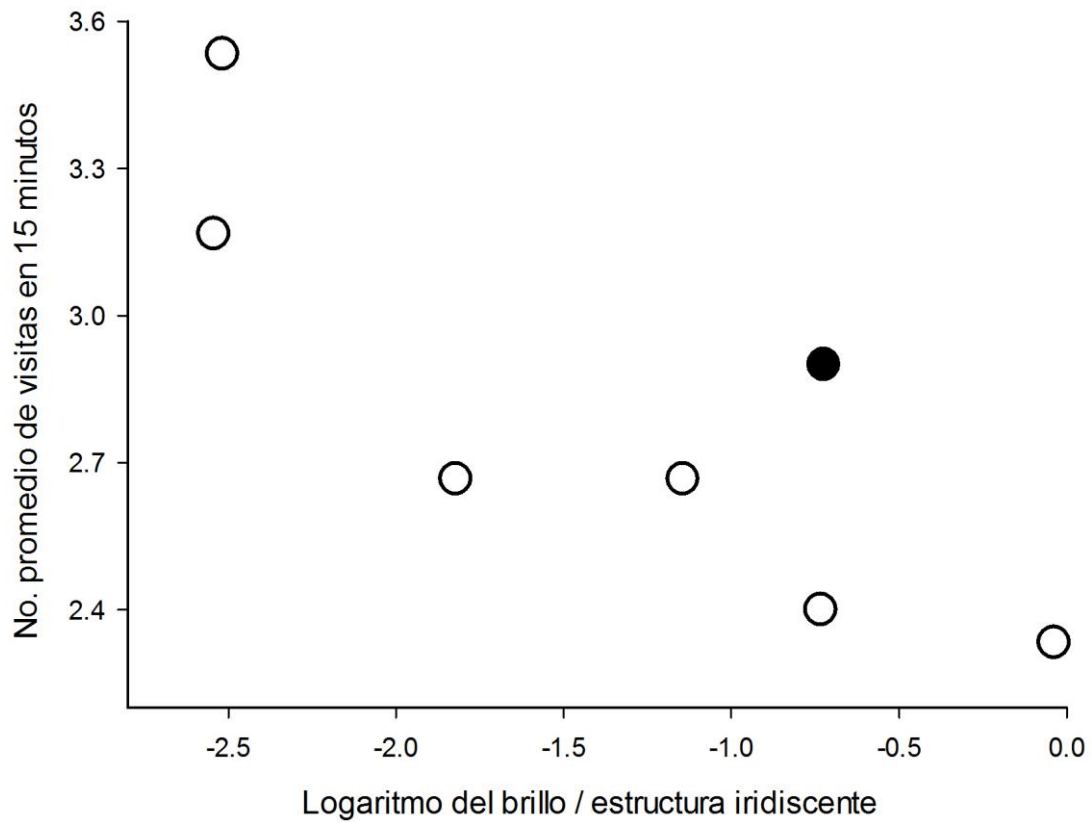
Cada estructura iridiscente tuvo un brillo promedio único (azul = 3.299, verde = 3.387, rojo = 6.789 y transparente = 4.473). El brillo promedio de una distribución espectral es un valor adimensional, por lo tanto dividí la medida de brillo entre el número de estructuras iridiscentes de cada tipo (i.e. color) que cada señuelo tenía (Tabla 4.3).

**Tabla 4.3.** Valores de brillo para cada tipo de estructura iridiscente de cada señuelo.

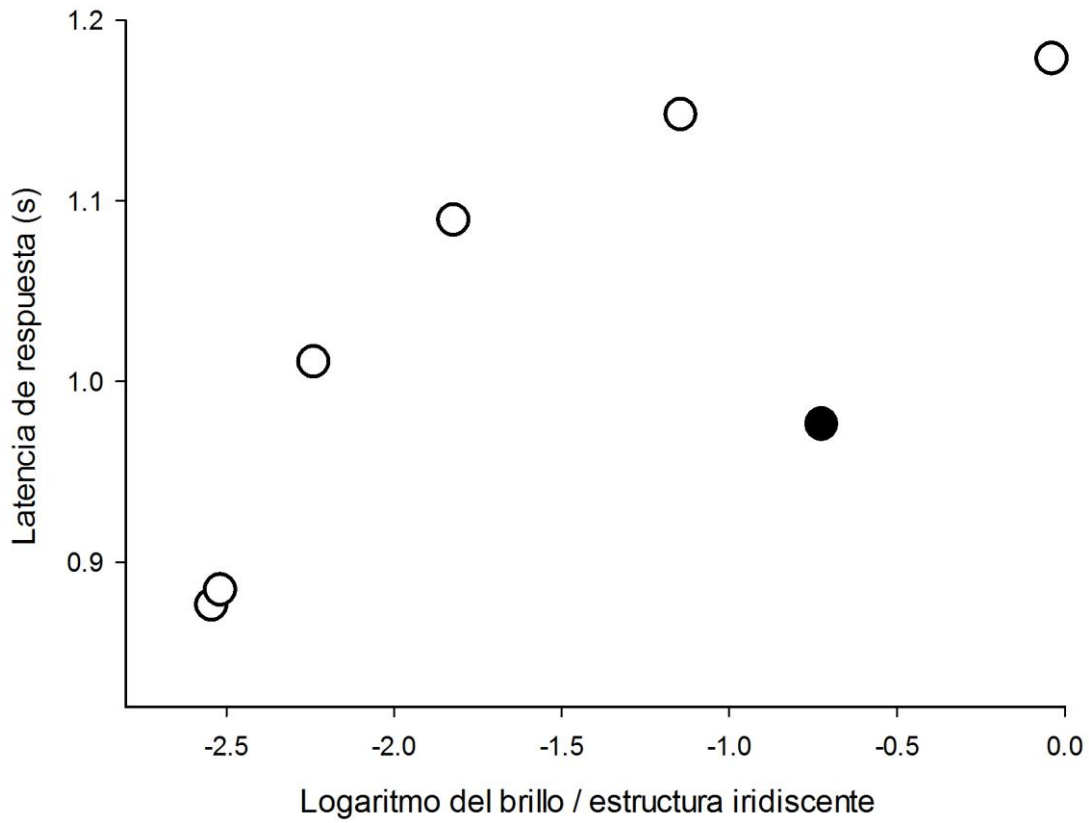
Señuelo	Brillo <sup>1</sup>	Brillo por estructura iridiscente
Transparente	4.4730	0.10650
Azul	3.2998	0.07856
Verde	3.3878	0.08066
Rojo	6.7894	0.16165
Azul y verde	6.6876	0.31846
Azul y rojo	10.0892	0.48044
Verde y rojo	10.1772	0.484632
Azul, verde y rojo	13.4770	0.962651

<sup>1</sup>La columna del brillo sólo considera la suma de los brillos promedios y la del brillo por estructura iridiscente considera la suma del brillo promedio entre el número de estructuras iridiscuentes de cada tipo.

Cuando grafiqué el promedio del número de visitas de las hembras a los señuelos o las latencias de respuesta al estímulo distractor contra el brillo encontré indicios de una relación definida entre ellos, excepto por uno o dos puntos que rompían con el patrón (Figuras 4.8 y 4.9, círculos llenos). La combinación de las estructuras iridiscuentes rojas y verdes parecía tener algún efecto en la respuesta de las hembras.

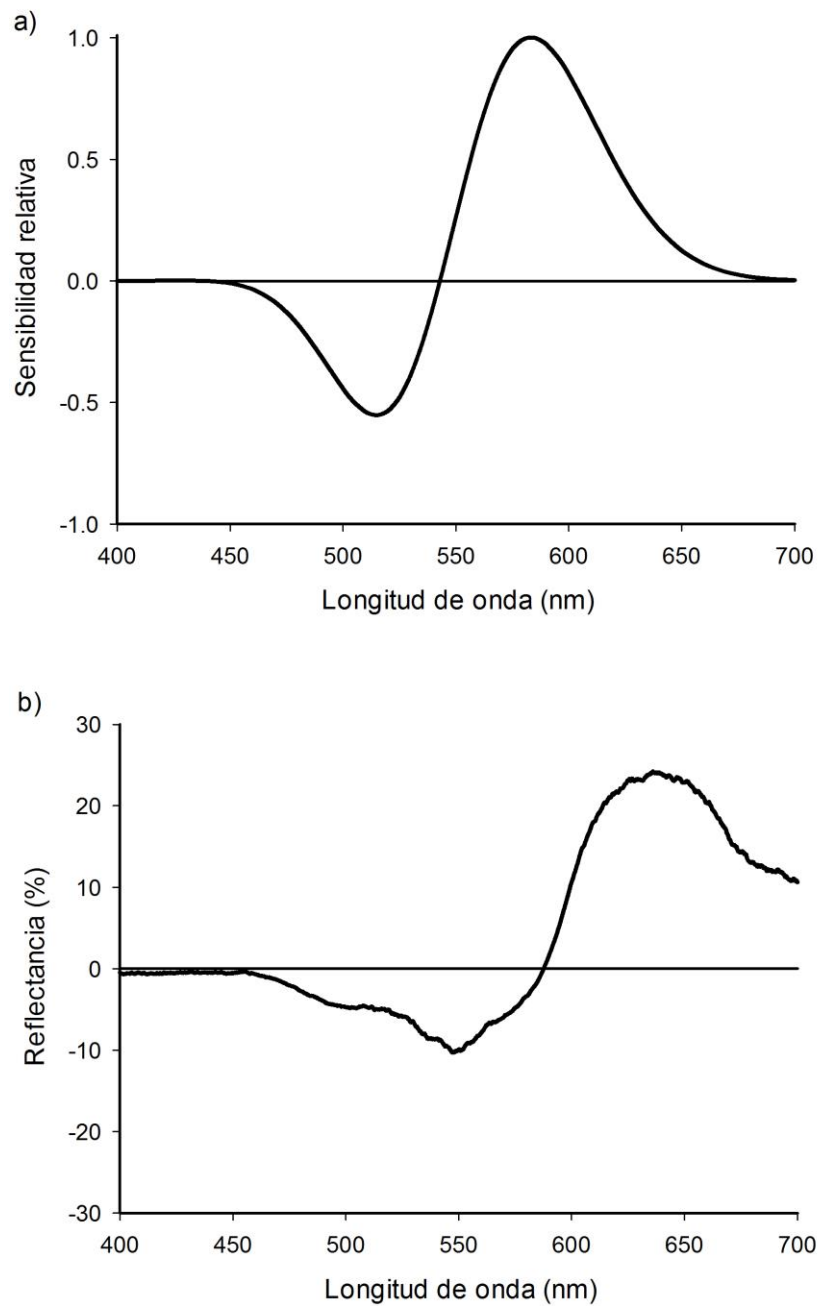


**Figura 4.8.** Relación entre el número de visitas de las hembras a los señuelos y el brillo por estructura iridiscente. El círculo lleno representa el señuelo con la combinación de estructuras iridiscentes de colores rojo y verde. Los círculos vacíos representan el resto de los señuelos.



**Figura 4.9.** Relación de la latencia de respuesta al estímulo distractor y el brillo por estructura iridiscente. El círculo lleno representa el señuelo con la combinación de estructuras iridiscentes de colores rojo y verde. Los círculos vacíos representan el resto de los señuelos.

Estos dos colores forman uno de los mecanismos de oposición propuestos para explicar la eficiencia del procesamiento del color en la retina (Buchsbaum y Gottschalk 1983; Kandel 2001). Dicho mecanismo cromático propone que la sensibilidad espectral del mecanismo rojo-verde resulta de restar las señales de los conos de tipo M a los de los conos de tipo L (Figura 4.10 A). Apliqué un ajuste basado en esta propuesta para los dos tipos de señuelo que contienen estructuras iridiscentes verdes y rojas, resté el brillo del verde al rojo (Figura 4.10 B). Tal distribución espectral es casi idéntica a la sensibilidad espectral que predice el mecanismo de oposición rojo-verde.



**Figura 4.10.** Mecanismo cromático de oponencia rojo-verde. a) Sensibilidad espectral del mecanismo rojo-verde. Resulta de restar las señales de los conos M a los de los conos L (modificado de Kandel 2001). b) Ajuste del brillo para señuelos con estructuras rojas y verdes. Resulta de restar la curva de reflectancia de las estructuras verdes a la de las estructuras rojas.

Volví a calcular los valores de brillo por estructura iridiscente para cada señuelo usando el ajuste por el mecanismo rojo-verde (Tabla 4.4). Estas intensidades de brillo son las que use para los análisis estadísticos.

**Tabla 4.4.** Valores de brillo por estructura iridiscente y por tipo de señuelo

Señuelo	Brillo por estructura iridiscente	Brillo por estructura iridiscente (ajustado)
Transparente	0.10650 <sup>1</sup>	0.10650
Azul	0.07856	0.07856
Verde	0.08066	0.08066
Rojo	0.16165	0.16165
Azul y verde	0.31846	0.31846
Azul y rojo	0.48044	0.48044
Verde y rojo	<b>0.484632</b>	<b>0.16198</b>
Azul, verde y rojo	<b>0.962651</b>	<b>0.47867</b>

<sup>1</sup> Los valores representan la medida de brillo por estructura iridiscente cuando no se considera el ajuste por el mecanismo de oposición rojo-verde y cuando se considera (valores en “negrita”).

#### **4.5. Visitas de las hembras a los señuelos**

##### **4.5.1 Selección del modelo estadístico más apropiado de las visitas de las hembras a los señuelos**

La aplicación de un GLMM a los datos de la duración de las visitas indicó que la variación de los efectos aleatorios era nula. Esto significa que en este modelo las variables de efectos aleatorios no tenían una contribución significativa a la variación total. La comparación de este modelo con uno sin las variables de efectos aleatorios no fue significativamente diferente ( $\chi^2 = 0$ , g.l. = 1,  $P = 1$ ). Por lo tanto opté por el modelo más simple que no incluye a los efectos aleatorios, por lo que pasé de aplicar un GLMM a aplicar un modelo lineal generalizado (GLM). Encontré que para la duración de las visitas ninguna de las variables explicativas aportó variación significativa a la variación total ( $F_{1, 209} = 2.49$ ,  $P = 0.11$ ; Anexo, Tabla A1 a).

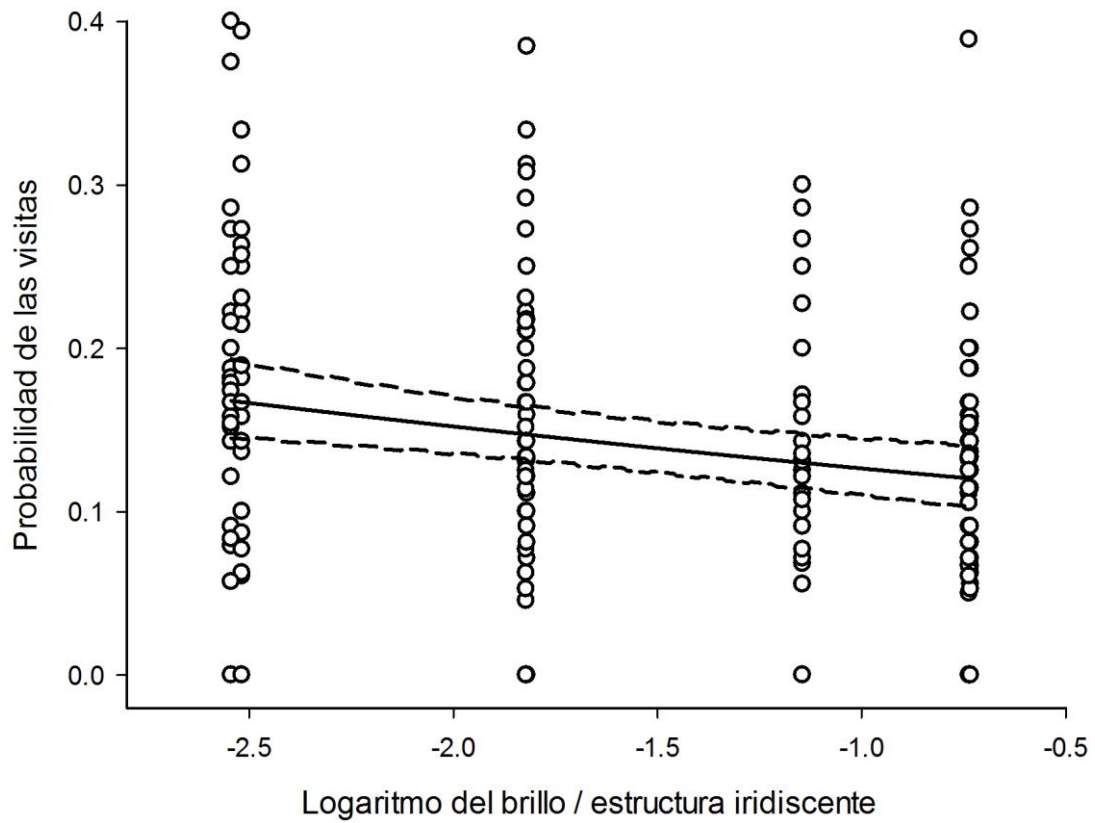
Apliqué un GLMM a los datos de las probabilidades (i.e. proporción) de las visitas. El análisis también indicó que la variación de las variables de efectos aleatorios era nula y de manera similar no hubo diferencia con un modelo que no las incluyó ( $\chi^2 = 0$ , g.l. = 1,  $P = 1$ ). El GLM sin los efectos aleatorios reveló que ni el tipo de agua ni la longitud estándar de la hembra tuvieron alguna contribución significativa a la varianza total de la respuesta ( $F_{1, 207} = 0$ ,  $P = 1$ ; Anexo Tabla A1 b). El modelo mínimo adecuado únicamente incluyó al brillo como variable explicativa ( $F_{1, 209} = 9.29$ ,  $P = 0.002$ ; Anexo Tabla A1 a), y ésta tuvo una contribución significativa (Tabla 4.5).

**Tabla 4.5.** Resumen del GLM mínimo adecuado ajustado a los datos de la probabilidad de las visitas de las hembras a los señuelos

	Coefficiente <sup>1</sup>	Error estándar	Valor <i>t</i>	Valor <i>P</i>
Brillo	-0.214	0.065	-3.269	0.001

<sup>1</sup> Como el grado de sobre dispersión (promedio/varianza) era mayor que uno, la estructura de los errores que se asumió fue cuasibinomial en lugar de binomial.

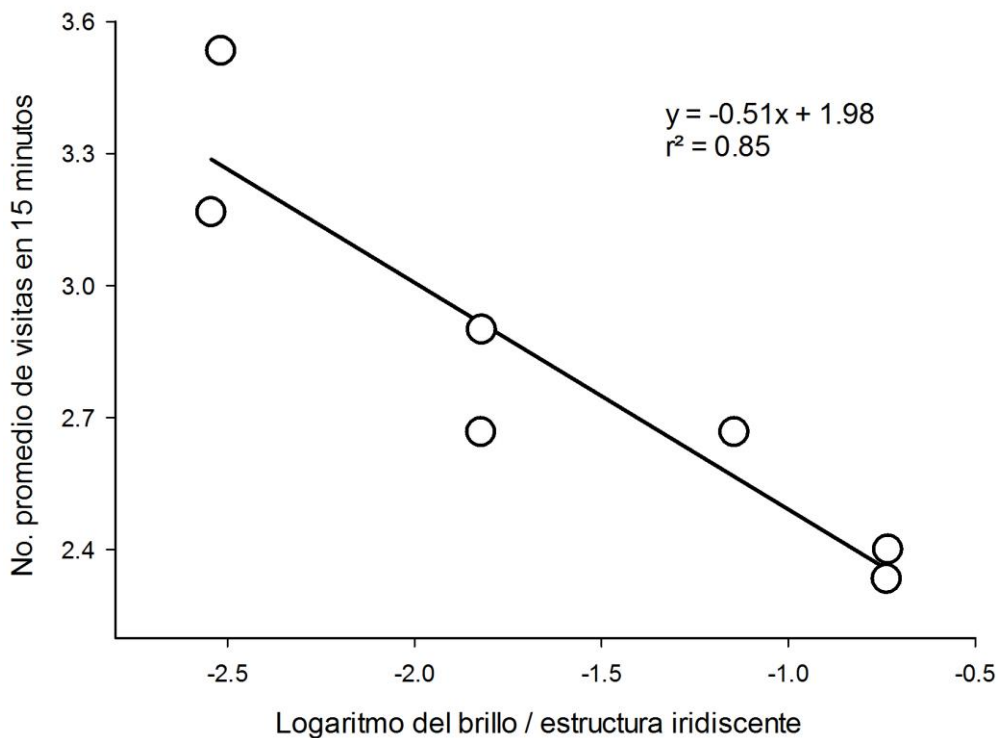
El ajuste del modelo a los datos indicó que éste es apropiado pues muestra un patrón definido de la relación entre las visitas de las hembras a los señuelos y el brillo de éstos (Figura 4.11). Observe que la disminución en la probabilidad de las visitas con el incremento del brillo es una relación estable a juzgar por lo estrecho de las bandas de los intervalos de confianza al 95%.



**Figura 4.11.** Relación entre la probabilidad de las visitas de las hembras a los señuelos y el brillo de las estructuras iridiscentes. La línea sólida representa a la pendiente que describe la relación entre la probabilidad de las visitas y el brillo de las estructuras iridiscentes que predice el ajuste del modelo. Las líneas punteadas representan a los límites, inferior y superior, del intervalo de confianza al 95%.

#### 4.5.2. Relación entre las visitas a los señuelos y su brillo

Confirmé que el modelo ajustado fuera un modelo apropiado (Anexo, Figura A1). Puesto que había una relación definida entre la probabilidad de las visitas y el brillo de las estructuras iridiscentes, usé los promedios de la frecuencia de las visitas para hacer la relación más obvia. Apliqué una regresión lineal y encontré que cuanto mayor era la intensidad del brillo de las estructuras iridiscentes el número de las visitas disminuía más ( $F_{1,5} = 29.93$ ,  $P = 0.002$ ; Figura 4.12). Observe que el ajuste del modelo lineal explica más del 75% de la varianza.



**Figura 4.12.** Relación entre el número promedio de las visitas de las hembras a los señuelos y el logaritmo del brillo de las estructuras iridiscentes. Cada círculo representa al promedio del número de visitas que realizaron 30 hembras a cada uno de los siete señuelos en una prueba de 15 minutos.

#### 4.6. Latencias de las respuestas de las hembras a un estímulo distractor

##### 4.6.1. Selección del modelo mínimo adecuado para las latencias de la respuesta de la hembra a un estímulo distractor

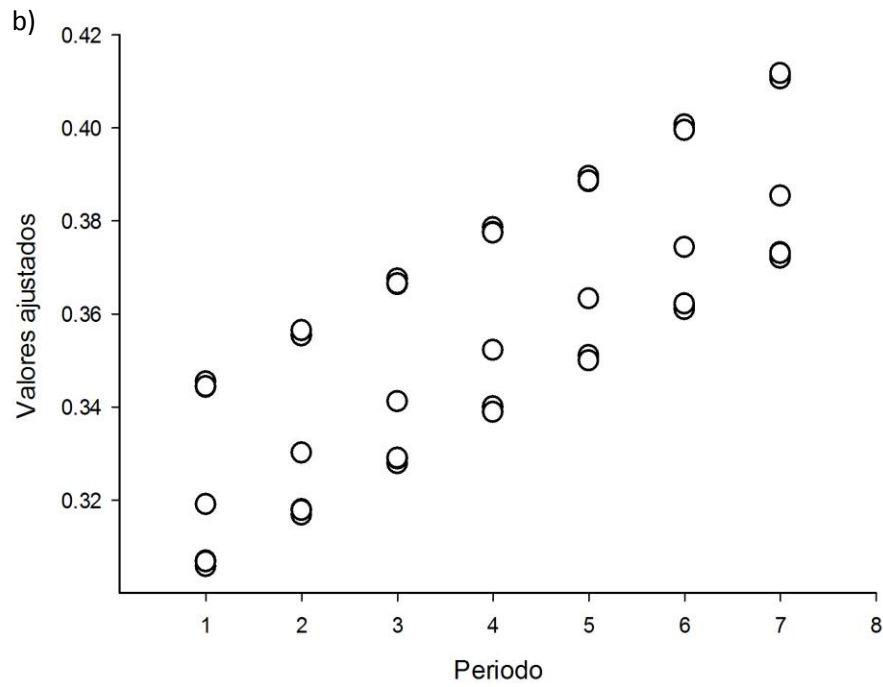
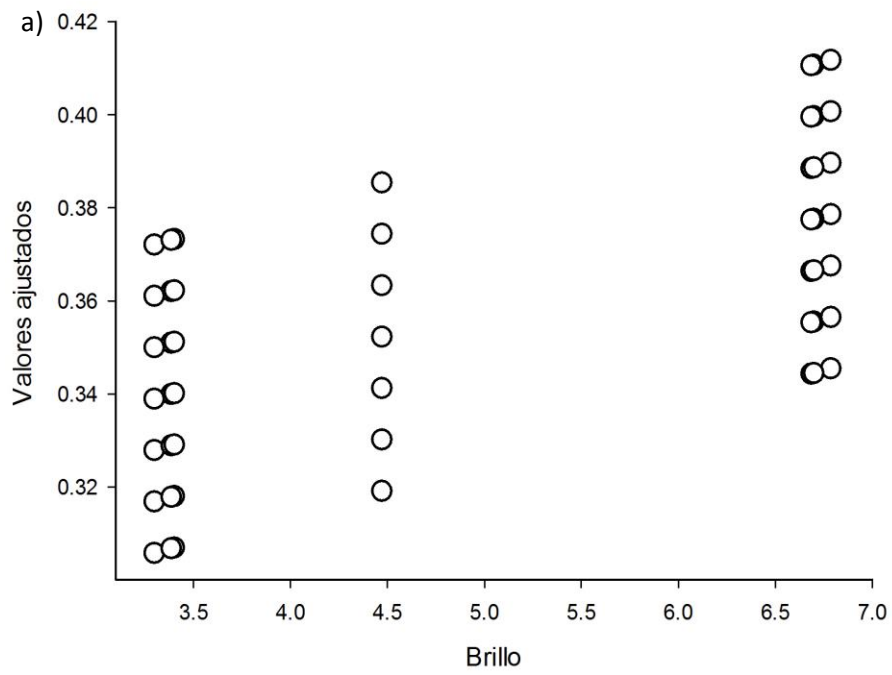
Transformé los datos de las proporciones de las latencias de respuesta a su raíz cuadrada y comprobé la normalidad de la distribución de dichos datos con una prueba Shapiro-Wilk ( $W = 0.99$ ,  $P = 0.76$ ). Luego apliqué un LMM y por el procedimiento de simplificación removí las variables tipo de agua, longitud estándar (i.e. tamaño corporal del pez) y carga, pues no tuvieron ninguna contribución significativa a la varianza total de la respuesta (Anexo, Tabla A 2). El modelo mínimo adecuado incluyó al brillo y periodo como variables explicativas (Tabla 4.6). La figura 4.13 muestra que el modelo predice bien una relación definida entre la variable respuesta y las variables explicativas.

**Tabla 4.6.** Resumen del modelo lineal mixto (LMM) mínimo adecuado ajustado a la latencia de la respuesta de las hembras al estímulo distractor

Efectos aleatorios	Varianza
Bloque (día)	4.2
Hembra	1.31
residual	0.12

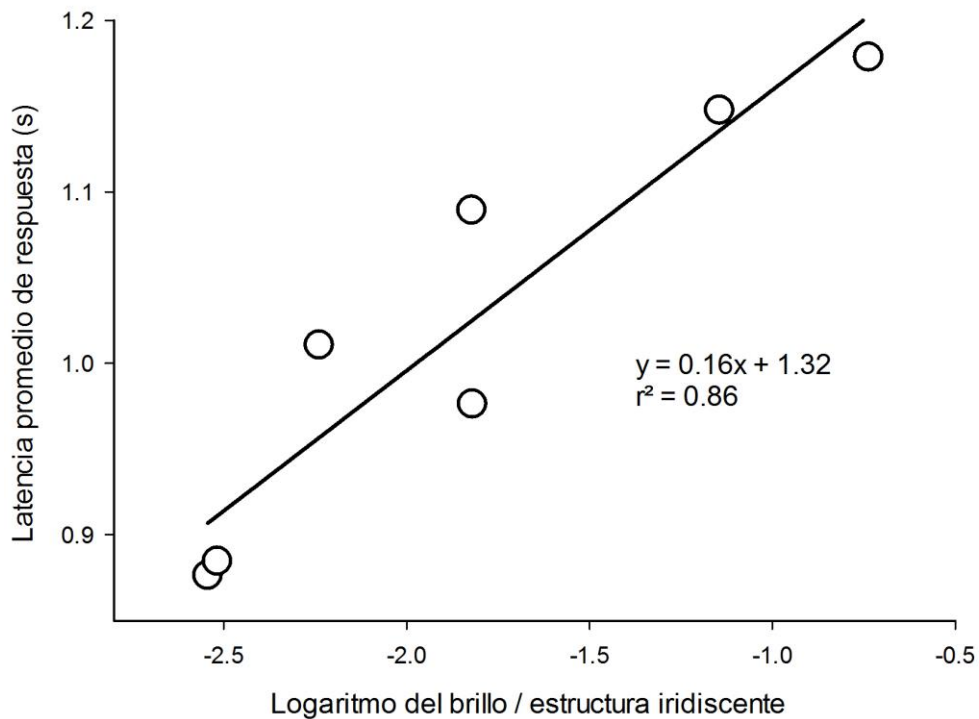
Efectos fijos	Coefficiente	Error estándar	g.l.	Valor $t$	Valor $P$
Periodo	0.01	0.004	166	2.59	0.010
Brillo	0.01	0.005	166	2.09	0.037



**Figura 4.13.** Relación entre los valores que predice el modelo ajustado a los datos de: a) el brillo de las estructuras iridiscentes y b) el periodo de la presentación del estímulo distractor. Periodo se refiere a la secuencia de la presentación del estímulo distractor.

#### 4.6.2. Relación entre la latencia de la respuesta al estímulo distractor y el brillo de las estructuras iridiscentes

Una vez que confirmé que el modelo era el apropiado (Anexo, Figura A2) y como éste predecía una relación definida entre la respuesta y el brillo de las estructuras iridiscentes, ajusté un modelo de regresión lineal a los promedios de las latencias de la respuesta (Figura 4.14). Encontré que cuanto mayor era el brillo de las estructuras iridiscentes, más tiempo tomaba a la hembra responder a la presencia del estímulo distractor ( $F_{1,5} = 31.85$ ,  $P = 0.002$ ). Observe que el modelo explica aproximadamente el 90% de la varianza total.



**Figura 4.14.** Relación entre el promedio de la latencia de la respuesta de las hembras y la intensidad del brillo de las estructuras iridiscentes. Los círculos representan el promedio del tiempo que tomó a cada una de las 28 hembras responder a la presentación del estímulo distractor.

## 5. DISCUSIÓN

Este estudio tuvo como objetivo determinar de qué manera la variación del color en las escamas iridiscentes de los machos de *Xenotoca variata* afecta la preferencia de las hembras por éstos. Puse a prueba predicciones de la hipótesis del embelesamiento que propone que el macho usa la variedad de colores en las escamas iridiscentes para capturar la atención de la hembra. Si esto fuera cierto, entonces cuanto mayor fuera el número de colores de las escamas iridiscentes en un macho, más tiempo pasaría una hembra cerca de él. Además si un estímulo distractor se presentara a una hembra mientras ésta estuviese con un macho, entonces la hembra tardaría más tiempo en responder al estímulo distractor cuantos más colores tuviera el macho. Los hallazgos de este estudio proporcionaron evidencia para apoyar la hipótesis del embelesamiento, lo que ofrece un entendimiento más profundo sobre la función de las escamas iridiscentes en los machos de *X. variata*. Además los mismos hallazgos permiten anticipar los mecanismos neurofisiológicos que participan en el procesamiento de la información del color en esta especie.

Los resultados que obtuve indican que hay una relación entre la cantidad de brillo que reflejan las estructuras iridiscentes y el comportamiento de las hembras. El uso de colores estructurales en los ornamentos que los individuos de un sexo usan para atraer parejas de apareamiento del otro sexo ha sido estudiado en diversos animales. Al evaluar la función que los caracteres morfológicos y de comportamiento tienen en los procesos de comunicación es importante considerar de qué manera los factores del medio podrían

intervenir y afectar la intensidad y el desarrollo de tales caracteres (Endler 1992). Varios estudios han mostrado que los patrones de coloración de una especie o población normalmente están correlacionados con la composición espectral de luz en su hábitat local (Reimchen 1989; Seehausen y cols. 1997; Morrongiello y cols. 2010). La iluminación que usé para los experimentos tiene un rango espectral parecido a la luz natural (320 - 700 nm). Los colores de las estructuras iridiscentes que utilicé cubrieron el rango espectral de 320 - 700 nm, y por lo tanto las hembras experimentales estuvieron expuestas al tipo de colores que los machos exhiben de manera natural. Esta iluminación hizo posible que las hembras experimentales pudieran percibir los colores de las estructuras iridiscentes como los habrían percibido en su hábitat natural. A diferencia de la iluminación natural, la que usé no varió entre ensayos experimentales. Por esta razón puede concluirse que los resultados obtenidos no fueron afectados por variaciones en la iluminación.

Una condición física que puede modificar la composición espectral de la luz y la percepción visual en los peces es la turbidez del agua (Lythgoe 1979; Endler 1990). Sin embargo los análisis estadísticos de los datos del estudio que hice indican que las pautas de comportamiento que conté no fueron afectadas por el tipo de agua. Este resultado fue inesperado porque la población de peces que usé (i.e. laguna de Yuriria) vive en agua turbia (Moyaho y cols. 2004) y por lo tanto esperaba que las pautas de comportamiento que evalué en las hembras variaran en función del tipo de agua que usé en los experimentos. Posiblemente no pude ver su efecto en el comportamiento de las hembras porque la condición de turbidez del agua disminuyó con el tiempo de la prueba (Figura

4.5). Elegí el grado de turbidez del agua que usé por razones prácticas. Un grado de turbidez del agua mayor habría hecho muy difícil observar las pautas de comportamiento de los peces. Aun así, el grado de turbidez del agua que usé redujo la visibilidad casi a la mitad a una distancia de 10 cm. Además del tipo de agua, el tamaño corporal de la hembra, que se correlaciona con la edad, tampoco afectó las pautas de comportamiento. Esto sugiere que la respuesta de las hembras es invariable pese a los cambios del medio interno (cambios debidos a la madurez) y del medio externo (e.g. turbidez del agua).

Se ha propuesto que las señales deben ser plásticas para que sean eficientes, es decir deberían seguir siendo eficientes ante condiciones variables del medio (Ord y cols. 2010; Kelley y cols. 2012). Esto explicaría porqué a pesar de que entre ensayos haya habido diferencias estadísticamente significativas en las condiciones del agua (i.e. temperatura), la respuesta de las hembras a los colores iridiscentes en los señuelos no haya cambiado. Esto también es consistente parcialmente con el hecho de que ni el número de escamas iridiscentes que muestran los machos ni la intensidad de la preferencia de las hembras por éstos varía en función de la turbidez del agua (Moyaho y cols. 2004).

Hay estudios que han tratado de relacionar la preferencia espontánea por los colores con sus características intrínsecas (i.e. brillo, saturación, tono). Por ejemplo, los estudios en niños realizados por Teller y cols. (2004) intentaron relacionar la preferencia por los colores con su brillo y Zemach y cols. (2006) buscaron una relación con la saturación. Sin embargo las mediciones que ellos realizaron del brillo y la saturación

fueron subjetivas. Un ejemplo de mediciones similares a las que yo hice es el trabajo publicado por Kemp y cols. (2014) quienes encontraron que las hembras de la mariposa *Hypolimnas bolina* no reconocen decrementos en el brillo iridiscente de las alas de los machos, y sólo muestran un cambio de respuesta cuando el brillo ha sido eliminado por completo. A diferencia de los resultados reportados por Kemp y cols. (2014), en el trabajo de la tesis que reporto encontré una relación entre los cambios graduales en el brillo de las estructuras iridiscentes y la respuesta de las hembras por éstas: las hembras se acercaron menos a los señuelos cuanto más brillo mostraban éstos, y ante un estímulo distractor las hembras tardaron más tiempo en detectarlo cuanto más brillante era el señuelo que observaban (Figuras 4.12 y 4.14). El hecho de que el brillo haya resultado un predictor confiable de la respuesta de las hembras resulta congruente con la naturaleza de las escamas iridiscentes de los machos, pues se sabe que los colores iridiscentes generan brillo y saturación mayores que los colores pigmentarios (Vukusic y cols. 1999; Osorio y Ham 2002). Así mismo, los colores más brillantes y saturados normalmente corresponden a señales visuales más conspicuas, esto es, son contrastantes con otros elementos del patrón de coloración y/o con el fondo (Endler 1990, 2012). Al respecto se ha encontrado que el uso de las señales conspicuas aumenta su efectividad mejorando su detectabilidad, discriminabilidad y memorabilidad (Gittleman y Harvey 1980; Rowe y cols. 2004; Skelhorn y Rowe 2006; Rowe 2013). Por ejemplo, varios animales ponzoñosos presentan coloraciones muy vistosas como la mariposa monarca, que los depredadores pueden ver (detectabilidad), identificar (discriminabilidad) y aprender el peligro que conlleva depredarlos (memorabilidad). El hecho de que en este estudio las hembras

visitaran relativamente poco a los señuelos más brillantes, podría contraponerse con la idea de que una señal brillante mejora su detectabilidad. Una explicación a este resultado es que el brillo también mejora la discriminabilidad o la memorabilidad de la señal—desde la perspectiva de los depredadores— y las hembras probablemente evitan a los peces con escamas iridiscentes más brillantes porque éstas también pueden atraer a los depredadores (Moyaho y cols. 2004; Manjarres y cols. 2015). Las hembras evitarían acercarse a los machos con escamas iridiscentes debido al mayor riesgo de depredación que representarían. Si esto fuera así, implicaría que los machos están presionados a “inventar” caracteres morfológicos o de comportamiento para retener la atención de las hembras. Y esto es lo que precisamente parece ocurrir en *X. variata*.

En el experimento de la presentación del estímulo distractor, el periodo resultó ser un predictor de la latencia de respuesta a su presencia. Este resultado, es decir —que las hembras tardaron más tiempo en responder al estímulo distractor cuanto más avanzaba el tiempo del ensayo- puede explicarse por un proceso de habituación—cuando un animal deja de responder a un estímulo que ocurre con la misma frecuencia e intensidad. Como el estímulo distractor duraba aproximadamente el mismo tiempo y se presentaba con la misma intensidad, los peces dejaron de responder con la prontitud con la que lo hicieron a las primeras presentaciones del estímulo distractor.

¿Qué función tiene el color de las escamas iridiscentes en los machos de *X. variata*? En esta especie, el macho requiere de la cooperación de la hembra para copular de tal manera que éste tiene que desarrollar estratagemas para lograr la cooperación de

la hembra. En el experimento de la presentación del estímulo distractor encontré que la cantidad de brillo de las estructuras iridiscentes en los señuelos se asocia positivamente con la latencia de la respuesta de las hembras. En condiciones naturales esta asociación representaría una ventaja para los machos con escamas iridiscentes más brillantes, pues les permitiría tener tiempo suficiente para copular. Y de acuerdo con los resultados de este trabajo, un macho no podría lograr la intensidad de brillo más grande con escamas de un solo tipo de color, las intensidades de brillo más grandes se logran combinando más tipos de color (Tabla 4.3).

Otra característica de los colores iridiscentes, además de generar más brillo y saturación, es que los cambios en la geometría de la observación (i.e. el ángulo desde el que se observa) pueden alterar su apariencia. Como consecuencia la tonalidad o la intensidad del color puede variar, incluso haciéndola desaparecer por completo y dejando únicamente visible el color producido por los pigmentos subyacentes (Vukusic y cols. 2001; Osorio y Ham 2002). Esta característica haría posible que un macho de *X. variata* presentara sus escamas iridiscentes como muy brillantes o poco brillantes. Dicha posibilidad podría ofrecer una explicación de lo que ocurre durante el cortejo en *X. variata*, y sería congruente con los resultados de este trabajo. Esta característica de la apariencia cambiante de las escamas iridiscentes también puede ayudar a reducir el costo de portar un carácter conspicuo, disminuyendo el brillo aparente de las escamas puede disminuir la probabilidad de llamar la atención de los depredadores. El uso controlado de colores iridiscentes para reflejarlos sólo a los observadores deseados se ha propuesto en

otros trabajos (Osorio y Ham 2002; Doucet y Meadows 2009). Las observaciones del cortejo en *X. variata* sugiere que los machos se mueven de una manera particular para manipular la geometría de observación (datos sin publicar). Si así fuera, esas observaciones apoyarían la explicación de que el macho de *X. variata* dirige los reflejos de sus escamas iridiscentes como parte del cortejo. El movimiento que acompaña al cortejo en *X. variata* también es congruente con el uso y la eficacia de las señales multimodales (Rowe 1999, 2013), cuyos componentes tienen funciones complementarias. En el caso de *X. variata* el movimiento del cortejo atraería a la hembra y la presentación de las escamas iridiscentes la distraería haciendo más eficiente el cortejo. Infortunadamente, en mi estudio no pude incluir movimiento a los señuelos, por lo que sugiero incluirlo para futuros estudios.

La causa del incremento en la latencia de la respuesta cuanto más intenso fue el brillo puede explicarse por lo que se conoce como sesgo sensorial, es decir que los machos, en este caso, hayan desarrollado caracteres especialmente sintonizados con el sistema visual de las hembras aprovechando que éstas tienen una predisposición a responder a estímulos visuales específicos (Christy 1995). Para analizar el efecto de un sesgo sensorial en la efectividad de la señal (detectabilidad, discriminabilidad o memorabilidad) se consideran las características sensitivas del sistema visual del observador, particularmente los mecanismos neurológicos como la sensibilidad espectral de los fotorreceptores (Endler 1992; Teller 2004; Higham y cols. 2010). Este tipo de estudios ha encontrado que la efectividad de las señales visuales se sustenta en las

capacidades particulares de los sistemas sensoriales. En este trabajo apliqué un ajuste a la medición del brillo de las estructuras iridiscentes con base en la información disponible del sistema visual de los vertebrados, y la manera en la que se percibe el brillo de los colores (Kolb 2003; Kandel 2006; Carlson 2012). Este ajuste surge de la propuesta de la existencia de un circuito neurológico en la retina que establece mecanismos de oponencia cromáticos para explicar la eficiencia en el procesamiento del color (Buchsbaum y Gottschalk 1983). A pesar de que los mecanismos no se han descrito por completo, la propuesta se ha usado efectivamente para construir modelos retinales y la evidencia encontrada en otros trabajos (incluidos éste) la respaldan (Rea y cols. 2005; Figueiro y cols. 2008). No obstante Miller y Bee (2012) advierten que la consideración de los mecanismos cognitivos del observador para procesar una señal (Gilford y Dawkins 1991) no debe limitarse a los mecanismos de los sistemas sensoriales, sino también al reconocimiento, clasificación e interpretación de la información. Con base en esta advertencia otra explicación de lo que sucede en el cortejo de *X. variata* es tomar en cuenta el uso probable de una “trampa sensorial” (Christy 1995). Esto se refiere a que los machos aprovecharían respuestas de las hembras a ciertos tipos de estímulos relevantes (e.g. objetos brillantes) presentes con anterioridad a la aparición de la señal misma (i.e. las escamas iridiscentes). El macho podría imitar algunas características de dichos estímulos y obtiene respuestas de las hembras que lo favorecerían. En *X. variata* el uso de las escamas iridiscentes y probablemente el movimiento de los machos podría generar efectos de luces que aparentaran algún objeto de interés a la hembra (e.g. refugio, fruto, etc.). Futuras investigaciones podrían enfocarse en analizar esta posibilidad.

En conclusión los hallazgos de este estudio permiten contar con una explicación del efecto de la variación de colores—medida con el brillo—de las escamas iridiscentes de los machos de *X. variata* en el comportamiento de las hembras. El macho captura la atención de la hembra durante el cortejo mediante el brillo de las escamas iridiscentes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alberts, B. (2008). *Molecular biology of the cell*. Garland Science.

Ayala, F. J. y J. C. (2009). *In the light of evolution, volume III: Two centuries of Darwin*. National Academies Press.

Bolker, B. M., Brooks, M. E., Clark, C. J., Geanage, S.W., Poulsen, J. R., Stevens, M. H. H., White, J. S. (2008). Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trend. Ecol. Evolut.* 24 (3). 127-135.

Bowmaker, J. K. (1995). The visual pigments of fish. *Progr. Retinal eye Res.* 15. 1-31.

Bradbury, J. W. y Vehrencamp, S. L. (2011). *Principles of Animal Communication*. Sinauer Associates Inc.

Buchsbaum, G. y Gottschalk, A. (1983). Trichromacy, opponent colours coding and optimum color information transmission in the retina. *Proc. Roy. Soc. London. Ser. B.* 220 (1218). 89-113.

Carlson, N. R. (2012). *Physiology of Behavior, 11<sup>th</sup> ed.* Pearson.

Chisty, R. H. (1995). Mimicry, mate choice, and the sensory trap hypothesis. *Amer. Naturalist.* 146 (2). 171-181.

Crawley, M. (2002). *Statistical computing: An introduction to data analysis using S-Plus*. Wiley.

- Darwin, C. (1871). *The descent of man and selection in relation to sex*. John Murray.
- Doucet, S. M. y Meadows, M. G. (2009). Iridescence: a functional perspective. *J. R. Soc. Interface*. 6. 115-132
- Endler J. A. (1978). A predator's view of animal color patterns. *Evol. Biol.* 319-364.
- Endler, J. A. (1990). On the measurement and classification of colour in studies of animal colour patterns. *Biol. J. Linn. Soc.* 41 (4). 315-352.
- Endler, J. A. (1992). Signals, signal conditions, and the direction of evolution. *Amer. Naturalist*. 125-153.
- Endler, J. A. (2012). A framework for analysing colour pattern geometry: adjacent colours. *Biol. J. Linn. Soc.* 107 (2). 233-253.
- Figueiro, M. G., Bierman, A., Rea, M. S. (2008). Retinal mechanisms determine the subadditive response to polychromatic light by the human circadian system. *Neurosci. Lett.* 438. 242-245.
- Fitzsimons, J.M. (1972). A revision of two genera of goodeid Fishes (Cyprinodontiformes, Osteichthyes) from the Mexican plateau. *Copeia*. 728-756.
- Gittleman, J. L. y Harve, P. H. (1980). Why are distasteful prey not cryptic? *Nature* 286. 149 – 150.
- Guilford, T. y Dawkins, M. S. (1991). Receiver psychology and the evolution of animal Signals. *Anim. Behav.* 42. 1-14.

Guilford, T. y Dawkins, M. S. (1993). Receiver psychology and the design of animal signals.

Trends Neurosci. 16. 430-436.

Guyton, A.C. y Hall, J.E. (2001). *Tratado de fisiología médica*. McGraw-Hill.

Hill, G. E. y McGraw, K. J. (2006). *Bird coloration Vol I. Mechanisms and Measurements*.

Harvard Collage.

Kandel, E. (2006). Principles of Neural Science. 4<sup>th</sup> Ed. McGraw Hill.

Kelley, J. L., Phillips, B., Cummins, G. H., Shand, J. (2012). Changes in the visual

environment affect colour signal brightness and shoaling behaviour in a freshwater

fish, *Anim. Behav.* 83 (3). 783-791.

Kemp, D. J., Jones, D., Macedonia, J. M., Krockenberger, A. K. (2014). Female mating

preference and male signal variation in iridescent *Hypolimnna* butterflies. *Anim.*

*Behav.* 87. 221-229.

Kolb, H. (2003). How the retina works. *Am. Sci.* 91. 28-35.

Kotrschal, K., Van Staaden, M. J., Huber, R. (1998). Fish Brains: Evolution and

Environmental Relationships. *Rev. Fish Biol. Fisheries.* 8 (4). 373-408.

Leskov, I. B., Klenchin, V. A., Handy, J. W., Whitlock, G. G., Govardovskii, V. I., Bownds, M.

D., Lamb, T. D., Pugh, E. N. Jr., and Arshavsky, V. Y. (2000). The gain of rod

phototransduction: reconciliation of biochemical and electrophysiological

measurements. *Neuron.* 27. 525-537.

Lythgoe, J. N. (1979). *The Ecology of Vision*, Oxford science publications

Lythgoe, J.N., Shand, J. y Foster, R.G. (1984). Visual pigment in fish iridocytes. *Nature*. 308. 83-84.

Lythgoe, J. N. y Partridge, J. C. (1989). Visual pigments and the acquisition of visual information. *J. Exp. Biol.* 146. 1-20.

Manjarrez, J., Rivas-González, E., Moyaho, A. (2015). Visual detection of speckles in fish *Xenotoca variata*: the function of water turbidity. *Aceptado para publicación en Plos One*.

Maynard-Smith, J. y Harper, D. (2003). *Animal Signals*. Oxford University Press.

Meyer, A. y Lydeard. C. (1993). The evolution of the copulatory organs, internal fertilization, placentae and viviparity in killifishes (Cyprinodontiformes) inferred from a DNA phylogeny of the tyrosine kinase gene *X-src*, *Proc. Roy. Soc. London. Ser. B.* 254. 153-162.

Miller, C. R. y Bee, M. A. (2012). Receiver psychology turns 20: is it time for a broader approach? *Anim. Behav.* 83 (2). 331-343.

Miller, R. R., Minckley, W. L., Norris, S. M. (2005). *Freshwater fishes of México*. The University of Chicago press.

- Morrongiello, J. R., Bond, N. R., Crook, D. A., Wong, B. B. M. (2010) Nuptial coloration varies with ambient light environment in a freshwater fish. *J. Evol. Biol.* 23. 2718–2725.
- Moyaho, A., Macías, C. y Manjarrez, J. (2004). Predation risk is associated with the geographic variation of a sexually selected trait in a viviparous fish (*Xenotoca variata*). *J. Zool.* 262. 265-270.
- Moyaho, A., Macías, C. y Ávila-Luna, E. (2004). Mate choice and visibility in the expression of a sexually dimorphic trait in a goodeid fish (*Xenotoca variata*). *Can. J. Zool.* 82. 1917-1922.
- Mueller, K. P., Neuhauss, S. C. F. (2012). Light perception: More than meets the eye. *Curr. Biol.* 22 (21), 912-914.
- Nagaishi, H. y Oshima, N. (1992). Ultrastructure of the motile iridophores of the neon tetra. *Zool. Sci.* 9. 65–75.
- Netter, F. H. (2010). *Atlas of human anatomy*. 5<sup>th</sup> ed. Saunders.
- Ord, T. J., Stamps, J. A., Losos, J. B. (2010). Adaptation and plasticity of animal communication in fluctuating environments. *Evolution.* 64. 3134-3148.
- Osorio, D. y Ham, A. D. (2002). Spectral reflectance and directional properties of structural coloration in bird plumage. *J. Exp. Biol.* 205, 2017- 2027.
- Purves, D. (2004). *Neuroscience*. 3rd Ed. Sinauer Associates Inc.

- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Rea, M. S., Figueiro, M. G., Bullough, J. D., Bierman, A. (2005). A model of phototransduction by the human circadian system. *Brain Res. Rev.* 50. 21-228.
- Reimchen, T.E (1989). Loss of nuptial colour in threespine sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*). *Evolution* 43. 450-460.
- Rowe, C. (1999). Receiver psychology and the evolution of multicomponent signals. *Anim. Behav.* 58. 921-931.
- Rowe, C., Lindström, L., Lyytinen, A. (2004). The importance of pattern similarity between Müllerian mimics in predator avoidance learning. *Proc. Roy. Soc. London. Ser. B.* 271. 407-413.
- Rowe, C. (2013). Receiver Psychology: a receiver's Perspective. *Anim. Behav.* 85. 517-523.
- Rowland, W.J. (1999). Studying visual cues in fish behavior: a review of ethological techniques. *Environ. Biol. Fish.* 56. 285-305.
- Sailer, O. (2005). Crossdes. A package for design and randomization in crossover studies. *R news. The newsletter of the R project.* 5 (2). 24-26.
- Seehausen, O., van Alphen, J. J. M., Witte F. (1997). Cichlid fish diversity threatened by eutrophication that curbs sexual selection. *Science* 277. 1808–1811.

- Starr, C. (2013). *Biology: The unity and diversity of life*. Cengage Learning.
- Skelhorn, J. y Rowe, C. (2006). Predator avoidance learning of prey with secreted or stored defences and the evolution of insect defences. *Anim. Behav.* 72. 827–834.
- Teller, D. Y., Civan, A., Bronson-Castain, K. (2004). Infants' spontaneous color preferences are not due to adult-like brightness variations. *Visual Neurosci.* 21 (3). 397-401.
- Uribe M. C. and Grier H. J. (2005). *Viviparous Fishes*. New Life Publications.
- Vukusic, P., Sambles, J.R., Lawrence, C.R. & Wootton, R.J. (1999) Quantified interference and diffraction in single Morpho butterfly scales. *Proc. Roy. Soc. London. Ser. B.* 266, 1403–1411.
- Vukusic, P., Sambles, J.R., Lawrence, C.R., Wootton, R.J. (2001). Structural colour: now you see it – now you don't. *Nature* 410. 36.
- Welch, R. B., DuttonHurt, L. D., Warren, D. H. (1986). Contributions of audition and vision to temporal rate perception. *Percept. Psychophys.* 39. 294–300.
- Zahavi, A. (1975). Mate selection. A selection for a handicap. *J. Theor. Biol.* 53, 205-214.
- Zemach, I., Chang, S., Teller, D. Y. (2006). Infant color vision: Prediction of infant's spontaneous color preferences. *Vision Res.* 47 (10). 1368-1381.

## ANEXO

### Simplificación del modelo

**Tabla A1.** Resumen de la simplificación de los modelos lineales generalizados (GLMs) ajustados a los datos de la duración y la frecuencia de las visitas

Etapa	Simplificación	g.l.	Cambio en la devianza (F)	Valor P
<b>a) Duración</b>				
Modelo máximo	agua*be <sup>1</sup> +tc			
1	agua+be+tc	206	0.56	0.455
2	agua+be	207	0.00	0.964
3	Be	208	0.00	0.978
4	Intercepto	209	2.5	0.115
<b>b) Frecuencia</b>				
Modelo máximo	agua*be+tc			
1	agua+be+tc	206	0.04	0.840
2	agua+be	207	0.00	1
3	be	208	0.00	1
4	intercepto	209	9.29	0.002

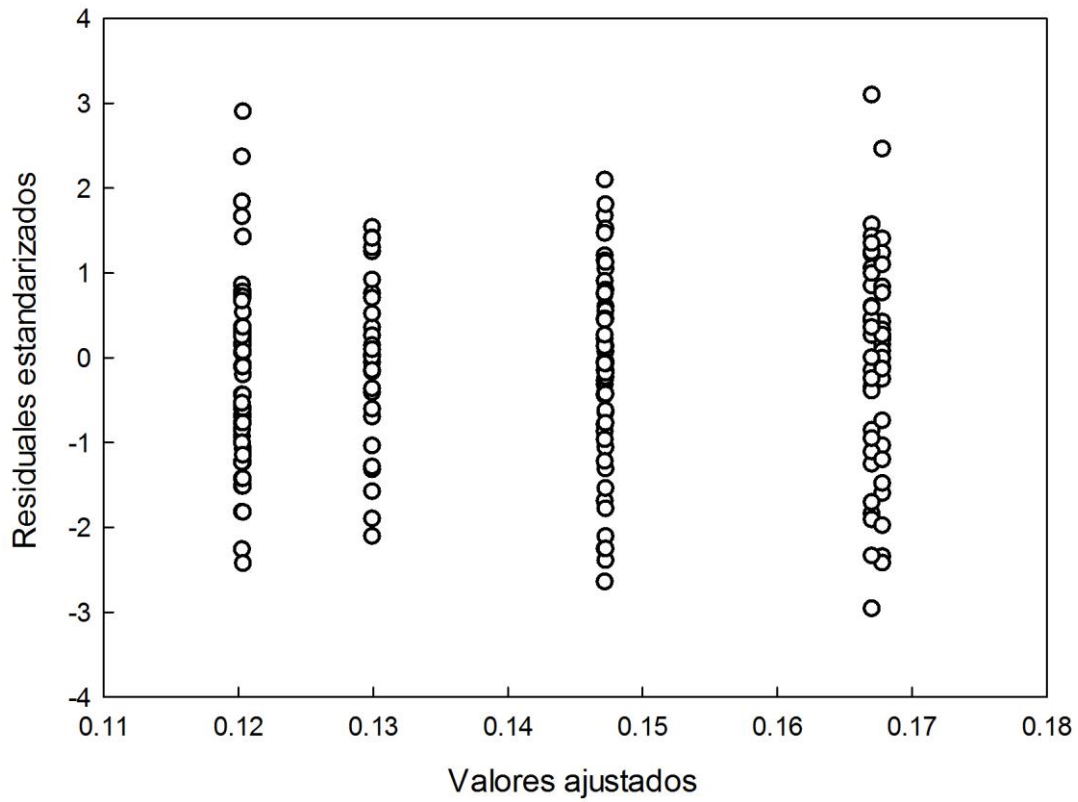
<sup>1</sup>be, brillo por escama; tc, tamaño corporal del pez. El símbolo mas (+) y el asterisco (\*) representan respectivamente la inclusión de la variable explicativa y la interacción entre las variables en el modelo.

**Tabla A2.** Simplificación de los modelos lineales mixtos (LMM) ajustados a los datos de la latencia de la respuesta al estímulo distractor

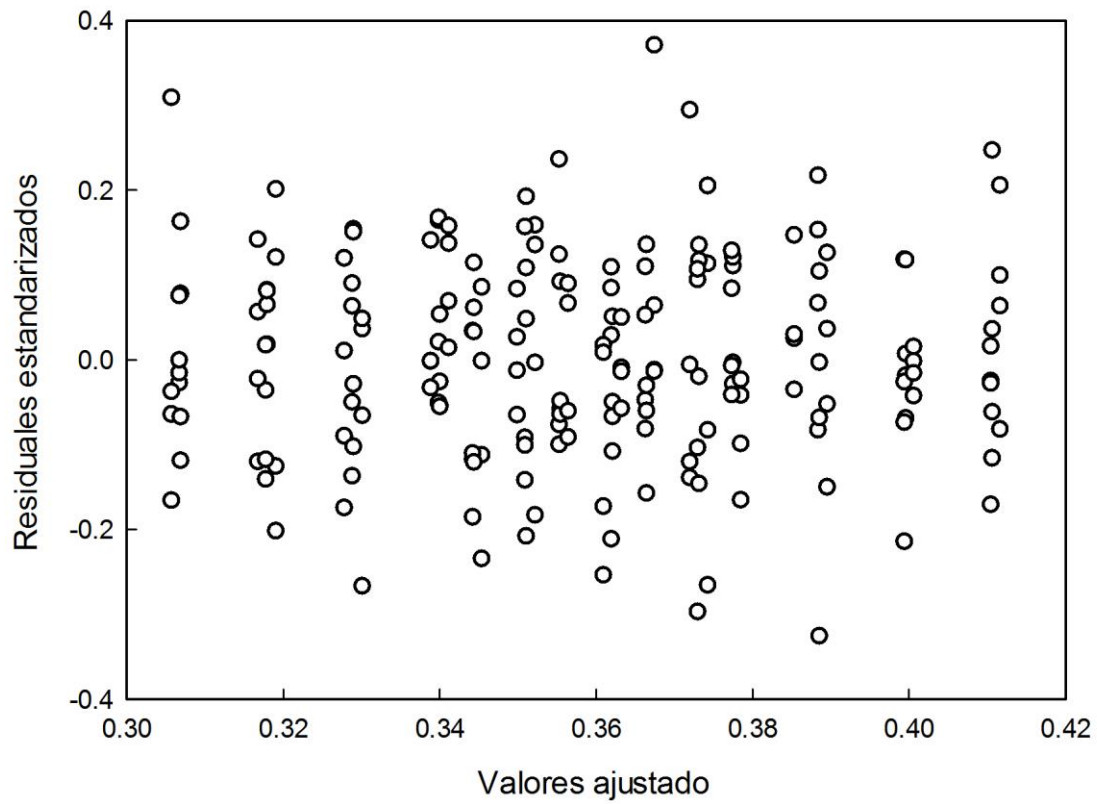
<b>Etapa</b>	<b>Simplificación</b>	<b>g.l.</b>	<b>logLik<sup>1</sup></b>	<b>Cambio en la devianza (<math>\chi^2</math>)</b>	<b>Valor P</b>
Modelo máximo	periodo+cga <sup>2</sup> +tc+agua*brillo	10	140.9856		
1	periodo+cga+tc+agua+brillo	9	140.6979	0.575443	0.4481
2	periodo+cga+tc+brillo	8	140.6946	0.006561	0.9354
3	periodo+cga+brillo	7	140.5362	0.316802	0.5735
4	periodo+brillo	6	140.0552	0.961989	0.3267
5	Periodo	5	137.8566	4.397195	0.0360

<sup>1</sup>loglik, tasa de máxima verosimilitud.

<sup>2</sup>cga, efecto de la carga; tc, tamaño corporal del pez. El símbolo mas (+) y el asterisco (\*) representan respectivamente la inclusión de la variable explicativa y la interacción entre las variables en el modelo.



**Figura A1.** Relación entre los residuales y los valores ajustados del modelo mínimo adecuado ajustado a la probabilidad de las visitas. De acuerdo con los especialistas (Crawley 2002.) cuando no hay ningún patrón en la relación entre las dos variables se puede asumir que el modelo es adecuado.



**Figura A2.** Relación entre los residuales y los valores ajustados del modelo mínimo adecuado ajustado a la latencia de la respuesta al estímulo distractor. Puesto que no hay ningún patrón en la relación entre las dos variables se puede asumir que el modelo es adecuado.