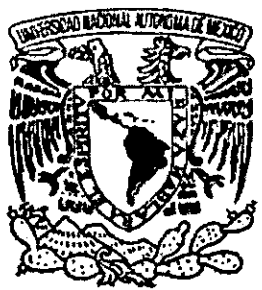


52



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"Sistemas Sensoriales y Agresividad en
el acocil *Procambarus clarkii*"

298312

T E S I S

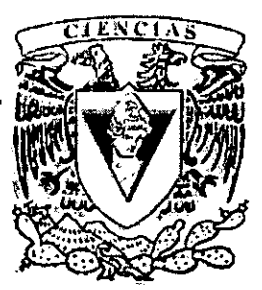
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIÓLOGO

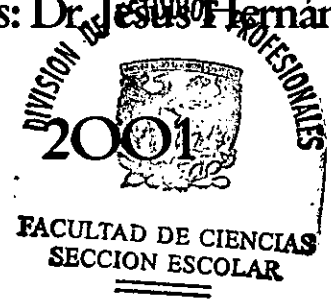
P R E S E N T A:

JESÚS GENARO DELGADO MORALES

Director de Tesis: Dr. Jesús Hernández Falcón



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM





Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

"Sistemas sensoriales y agresividad en el acocil Procambarus clarkii".

realizado por Delgado Morales Jesús Genaro

con número de cuenta 8922522-8 , pasante de la carrera de Biología.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario Dr. Jesús Hernández Falcón

Propietario Biol. Rita Virginia Arenas Rosas

Propietario Dr. Fidel Alberto Ramón Romero

Suplente Dr. Ramón Alvarado Alvarez

Suplente Dra. María Luisa Fanjul Peña

Consejo Departamental de Biología

FACULTAD DE CIENCIAS

Dra. Luisa A. Alba Lois

DEPARTAMENTO
DE BIOLOGÍA

Dedicatoria:

A mis padres y a mis hermanos,
por todo su apoyo y su comprensión
durante todos estos años.

A los buenos amigos, por los consejos y
porque siempre están cuando se les
necesita.

A la contingencia...

Agradecimientos:

- Al Doctor Fidel Ramón y al Doctor Jesús Hernández, gracias por todas las horas dedicadas a esta investigación, por su paciencia y por toda la ayuda para terminar con este trabajo.

- A la Bióloga Rita Arenas, al Dr. Ramón Alvarado y a la Dra. María Luisa Fanjul por sus comentarios y correcciones a este trabajo.

- A mis amigos y compañeros de la Facultad de Ciencias: María Borbolla, Marco Briones, Eréndira Avendaño, Alvaro Filio, Dalia Conde, Fernando Minauro, Hugo, Martín, Luis Alcántara, Baldo Altube, Paloma Newman, Ninel González, Emilio Galván, Xavier Mungarro, Agustina Durán, Fernando Peña, Sandra Quijas y Eduardo Rubio.

- A los profesores de la Facultad de Ciencias: Antonio Lazcano, Francisco Sour Tovar, Ariel Rojo, Paco Vergara, Rosa María Fonseca y Ramón Alvarado.

- A la banda de Circo Volador: Héctor Castillo (Mr. Ed), Pio, Tatiano, Animal Oscuro, Igor, Joaquín, Pilón, Eddie, Vanessa, Rolly, Toro, Delfin, Mario Bros., Melo, Angel, María Campana (Maribel), Zamna Alcalá y César Alanís.

- A mis amigos: Lorena Fortolís, Miguel Canseco, Eliel Soriano, Pablo Tenorio, Johana Gutiérrez, Vladimir Nava, Zandra Morales, Olga Esparza, Carlos y Alfredo Puga, Noé Correa, Juan Carlos y Gabriel Reyes, Ricardo Gutiérrez y Nayn Aguado,

- A Pilar Chiappa por su invaluable ayuda con la parte numérica de esta tesis.

PARA EL DESARROLLO DE ESTE TRABAJO CONTÉ CON EL APOYO ECONÓMICO DE FUNDACIÓN UNAM, MEDIANTE LA BECA DEL PROGRAMA PARA TESIS DE LICENCIATURA EN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN (PROBETEL), OTORGADA POR LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNAM.

Créditos:

- La microscopía electrónica de barrido fue realizada en el Instituto de Fisiología Celular por Jorge Sepúlveda.
- Los dibujos del comportamiento agonista de los acociles fueron elaborados por Miguel Canseco.
- Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Sistemas Sensoriales de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Medicina de la UNAM.

ÍNDICE

I. Introducción	1
a) Conducta agresiva y órdenes de dominancia	2
b) Organización del sistema nervioso de los crustáceos, en particular del acocil	7
c) Sistema visual del acocil	9
d) Quimiorreceptores olfatorios en el acocil	15
e) Papel de los neurotransmisores en la conducta agresiva	19
f) Planteamiento del problema	22
II. Hipótesis	23
III.- Métodos	
a) Selección del material biológico	24
b) Diseño experimental	25
c) Determinación del orden de dominancia	26
d) Obtención de controles	33
e) Manipulaciones experimentales	
i) Bloqueo del sistema visual	34
ii) Bloqueo del sistema olfatorio.....	35
IV. Resultados	
a) Controles	37
b) Bloqueo del sistema visual	43
c) Bloqueo del sistema olfatorio	50
V. Discusión	
a) Controles	58
b) Bloqueo del sistema visual	62
c) Bloqueo del sistema olfatorio	66
VI. Conclusiones	72
VII. Referencias	73

I. Introducción

La conducta agonista es un fenómeno complejo implicado en la supervivencia de los organismos y puede definirse como una actividad relacionada con la pelea, tanto en el caso de la agresión como de la conciliación y la retirada, donde se incluye también el enfrentamiento, la persecución y el combate físico (Wilson, 1980). Esta serie de patrones estereotipados de conducta comparten una función común: resolver los conflictos entre los conoespecíficos (Huber y Kravitz, 1995).

En el desarrollo de esta conducta el sistema nervioso hace uso de toda la información disponible. En el acocil, la participación de los sistemas sensoriales, principalmente visión, olfacción y tacto, permite al sistema nervioso central, la ubicación en el espacio del propio animal y de sus congéneres. El resultado del procesamiento de esta información lleva a la adopción de un estatus de dominancia o de sumisión del animal participante. El animal que es dominante tiene ventajas sobre sus congéneres en cuanto a disponibilidad de alimento, pareja y refugio, todo lo cual puede traducirse en una mayor adecuación.

El propósito de este trabajo fue el de correlacionar la entrada de ciertas señales sensoriales con la cantidad de interacciones agonistas, para obtener información sobre la participación de la visión y de la olfacción en la conducta agonista del acocil.

a) Conducta agresiva y órdenes de dominancia.

La conducta agresiva juega un papel fundamental en las interacciones entre dos o más organismos debido a su importancia en la competencia por los recursos, el control de los espacios y la obtención de pareja (Grier, 1984). La agresión es un concepto difícil de precisar debido a la complicación que existe para determinar qué tipos de conductas se pueden etiquetar como agresivas (Lorenz, 1963), pero en términos generales podemos definirla como una conducta instintiva que lesiona o que intenta dañar a otro individuo y que potencialmente puede traer como consecuencia alguna ventaja a nivel de adecuación (Wittenberger, 1981).

En el acocil y en general en muchos decápodos, las conductas agresivas son expresadas en un tipo de comportamiento estereotipado conocido como **agonista** (Salmon y Hyatt, 1983) en el que se distinguen las posturas o acciones de **enfrentamiento**, **ataque** y **retirada** entre dos o más individuos. Después de un enfrentamiento es posible identificar al individuo dominante así como a los individuos sumisos.

En los crustáceos la agresión es un comportamiento que, aunque complejo, puede ser cuantificado y en el que se han identificado sistemas neuronales y algunos neurotransmisores, como la serotonina y la octopamina, que juegan un papel importante en el desarrollo y expresión de esta conducta (Kravitz, 2000).

El nivel de agresión varía de una especie a otra, e incluso dentro de una misma especie pueden presentarse cambios relacionados con la

madurez de los organismos. La agresión desplegada por un animal puede abarcar todo el intervalo entre la agresión abierta y directa contra otro conespecífico, hasta el uso más sutil de puntos señaladores con sustancias químicas, no acompañados de desafíos o ataques (Wilson, 1980).

La agresión desplegada durante enfrentamientos agonistas puede ser real y letal, pero también puede presentarse con un cierto grado de ritualización, en donde es raro que se presenten daños físicos. Se pueden distinguir dos categorías dentro del comportamiento agonista pueden distinguirse: (1) el comportamiento agonista orientado a la aproximación entre los conespecíficos (**conducta de acercamiento**), donde se reúnen todos los patrones de comportamiento agonista que dirigen a un animal hacia un oponente; y (2), el comportamiento agonista orientado a evitar cualquier contacto con sus conespecíficos (**conducta de evasión**), donde se engloban todos los patrones de conducta que dirigen a un organismo lejos de su oponente (Huber y Kravitz, 1995)

Una de las características más importantes de las **jerarquías de dominancia** (también conocido como **orden de dominancia** o como **jerarquía social**) es que un grupo de organismos coexiste y comparte la misma área física, pero aquí alguno de los organismos del grupo asume la posición y el carácter de dominante con respecto a los demás que se tornan sumisos (Manning, 1979).

La formación de una jerarquía ocurre durante los encuentros iniciales por medio de una gran cantidad de interacciones agonistas; encuentros de gran duración e intensidad se presentan en esta etapa

inicial. Una vez establecida la jerarquía de dominancia el nivel de agresión disminuye sostenidamente a lo largo del tiempo, aunque sigue existiendo un mínimo de intercambios hostiles no obstante que la relación ya está determinada (Goessmann y cols., 2000).

Las relaciones de **dominancia-sumisión** no son atributos de los individuos y pueden cambiar no sólo con la edad sino también dependiendo del contexto social en el que se encuentren los organismos. Puesto que la dominancia no es una característica individual sino una consecuencia de ciertos atributos, que posee un animal pero no otros miembros de la población, entonces estos atributos y no la dominancia son los que pueden ser seleccionados en una población (Bernstein, 1984).

El concepto de **dominancia** hace referencia más a un patrón de interacciones entre dos individuos que a la cantidad de agresividad desplegada en una interacción (Drews, 1993). El establecimiento de la dominancia y de las relaciones de agresión-sumisión en un grupo de organismos trae como resultado una disminución en la agresión desplegada en los encuentros agonistas, una vez que alguno de los conoespecíficos adquiere la posición dominante y que los demás asumen su papel de subordinados (Copp, 1986). La condición de dominancia se basa en la relación entre dos organismos y depende de la comparación entre los atributos individuales; por ser un atributo de una interacción o de una relación entre dos individuos, la dominancia no es una característica que pueda ser heredada (Drews, 1993). Debido a que en muchos casos los recursos son limitados, estos son aprovechados en

primera instancia por aquellos que se encuentran en la parte más alta de la escala jerárquica (Ridley, 1995).

Actualmente se conocen algunos de los factores que determinan la dominancia en crustáceos como acociles y langostas. Entre ellos destaca que los organismos de mayor tamaño tienden a ser dominantes cuando son enfrentados con conespecíficos de un tamaño o de un peso menor; de igual manera, acociles machos asumen una posición dominante en un grupo conformado por hembras de peso y talla similares. (Bovbjerg, 1953; Arzuffi, 1997). Langostas con "experiencia previa" (organismos que han adoptado la posición de dominantes o de sumisos con anterioridad) tienen mayor posibilidad de conservar ese lugar en un nuevo grupo (Karavanich y Atema, 1998a). Los organismos dominantes pierden su estatus cuando son incapaces de defenderse, como después de haber pasado por el proceso de muda o ecdisis o cuando se encuentran enfermos o cercanos a la muerte (Cromarty, 1997).

El comportamiento agonista en acociles que se encuentran en condiciones naturales es una conducta difícil de observar debido a que estos organismos tienen principalmente hábitos nocturnos y permanecen mucho tiempo en los túneles que ellos mismos cavan en el substrato (Headstrom, 1979). Los acociles utilizados durante los registros de comportamiento agonista se mantienen en condiciones artificiales que difieren bastante de las que estos organismos tienen en la naturaleza. La realización de los registros en espacios reducidos (con restricciones físicas que no permiten la posibilidad de esconderse o de huir) así como la limitación del alimento, el aislamiento de los individuos utilizados de sus demás conespecíficos y el registro de conjuntos pequeños

conformados por organismos del mismo sexo y de aproximadamente el mismo peso y tamaño, seguramente influyen para exacerbar esta conducta. Pese a esto, el comportamiento agonista puede inducirse bajo ciertas condiciones, lo que indica que aunque en condiciones naturales no es frecuentemente observado es sin embargo, potencialmente utilizable. Por esto, el comportamiento agonista en crustáceos es un buen modelo de investigación debido a que es fácilmente reproducible si se mantienen constantes las condiciones de registro.

b) Organización del sistema nervioso de los Crustáceos en particular del acocil.

Una de las funciones del sistema nervioso es la de controlar los movimientos y posturas, ya que la ejecución de una acción por sencilla que parezca requiere de la coordinación entre los sistemas neural y muscular. Los movimientos de cualquier animal dependen en primera instancia de la forma y el tipo de apéndices que éste posea, pero los patrones específicos de movimiento y los tipos de conductas dependen de un sistema nervioso altamente sofisticado. El sistema nervioso toma información del exterior vía sistemas sensoriales, la procesa e integra y finalmente dirige la actividad en cierto sentido a través del sistema muscular. Así el sistema nervioso puede ser conceptualizado en tres partes principales: **1)** entrada de información al sistema, **2)** procesamiento de la información y **3)** ejecución de acciones específicas mediante la contracción muscular en distintas combinaciones y secuencias para crear un patrón de movimiento o una conducta particular (Grier, 1984).

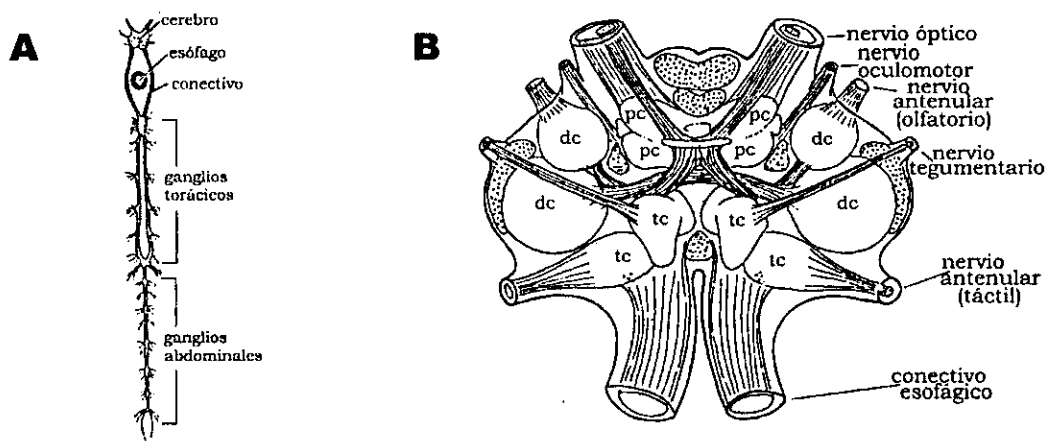


Fig. 1.- (A) Estructura del **sistema nervioso central** del acocil (tomado de Brusca y Brusca, 1990). (B) Cerebro de *Cherax destructor*. **pc**, protocerebro; **dc**, deutocerebro y **tc**, tritocerebro. (tomado de Sandeman y cols, 1992).

El sistema nervioso de los Crustáceos se encuentra estructurado de acuerdo con la segmentación de estos organismos. El cerebro está formado por tres ganglios: **protocerebro**, **deutocerebro** y **tritocerebro** (**fig. 1B**). Los nervios ópticos llevan la información visual al protocerebro, mientras al deutocerebro llegan los nervios antenulares procedentes de antenas y anténulas; este ganglio además inerva la musculatura que controla el pedúnculo ocular. El tritocerebro forma un par de conectivos que se extienden alrededor del esófago hacia el ganglio subesofágico, los cuales permiten la comunicación entre el cerebro y el cordón nervioso central. Al tritocerebro también llegan algunos nervios antenulares así como ciertos nervios sensoriales de la región anterior de la cabeza.

Algunos miembros en el orden *Decapoda* presentan fusión en los ganglios torácicos y abdominales de manera importante a lo largo de la línea media del cuerpo (**fig. 1A**), pero continúan separados entre sí longitudinalmente (Sandeman, 1982). El ganglio sub-esofágico controla los movimientos de la mandíbula, la maxila y de los maxilípedos. El primer ganglio torácico maneja a los quelíceros y los siguientes 4 ganglios inervan los apéndices locomotores del cefalotórax. En los primeros cinco ganglios abdominales se encuentra el control de los apéndices asociados a cada segmento de esta región del cuerpo y también de cada uno de los músculos abdominales. El sexto ganglio se encarga de los urópodos, del telson, de la musculatura anal y de la parte posterior del tubo digestivo (Sandeman, 1982).

c) Sistema visual del acocil

Los sistemas visuales de cualquier organismo funcionan utilizando la luz, que junto con las ondas de radio y las ondas de alta energía (los rayos X y los rayos Gamma) conforman los 3 tipos de radiaciones electromagnéticas que ingresan a la Tierra desde el espacio. Gran parte de estas ondas son filtradas por las distintas capas de la atmósfera, siendo las ondas electromagnéticas del espectro visible las únicas que llegan a la biosfera sin sufrir modificaciones importantes (White, 1974). Las ondas luminosas interactúan con las estructuras biológicas sensibles, que contienen moléculas que reaccionan a ciertas longitudes de onda del espectro visible y también a cambios en la amplitud de la onda. La sensibilidad de los diferentes organismos a la luz así como los tipos de estructuras que poseen varían considerablemente, de manera que los diferentes grupos de organismos que presentan estructuras visuales perciben el exterior de forma distinta.

Dentro del phylum *Arthropoda* podemos encontrar tres tipos básicos de ojos: ocelos simples, ocelos con lentes complejos y ojos compuestos o facetados; estos últimos son los que presentan gran parte de los crustáceos, incluido el acocil.

Los ojos compuestos están formados por unidades estructurales conocidas como omatidias (**fig. 10**), cada una de ellas se encuentra conectada de manera independiente al nervio óptico y tiene su propio campo de visión. La luz penetra a través de una faceta cuticular cuadrada que se encuentra en la superficie del ojo, el conjunto de facetas forma el característico patrón de mosaico. Los campos visuales de las

omatidias vecinas se superponen en distintos grados, dando como resultado que cualquier cambio en la posición de un objeto sea detectado por gran cantidad de omatidias y por ello los ojos compuestos funcionan muy bien para detectar el movimiento. En general se sabe que los ojos compuestos con gran cantidad de pequeñas facetas pueden producir imágenes de mayor resolución que aquellos ojos con menor número de facetas de mayor tamaño (Shaw y Stowe, 1982).

Cada omatidia está cubierta por una porción modificada del exoesqueleto llamada córnea y las células epidérmicas especiales que producen los elementos de la córnea son llamadas células corneágenas. El núcleo de la omatidia está formado por las células del cristalino (usualmente 4) las cuales forman el cono del cristalino. Por debajo de estas estructuras se encuentra el tallo del cristalino cónico y la retínula basal o elemento retinular (**fig. 2**).

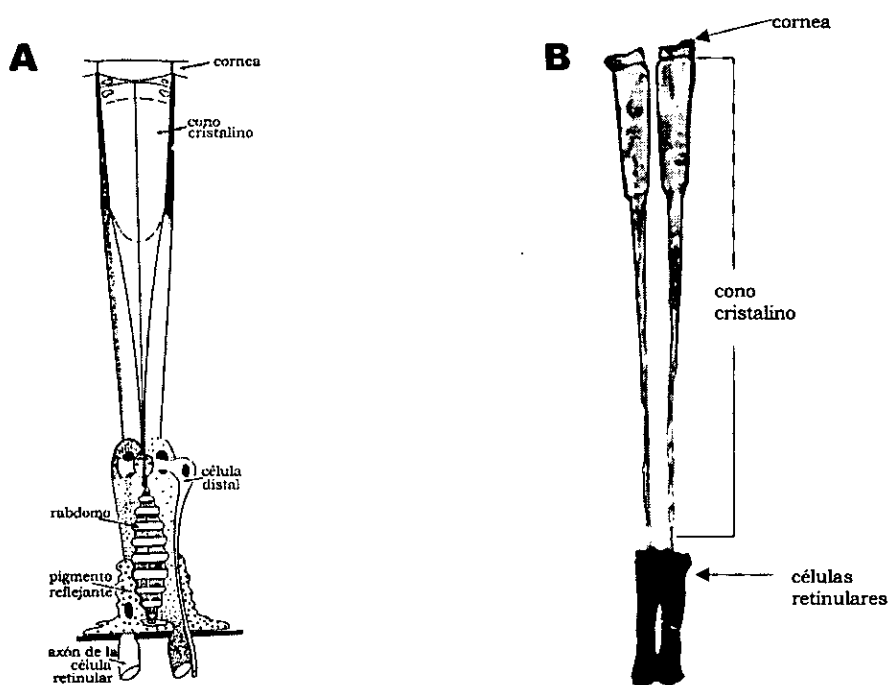


Fig. 2.- (A) Esquema de un omatidio de superposición típico (tomado de Shaw y Stowe, 1982); (B) Microfotografía de un par de omatidios de acicil *Procambarus clarkii* (por el autor, 2001).

La retínula es una estructura compleja formada por 8 células retinulares las cuales son las unidades fotosensibles y que dan salida hacia el nervio sensorial. En cada célula retinular se encuentra un rabdomero formado por microvellosidades de la membrana que contienen el pigmento fotosensible, la rodopsina, dentro de microtúbulos. El rabdomo se forma por la unión de las microvellosidades de todas las células retinulares de una omatidia, las cuales se encuentran organizadas en forma de cilindro.

La cantidad de luz que entra al sistema es controlada por las células pigmentarias accesorias que se encuentran alrededor de los rabdomos y de los conos cristalinos (Schram, 1986). Estos pigmentos poseen la capacidad de migrar como respuesta a cambios en la iluminación; bajo condiciones de luz brillante los pigmentos se aproximan entre sí y cubren por completo al rabdomo; la luz que llega a una omatidia no entra en las adyacentes debido a que únicamente pueden entrar aquellos rayos de luz que son perpendiculares al eje longitudinal de cada faceta de manera que cada omatidia se mantiene como una unidad discreta. Bajo condiciones de oscuridad el pigmento distal se desplaza hacia la córnea y el proximal lo hace en sentido contrario con lo que el rabdomo queda descubierto y de esta forma llega una mayor cantidad de luz al área fotorreceptora. La migración de los pigmentos proximal y distal está regulada por la hormona de adaptación de la luz la cual se libera de forma circadiana desde el complejo órgano X - glándula sinusal (Hernández-Falcón, 1989).

Los ojos de tipo compuesto varían con respecto al plan estructural descrito arriba; si se toma en cuenta el aislamiento óptico entre las

omatidias adyacentes podemos identificar dos subtipos: ojos compuestos por **aposición** y ojos compuestos por **superposición** (figura 3).

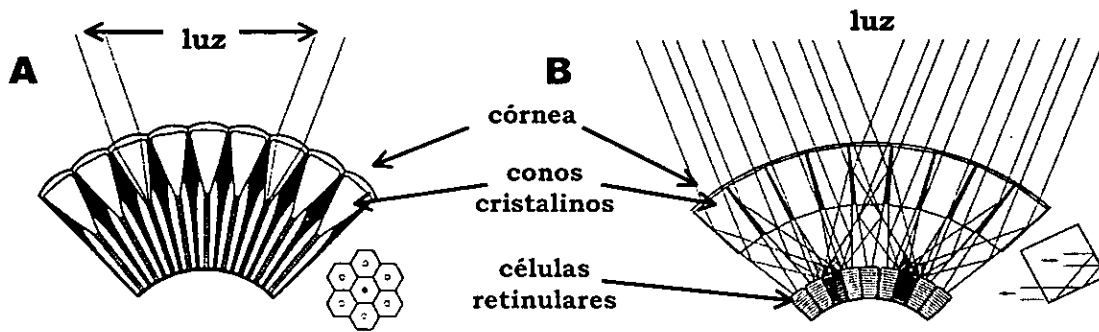


Fig. 3.- Ojo compuesto por aposición (A) y ojo compuesto por superposición (B) (tomado de Nilsson, D. 1990).

En los ojos de aposición existe un mayor aislamiento óptico; aquí los rabinos y los conos se encuentran en contacto y cada omatidia se mantiene como una unidad discreta. Las células pigmentarias accesorias cubren por completo las omatidias por lo que la cantidad de luz que llega al rabinos se encuentra restringida al ángulo de entrada de los rayos luminosos que es extremadamente limitado (Nilsson, 1990). Este tipo de ojos lo presentan algunos crustáceos e insectos diurnos y se piensa que producen imágenes de muy alta resolución (figura 3A).

A diferencia de los ojos compuestos de aposición, los de superposición tienen menos pigmento entre las omatidias y un espacio claro entre la capa de conos y la de rabinos de manera que un rabinos puede ser alcanzado por los rayos de luz que provienen de los conos vecinos. El arreglo óptico permite que los rayos de luz provenientes de un punto en el espacio alcancen muchos conos adyacentes y sean llevados a foco en el mismo rabinos, donde se forma una imagen proveniente de un área extensa del ojo pero sin perder la

sensibilidad direccional. Las imágenes se forman debido a espejos arreglados en forma radial en un patrón ortogonal. Los ojos de superposición permiten la visión en condiciones de baja iluminación pero reduciendo la resolución de las imágenes producidas debido a que la imagen que se forma en una omatidia se encuentra superpuesta con las imágenes que se formaron en las omatidias adyacentes. Este tipo de ojos los podemos encontrar en insectos nocturnos y crustáceos marinos (**figura 3B**).

Hay ojos compuestos que dependiendo de la cantidad de luz y de la posición que tengan los pigmentos pueden funcionar por superposición así como por aposición. El ojo del acocil pertenece a este grupo aunque funciona principalmente por superposición y sólo cuando esta adaptado a la luz lo hace por aposición (Shaw y Stowe, 1982).

El proceso de fototransducción.

Al igual que en otros sistemas de fotorreceptores, la luz isomeriza la rodopsina hasta metarrodopsina I. El cambio conformacional parece estar ligado con el incremento en los niveles de GTP y trifosfato de inositol (IP₃).

En la mayor parte de los artrópodos estudiados, la isomerización del fotorpigmento induce cambios eléctricos en la membrana del fotorreceptor. Este cambio se conoce como potencial de receptor y consiste en una despolarización más o menos rápida (fase transitoria) seguida de una despolarización sostenida (fase estable) que antecede a la

repolarización. La fase transitoria depende de la intensidad del estímulo y de la entrada de iones de Na^+ y de Ca^{++} . La fase estable depende de la duración del estímulo y de los niveles de Ca^{++} libre intracelular. Se han propuesto diversos mecanismos como moduladores de la entrada iónica transmembranal y de los niveles intracelulares de calcio (Hernández-Falcón y Fuentes-Pardo, 1991).

En el nervio óptico se han registrado tres tipos de fibras. Las fibras de acción sostenida responden a la presencia de luz con una descarga que desaparece al apagarla; las fibras de penumbra que responden a la disminución de la luz ambiental y por último las fibras detectoras de movimiento, que responden a bordes móviles que se desplazan por el campo receptivo de las fibras (Wiersma y Yamaguchi, 1967).

Las señales visuales arriban al lóbulo óptico del cerebro en donde es posible registrar potenciales evocados en respuesta a estímulos visuales (Serrato y cols., 1996; Hernández-Falcón y cols., 1999)

d) Quimiorreceptores olfatorios en el acocil.

La percepción química (donde se incluye la olfacción y el gusto) es una de las características que con más frecuencia encontramos en la mayoría de las especies animales. La sensibilidad a ciertas moléculas es usada a menudo como un medio de comunicación útil en la delimitación de territorios, en la atracción sexual, en el reconocimiento de los conespecíficos y como señal de advertencia o de rechazo. Adicionalmente la olfacción juega un papel importante en la identificación de la presa o del alimento y en la detección de sustancias nocivas o peligrosas.

Los decápodos poseen estructuras inervadas en forma de cilios o pelos, conocidos como **estetascos**, que se encuentran sobre la cutícula externa (**figura 4**), los cuales proveen de información sobre las señales químicas que se encuentran en el exterior. Estos cilios quimiosensitivos están agrupados en los distintos apéndices y en ciertas regiones del cuerpo. Se sabe que en las anténulas así como en los pereiópodos y en los apéndices bucales están los principales quimiosensores, aunque se conoce que estas estructuras están presentes en casi todo el cuerpo de los decápodos. Cada anténula cuenta con una gran cantidad de estetascos en forma de cilios o pelos que salen del exoesqueleto flagelar y están conectados con el deutocerebro mediante una gran cantidad de neuronas sensoriales bipolares con dendritas muy ramificadas a todo lo largo del lumen del cilio. Estas ramificaciones están en contacto con el medio externo a través de una pared cuticular esponjosa delgada y permeable que se encuentra en la zona distal de cada uno de los cilios. El número de estetascos por anténula varía de una especie a otra así como la cantidad de neuronas que inervan cada uno de los

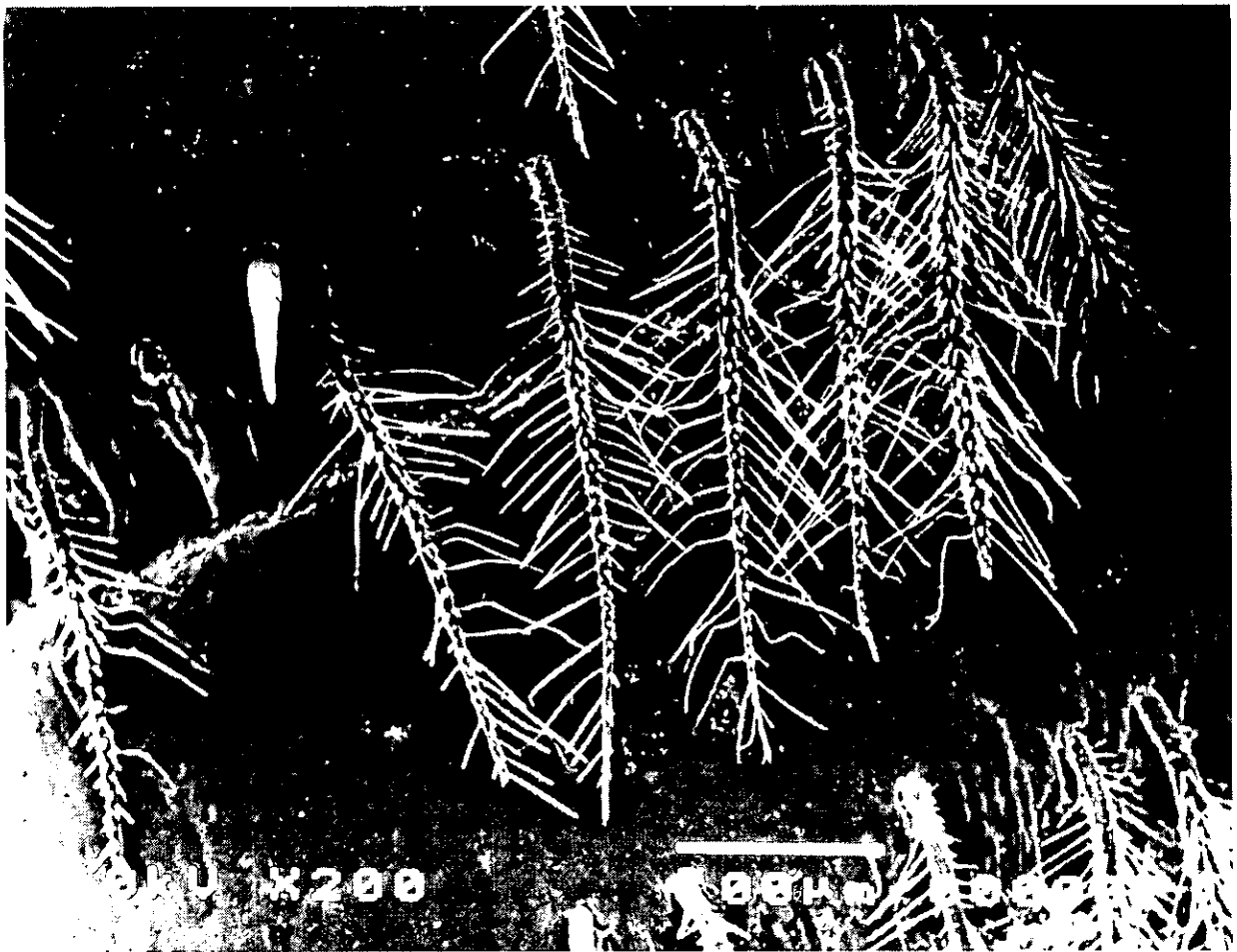


Fig. 4.- Imagen de microscopía electrónica de barrido donde se muestra un grupo de estetascos sobre la cutícula externa de una de las anténulas de un acocil.

cilios (cerca de 100 neuronas por cilio en algunos cangrejos).

El tipo de estructuras químicas receptoras que se localiza en los pereiópodos así como en otras regiones del cuerpo es muy distinto al que se describe arriba debido a que éste cuenta con una pared gruesa que sólo es permeable en la punta y que está invadida por un menor número de neuronas receptoras (menos de 20) las cuales no presentan dendritas ramificadas (Grant y Mackie, 1985).

Los quimiorreceptores antenulares son considerados usualmente como órganos olfatorios (Ache, 1982), y se distinguen de los quimiorreceptores dactilares y bucales, los cuales funcionan como órganos del gusto. Esta división no es del todo correcta, ya que existen evidencias de que los receptores antenulares incitan ciertos comportamientos alimentarios y se ha descubierto que los receptores químicos de los apéndices bucales y dactilares pueden desencadenar una conducta de apareamiento con la debida estimulación. No obstante, existe una diferencia fisiológica en lo que se refiere a los umbrales de los quimiorreceptores de los distintos apéndices, siendo más sensibles (por cuatro o cinco órdenes de magnitud) las anténulas en comparación con los apéndices bucales o los pereiópodos. Adicionalmente, las anténulas se encuentran adaptadas para la detección de compuestos químicos a muy baja concentración gracias a su capacidad de moverse de un lado a otro (Ache, 1982).

El proceso de transducción olfatoria

Al igual que en otros crustáceos, en el acocil las células receptoras olfatorias (*CRO*) se encuentran localizadas en las anténulas; las sustancias odoríferas (de carácter hidrofílico) llegan a través de poros en los pelos olfatorios. Aunque no se han identificado moléculas receptoras específicas en las *CRO*, se ha visto que las células receptoras responden a la estimulación olorosa con potenciales de receptor graduados de tipo despolarizante que llevan a la generación de potenciales de acción.

Varios tipos de canales y corrientes se han identificado en los crustáceos, entre ellos destacan los canales activados por AMP_c (Michel y Ache, 1992), canales activados por IP₃, y canales activados por IP₄ (Fadool y Ache, 1994).

Se han encontrado al menos dos vías de segundos mensajeros en las CRO de la langosta, las cuales usan AMP_c e IP₃ (Fadool y Ache, 1992; Michel y Ache, 1992). Los estímulos olorosos inducen un incremento rápido y transitorio de AMP_c e IP₃ en las dendritas de las CRO.

La señal olfatoria es conducida por los axones de las CRO, generalmente 2 en cada polo sensorial, los que terminan en estructuras similares a los del glomérulo del vertebrado. En los crustáceos decápodos las proyecciones aferentes primarias terminan en glomérulos en forma cónica, que se encuentran en los lóbulos olfatorios del cerebro (**fig. 1, pag. 7**). La mayoría de las CRO proyectan al lóbulo antenular ipsilateral y los glomérulos contienen las neuronas principales e interneuronas locales. Parece haber compartimentalización de las entradas aferentes en los centros olfatorios primarios (Hildebrand y Shepherd, 1997).

e) Papel de los neurotransmisores en la conducta agresiva

La coordinación de las conductas complejas por parte del sistema nervioso depende en buena medida de la liberación de algunos neurotransmisores (Kravitz, 2000). Estas moléculas pueden actuar de muchas formas; por ejemplo, pueden ligarse a ciertos receptores para que éstos abran o cierren sus canales iónicos o pueden activar uno de los distintos sistemas que dependen de un segundo mensajero.

Un neurotransmisor puede funcionar de tres formas básicas: como un **neurotransmisor clásico**, como un **neuromodulador**, o como una **neurohormona**. Los neurotransmisores clásicos actúan directamente sobre una célula postsináptica mientras que los neuromoduladores no pueden alterar directamente la actividad de la célula postsináptica, pero sí pueden modificar la liberación de compuestos presinápticos o la capacidad de respuesta postsináptica hacia otro compuesto el cual trabaja como un neurotransmisor primario en la sinapsis. Los neuromoduladores pueden ser liberados de manera difusa en alguna región del sistema nervioso y a diferencia de los neurotransmisores clásicos no necesitan estar en un sitio postsináptico para poder actuar. Las neurohormonas son liberadas en el torrente circulatorio y debido a esto es que tienen efectos moduladores en todo el organismo (Weiger, 1997).

Diversos estudios sugieren que algunos neurotransmisores como la serotonina (5-HT), la octopamina (OCT) y la dopamina (DA) tienen una influencia significativa en la conducta agresiva tanto de acociles como de langostas (Kravitz, 1988; Antonsen y Paul, 1997); investigaciones en

otras especies revelan datos similares. En 1980, Livingstone y colaboradores encontraron que la postura que asume una langosta dominante puede reproducirse en otra langosta cuando a ésta se le inyecta con serotonina mientras que la postura de un organismo subordinado puede lograrse con una inyección de octopamina.

Existe una gran cantidad de estudios en vertebrados que sugieren que la serotonina así como otras sustancias pueden tener efectos significativos sobre distintos tipos de comportamiento donde se incluye la conducta agresiva. La inyección de 5,7-DHT en el hipotálamo lateral de la rata produce incrementos en la frecuencia y en la duración de conductas agresivas conespecíficas cuando otra rata es colocada en la misma jaula (Vergnes y cols., 1988).

Los efectos de ciertos medicamentos (como la fluoxetina y la fluvoxamina) que actúan sobre conductas agresivas así como en distintos desórdenes psiquiátricos son muy evidentes en humanos, pero los mecanismos implicados aun son difíciles de precisar. A este respecto algunos estudios indican que existe una relación entre la disminución de serotonina en el cerebro y los casos de suicidio o intento de suicidio, pero también hay estudios que no encuentran correlación alguna (Mann y cols., 1989)

El estudio de los mecanismos de acción de los neurotransmisores sobre la conducta se facilita en un modelo como el del crustáceo, debido a la relativa sencillez de su sistema nervioso en el que se conocen algunos de los circuitos involucrados en la conducta agonista (Yeh y cols. 1996), a que poseen neuronas fácilmente identificables (Otsuka y cols.,

1967) y al pequeño número de neuronas que se han involucrado en los procesos de modulación de la conducta agresiva, todo lo cual reduce el número de variables involucradas y permite manipular el modelo biológico en forma relativamente simple.

f) Planteamiento del problema

En el acocil el sistema visual tiene un elevado grado de desarrollo que le permite detectar cambios sutiles en la intensidad luminosa y el movimiento, entre otras características de los estímulos visuales. Pese a ello, hay poca información referente a la existencia de conductas guiadas o dependientes de esta modalidad sensorial.

Entre las conductas más estudiadas en el acocil se encuentran la de alimentación, la de apareamiento y la agonista. En las dos primeras la detección química es la modalidad sensorial usada predominantemente, en la tercera no están bien definidas las contribuciones de la visión y de la olfacción, sin embargo parece claro que esta última participa en ella (Kaplan y cols., 1993). Durante una interacción agonista entre dos o más acociles se pueden observar con frecuencia posturas como la de amenaza o la de aproximación en cuya detección podría participar sobre todo la información visual. Por otro lado, se ha postulado que la información química es determinante en el mantenimiento de la jerarquía de dominancia-sumisión y diversos estudios proponen la liberación en la orina de una feromona que funcionaría como señal indicativa del estatus jerárquico (Karavanich y Atema, 1998b). Esto nos da la oportunidad de usar un modelo de estudio en donde podemos fragmentar la información de entrada de algunos sistemas sensoriales y determinar el grado de intervención que tienen.

El propósito de este trabajo fue obtener información que permita determinar qué papel juega la información visual y la olfatoria en la conducta agonista del acocil y en el mantenimiento del orden de dominancia.

II. Hipótesis

Si durante las interacciones agonistas la información visual no es indispensable para la ubicación espacial, la identificación y localización de los contendientes, entonces, en acociles cegados de manera reversible, el nivel de actividad agonista no será modificado.

Si la información olfatoria se emplea en la identificación de los conoespecíficos, pero no determina el nivel de agresividad ni el orden de dominancia del grupo, entonces, la incapacidad funcional reversible de los receptores antenulares no modificará la intensidad de los encuentros agonistas ni el orden de dominancia.

III. Métodos

a) Selección del material biológico

Para este trabajo se utilizaron 65 acociles de la especie *Procambarus clarkii* obtenidos de un proveedor local. Los organismos usados fueron machos adultos, sanos, de una talla rostrocaudal de entre 90 mm y 130 mm y un peso de entre 25 g a 60 g. Los animales se encontraban en intermuda (etapa C4) y tenían todos sus apéndices completos.

En el laboratorio los animales se mantuvieron bajo ciclos naturales de luz-oscuridad en acuarios de vidrio de 80 x 45 x 30 cm, con rocas y agua suficiente; el agua se aireaba en forma continua y la temperatura era la ambiental (20 - 22 °C). Cada acuario contenía un máximo de 15 acociles; los animales eran alimentados dos veces por semana con pescado seco, vegetales o huevo. Antes de ser usados en cualquier experimento los acociles permanecían al menos una semana en las condiciones mencionadas.

b) Diseño experimental

Los experimentos consistieron en determinar el orden de dominancia y cuantificar el número de interacciones agonistas tanto en triadas de animales control como en triadas de animales experimentales. Para ello usé la técnica propuesta por Bobvjerg (1953) adaptada para triadas de acociles.

Realicé experimentos a largo plazo (*Serie A*) y a corto plazo (*Serie B*). En los experimentos de la **Serie A** los animales eran registrados durante 25 días consecutivos (30 minutos por día). El registro iniciaba con animales intactos. En los experimentos control los animales no sufrían de ninguna manipulación experimental durante todo el intervalo de registro. En el caso de los registros experimentales, las manipulaciones se realizaban entre el 15° y el 19° día; después de este tiempo, los animales eran regresados a la condición inicial.

En el segundo grupo de experimentos (*Serie B*), los animales eran aislados durante una semana y después de este periodo fueron enfrentados con sus conespecíficos por 30 minutos diarios durante 10 días consecutivos. Antes de que iniciara el registro se realizaba uno de los procedimientos experimentales.

c) Determinación del orden de dominancia

El registro del comportamiento agonista se realizó en un tanque circular de plástico de 38 cm de diámetro con una capacidad de 16 litros. Los acociles utilizados en estos registros eran agrupados en **triadas** de tamaño y peso equivalente, con una variación menor al 10%; dependiendo de la época del año, el peso de los animales varió entre 25 y 60 gramos.

Los acociles seleccionados fueron marcados con esmalte acrílico sobre el cefalotórax y eran colocados en acuarios individuales, aislados del resto de sus conespecíficos durante una semana, en la cual se les mantenía en ayuno, pues se sabe que esta condición aumenta la agresividad en los organismos (Salmon y Hyatt, 1983).

Para las observaciones utilicé la técnica propuesta por Bovberjg (1953), que consiste en un **muestreo de conducta** (*en donde se observa un grupo de sujetos y se registra cada ocasión en que se produce un tipo concreto de comportamiento*) en la modalidad de **registro continuo**; en este tipo de registro se anotan todas las apariciones de una pauta de conducta durante el tiempo que dure la observación (Martin y Bateson, 1986). Las observaciones se realizaron entre las 11 y las 18 horas y además de la luz natural se utilizaron dos lámparas de luz fluorescente de 32 watts para iluminar el lugar.

Para el muestreo de la conducta se colocaba a los miembros de una de las triadas en el tanque de registro durante 40 minutos. En los primeros 10 minutos los acociles se mantenían separados físicamente

mediante barreras de plástico transparente que permitían la comunicación visual y química. A continuación, se retiraban los separadores y se permitía la interacción completa de los animales durante 30 minutos más. Al término de este tiempo los acociles se retiraban del tanque y eran regresados de nuevo a sus acuarios individuales; ahí permanecían aislados hasta el siguiente día, cuando se repetía toda la rutina del registro de la conducta agonista. Este procedimiento se realizaba por un periodo de 10 o de 25 días (dependiendo de la serie experimental); los primeros 5 días permitían verificar la posición jerárquica que cada organismo asumía e identificar al animal dominante. Los siguientes días permitieron analizar la estabilidad de la jerarquía establecida. Durante el periodo de registro los animales se mantenían en ayuno y solo se les proporcionaba alimento una vez cada 15 días.

La determinación del orden de dominancia consistió en registrar los contactos físicos que realizaba cada uno de los acociles contra los conoespecíficos de su triada durante una sesión de muestreo. Para el sistema de contabilización se asignó una letra a cada una de las siguientes acciones: amenaza (**T**), ataque (**A**), lucha (**F**) y retiro (**R**). Cada acción recibió un valor unitario y la descripción de las acciones consistió en anotar qué animal era el **emisor**, el tipo de conducta y el animal **receptor** de la conducta (por ejemplo **1A2** indica que el acocil **1** **emitió** una conducta de **ataque** dirigida hacia el **receptor**, que en este caso fue el acocil **2**).

De acuerdo con la clasificación de Bovbjerg (1953) los contactos de tensión se definen como cualquier contacto entre dos o más acociles en

donde uno de ellos provoca un retiro claro de los oponentes. Estos contactos se dividen en: **amenaza, ataque, lucha, y retiro.**

Amenaza: es un acercamiento con las quelas extendidas hacia afuera en posición de ataque y puede causar el retiro del otro animal, jamás hay contacto físico (**figura 5**).

Ataque: se establece un contacto físico entre dos organismos siempre. Hay una irrupción unilateral en la que el agresor se acerca hacia su conespecífico. Tiene dos modalidades: con las quelas abiertas en donde existe la sujeción de alguno de los apéndices del agredido, y con las quelas cerradas, donde éstas se usan para golpear al otro sobre el cefalotórax o sobre el abdomen (**figura 6**).

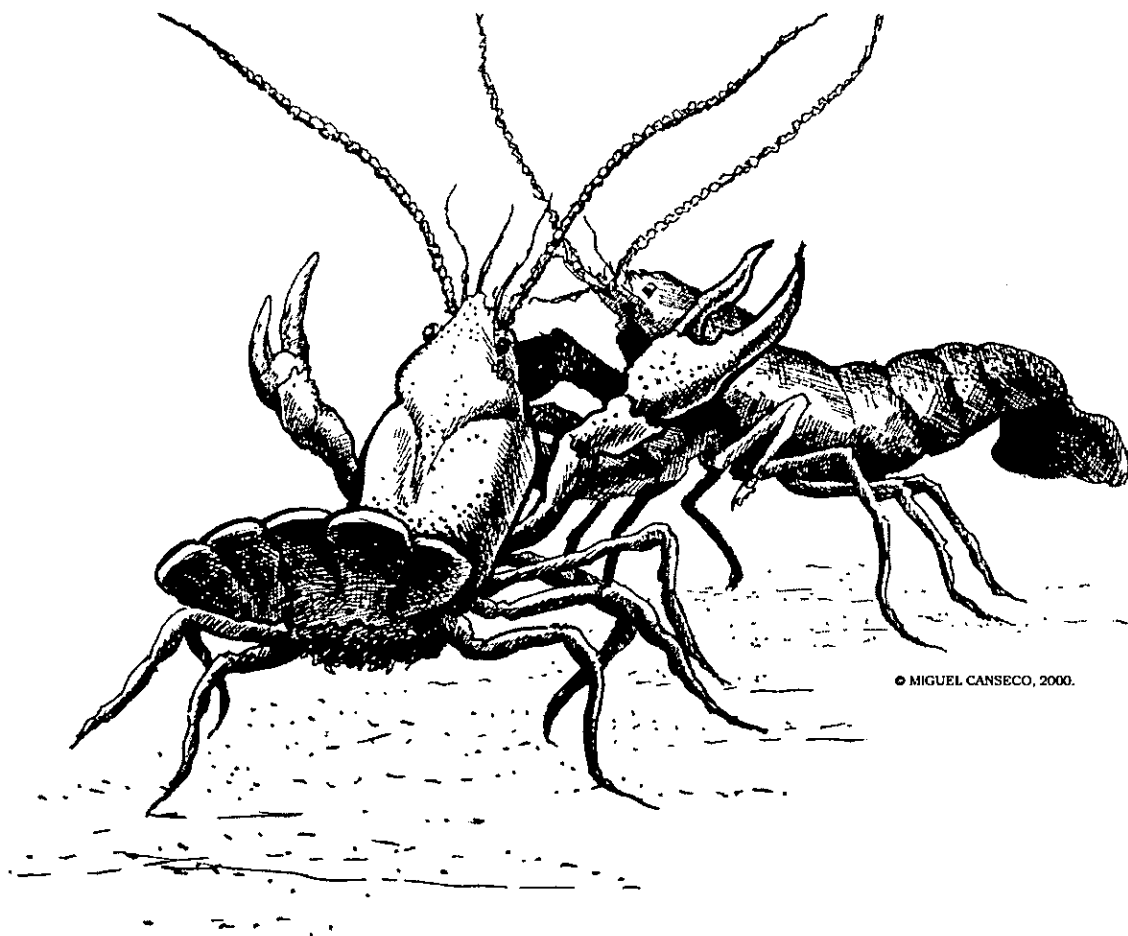
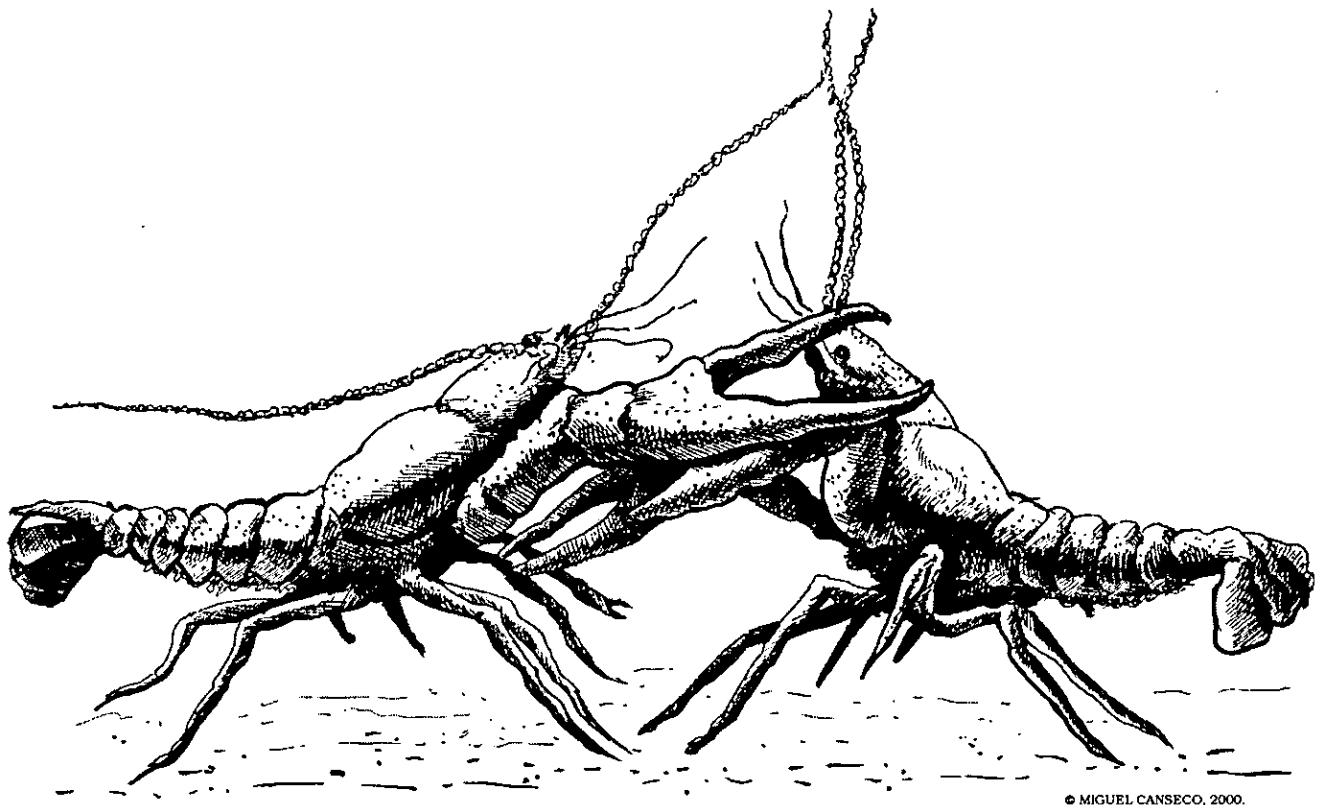


Fig. 5.- Dibujo de dos acociles en actitud de amenaza donde uno de estos se encuentra elevando las quelas.

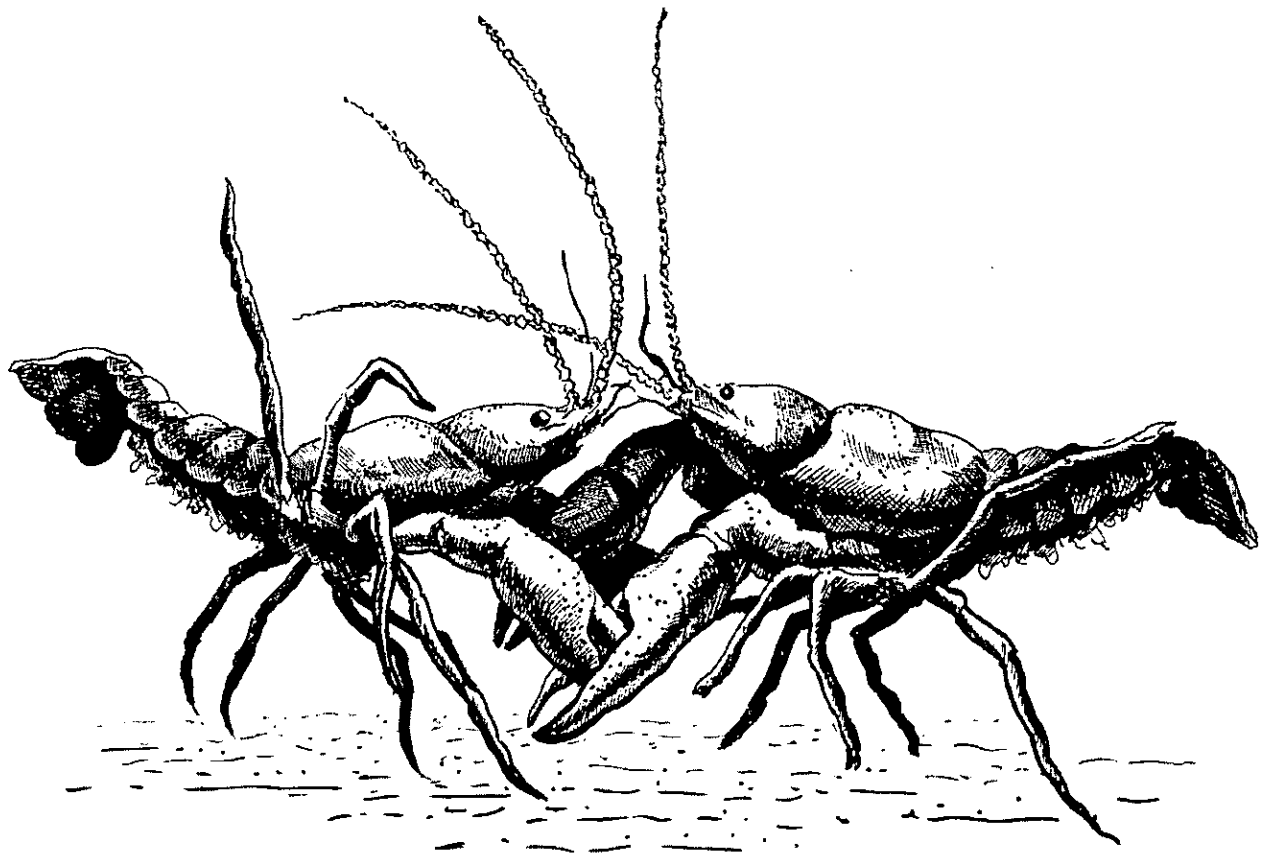
Lucha: muy similar al ataque, pero en ella ambos organismos participan atacándose durante algunos segundos e incluso minutos. La diferencia entre ataque y lucha es que en esta última las agresiones siempre derivan de otro contacto físico. Puede incluir la sujeción de una parte del oponente, tracción, sujeción de quelas y desplazamientos (**figura 7**).

Retiro: ocurre cuando un acocil se aleja de uno de sus conespecíficos como resultado de una amenaza, un ataque o una lucha (**figura 8**).



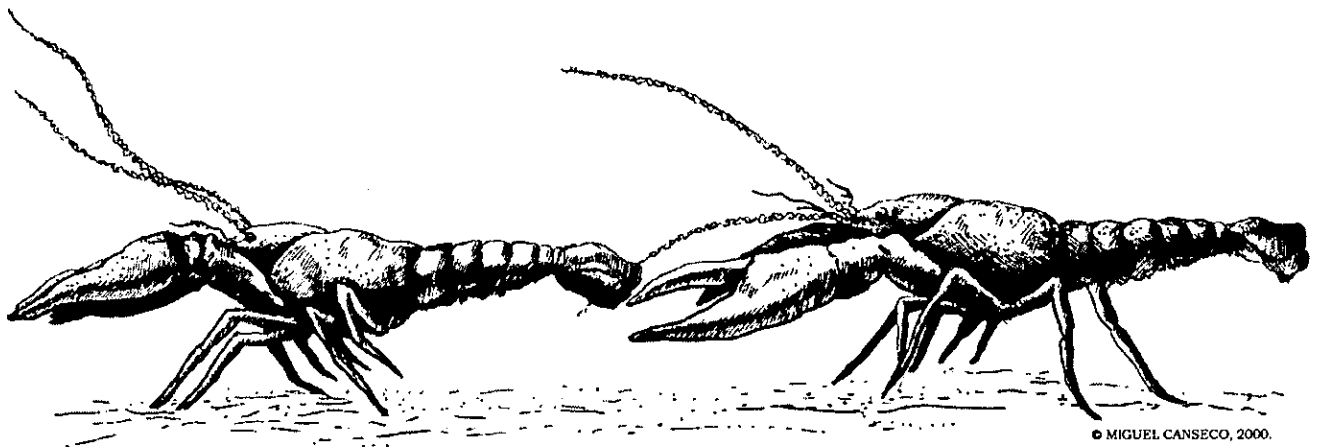
© MIGUEL CANSECO, 2000.

Fig. 6.- Dibujo de un ataque entre dos acociles.



© MIGUEL CANSECO, 2000.

Fig 7.- Dibujo de una lucha entre dos acociles durante una interacción agonista.



© MIGUEL CANSECO, 2000.

Fig 8.- Dibujo del retiro de un acocil sumiso (izquierda) propiciado por las interacciones agonistas del animal dominante (derecha).

Los contactos de tensión se dividieron en positivos y negativos. Los **contactos positivos** corresponden a todas las acciones emitidas por un acocil sobre los demás organismos del lote, mientras que los **contactos negativos** son las acciones que son recibidas por algún acocil de la triada.

Los datos obtenidos en cada sesión de muestreo se virtieron en una hoja de datos (**figura 9**); en ella es posible relacionar las interacciones de cada animal con respecto a las de los otros organismos del grupo. Esto me permitió cuantificar de manera simple lo ocurrido en cada una de las sesiones de registro.

	Interacción	acocil (1)	acocil (2)	Acocil (3)	I+
a	Amenaza (T)			1	
c					
o	Ataque (A)				
c					5
i	Lucha (F)			4	
l					
(1)	Retiro (R)				
<hr/>					
a	Amenaza (T)				
c					
o	Ataque (A)				
c					0
i	Lucha (F)				
l					
(2)	Retiro (R)				
<hr/>					
a	Amenaza (T)	1	1		
c					
o	Ataque (A)		1		
c					9
i	Lucha (F)	4			
l					
(3)	Retiro (R)	1	1		
l-		6	3	5	

Fig. 9.- Hoja de datos donde se puede observar la forma de cuantificar el número y tipo de las interacciones durante una sesión de registro en una triada de acociles.

En la hoja de datos se puede observar el total de las interacciones positivas (**I+**) y el de las interacciones negativas (**I-**). El estatus de cada organismo en el grupo se puede determinar obteniendo un valor que se conoce como porcentaje de dominancia (**%D**) que es la relación porcentual entre los contactos positivos y los negativos y se calcula sustituyendo en la siguiente fórmula:

$$\%D = \frac{I_p}{(I_p + I_n)} \times 100$$

donde I_p = Total de interacciones positivas para cada acocil.

I_n = Total de interacciones negativas para cada acocil.

El acocil **dominante** de cada grupo fue aquel que tenía un mayor número de contactos positivos y los acociles **sumisos** eran aquellos con un mayor número de contactos negativos.

d) Obtención de controles

Serie A y B:

La obtención de los registros de tipo control se realizó en cuatro triadas de animales intactos, a los que no se les hizo manipulación alguna durante 25 días continuos. Los contactos positivos se graficaron con respecto al tiempo para cada uno de los animales de la triada. Los valores que se obtuvieron para cada uno de los días de observación (tanto de los lotes **control** como de los **experimentales**) se ponderaron con respecto a un **Valor Esperado (VE)**:

$$VE = \frac{\sum_{i=1}^{i=25} IP_D + IP_{S1} + IP_{S2}}{n}$$

donde IP_D = Interacciones positivas de los dominantes

IP_{S1} = Interacciones positivas de los sumisos 1

IP_{S2} = Interacciones positivas de los sumisos 2

n = total de organismos por tratamiento

Para los experimentos de la Serie B sólo se tomaron los 10 días de registro:

$$VE = \frac{\sum_{i=1}^{i=10} IP_D + IP_{S1} + IP_{S2}}{n}$$

e) Manipulaciones experimentales

i) Bloqueo del sistema visual

Serie A

El efecto de la supresión temporal del sistema visual sobre el comportamiento agonista del acocil se estudió en cuatro triadas. Para esto se cegó en forma temporal y reversible a los animales de cada lote mediante la colocación de un capuchón negro que cubría por completo la córnea. El procedimiento consistió en anestesiar por frío a los animales, y después, bajo el microscopio estereoscópico, colocar un pequeño tubo de parafilm (*American National Can*) el cual se ataba al tallo ocular con hilo delgado, el otro extremo del tubo también se cerraba con hilo. Una vez colocado el capuchón se pintaba de negro con varias capas de pintura acrílica; la pintura se dejaba secar antes de volver a sumergir por completo al acocil en el agua. Mientras ello ocurría, el animal permanecía inmerso en agua helada hasta un nivel suficiente para que le cubriera las branquias.

La supresión de la visión comenzó el 15° día de registro y abarcó hasta el 19°. Se procedía entonces al retiro de los capuchones, previa anestesia por frío.

El registro continuó de manera normal a partir del 20° día.

Serie B

Para estos experimentos se utilizaron cuatro triadas de acociles. Los animales de cada triada se cegaron (en la forma ya descrita) desde el día anterior al inicio del registro y en esas condiciones permanecieron durante los 10 días que se realizó la medición.

ii) Bloqueo del sistema olfatorio

Serie A

El efecto de la supresión temporal de la actividad del sistema olfatorio sobre el comportamiento agonista del acocil se evaluó en cuatro triadas mediante la reducción reversible de la sensibilidad olfatoria de las anténulas, obtenida por el lavado e inmersión de ellas en agua bidestilada durante 10 minutos (Karavanich y Atema, 1991). El lavado se realizó en los 30 minutos previos a cada uno de los registros de comportamiento agonista durante cinco días consecutivos a partir del 15° día de registro.

Los registros continuaron de manera normal a partir del 20° día.

Serie B

Para estos experimentos se utilizaron cinco triadas de acociles. El lavado de anténulas se realizó de la misma forma que en la *Serie A*, pero desde el primer día de registro y durante los siguientes 9 días.

Microscopía electrónica de Barrido

Se sabe que el lavado de anténulas modifica la respuesta conductual de langostas (Karavanich y Atema, 1991) y se ha propuesto que ello se debe al shock osmótico producido por la propia agua bidestilada. Sin embargo, no encontré publicado ningún trabajo sobre cambios en la estructura de las anténulas que se pueda correlacionar con el lavado. Por ello decidí hacer un estudio de microscopía electrónica de barrido buscando alteraciones en la estructura antenular que se pudieran relacionar con los cambios conductuales.

Para ello seccioné la anténulas de animales control y de animales a los que se les había realizado el lavado con agua bidestilada durante 5 días consecutivos.

El estudio de las anténulas de acocil en microscopía electrónica de barrido fue hecho por **Jorge Sepúlveda** en el **Laboratorio de Microscopía Electrónica** del **Instituto de Fisiología Celular** de la **UNAM**. El procedimiento usado fue el siguiente: las anténulas completas se procesaron de acuerdo con la técnica propuesta por Steullet y cols., (2000), que consiste en lo siguiente: fijar las muestras en glutaraldehído al 2.5%, paraformaldehído al 1% y sacarosa al 10% en amortiguador de fosfato (PBS) 0.2 M, pH 7.4; deshidratar en series graduadas de etanol y acetona absoluta, seguido de inmersión en dimetoxipropano. Los flagelos se montaron en un dispersor con secado al vacío y se cubrieron con oro-carbón (Desk II sputter coater; Denton Vacuum, Moorestown, NJ) y se examinaron con un microscopio de barrido (Jeol JSM-5210LV). Todos los reactivos fueron grado ME (Sigma).

IV.- Resultados

a) **Controles**

Serie A y B

Los experimentos control se realizaron en animales intactos. Para cada experimento, los acociles eran colocados en el tanque de registro y se mantenían separados por medio de unas barreras de plástico, que permitían la interacción visual y química pero evitaban cualquier contacto físico. En estas condiciones permanecían durante 10 minutos durante los cuales solía presentarse una conducta exploratoria y en ocasiones alguno de los acociles cruzaba las barreras que lo separaban de los otros dos, por lo que de inmediato era regresado a su propio compartimento usando pinzas metálicas para ello.

Transcurridos los 10 minutos se retiraban las barreras, lo que permitía a los 3 acociles interactuar libremente durante media hora más. Al retirar las barreras plásticas los animales iniciaban recorridos exploratorios en toda la extensión del tanque, resultando ello en encuentros casuales entre los tres animales. En todas las ocasiones el primer contacto fue fortuito y fue el inicio de una interacción agonista.

Cada encuentro agonista estuvo constituido por varios enfrentamientos, que consistieron en contactos de duración variable. En todos los casos el primer enfrentamiento fue el de mayor duración ($\approx 30 - 60$ s) e intensidad, y conforme transcurrieron los 30 minutos hubo una reducción en ambas variables. El número de enfrentamientos cambió con el transcurso de los días, lo cual queda implícito en el número de contactos positivos que aparece en la **figura 10**.

CONTROL
(Serie A)

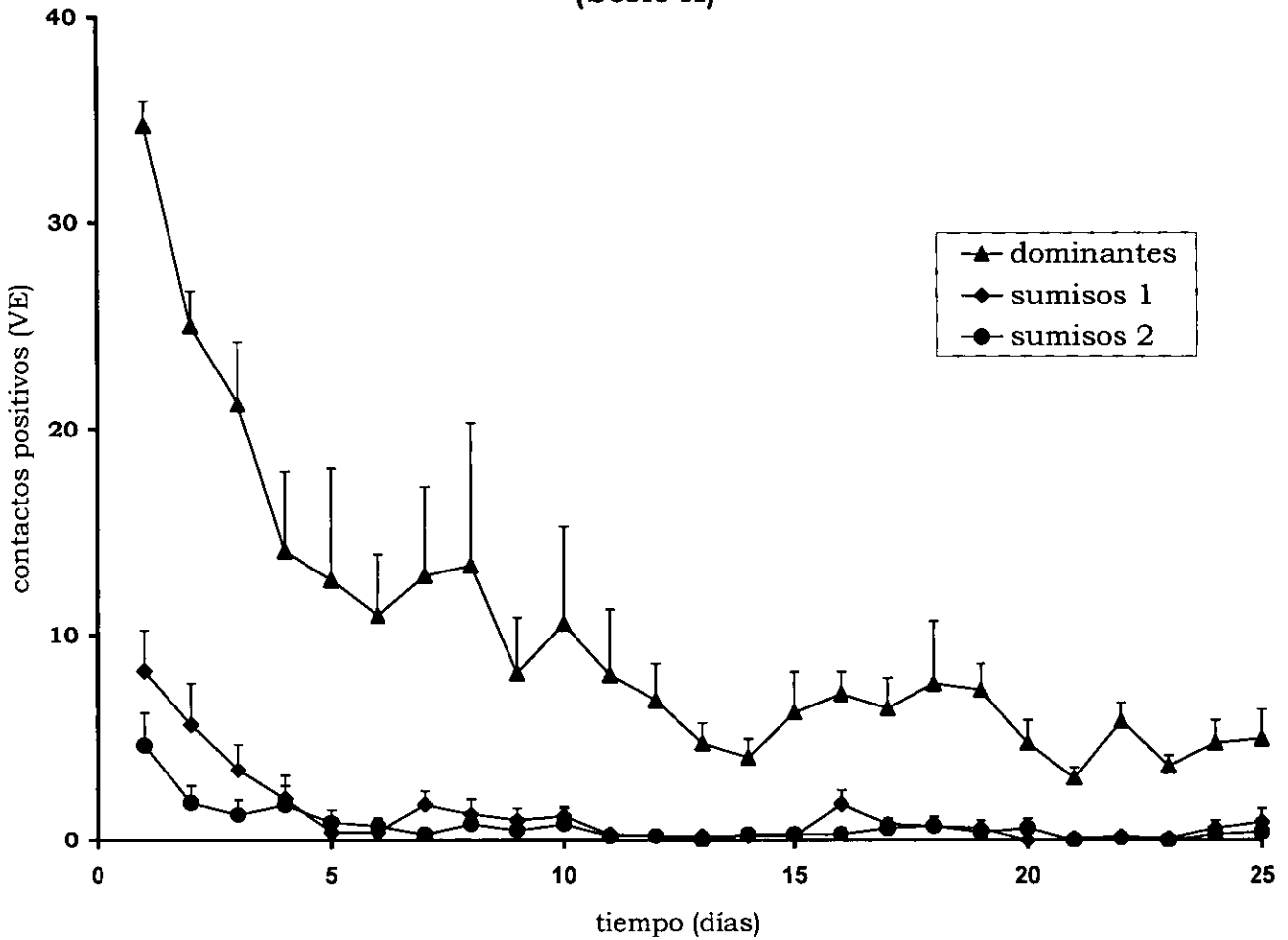


Fig. 10. - Interacciones agonistas promedio para 4 triadas de acociles registrados durante un periodo de 25 días consecutivos

El primer encuentro agonista se caracterizó por contactos con abundantes empujones, sujeciones, golpes en la región cefalotorácica e intenso batir de antenas y anténulas, las que también se usaron para "tocar" y "golpetear" sobre el contrario. El animal que se convertiría en dominante solía enfrentar a un contendiente, empujarlo y alejarlo lo suficiente para girar y enfrentar al otro de sus conespecíficos, alternando el encuentro entre sus dos oponentes. Los enfrentamientos entre los dos animales sumisos fueron escasos y la mayoría se dieron entre el

dominante y los sumisos. Después del primer encuentro observé diferencias sutiles en el desplazamiento de los animales. Dos de ellos solían "arrastrarse" pegando el abdomen en el fondo del tanque y con las quelas levantadas apenas lo suficiente para no arrastrarlas, las antenas se deslizaban lentamente en amplios arcos que al chocar con alguna pared parecían "tocar" y "buscar" los contornos. Al mismo tiempo las anténulas se movían en forma rápida y frecuente, en sacudidas alternantes de cada par. El tercer animal solía caminar sobre las puntas de las patas ambulatorias; con el abdomen levantado y las quelas a la altura del rostrum. En la mayoría de los casos durante el primer día hubo el mayor número, intensidad y duración de los encuentros agonistas, los que se suspendieron transcurridos 30 minutos por el retiro de los contendientes.

Las interacciones agonistas en los primeros 5 días de registro usualmente comenzaban con amenazas, que consistían en aproximaciones hacia el otro llevando las quelas elevadas (a la altura del rostrum) y que derivaban en ataques mutuos, donde podía observarse que alguno de los acociles sujetaba uno de los apéndices de su conespecífico, o a los dos contendientes sosteniendo intercambios de contactos realizados con alguna de las quelas. Al final uno de los acociles se retiraba rápidamente con una enérgica flexión del abdomen o con un movimiento rápido de los apéndices locomotores. Solamente en contadas ocasiones observé actividades de persecución del dominante hacia uno de los sumisos pero nunca entre estos últimos.

Debido a que el número de contactos de tensión variaba mucho entre un lote y otro, los datos obtenidos para cada lote se normalizaron

con respecto al **Valor Esperado** (p. 33). Esto me permitió comparar los diferentes lotes usados y promediar los resultados para cada una de las condiciones experimentales que se realizaron.

La cantidad, así como la intensidad de los contactos disminuía después del primer día de registro para estabilizarse luego del **5° día**, los valores **promedio** de los **organismos dominantes control** de la **serie A** en el **segundo día** de muestreo disminuyeron su número de interacciones agonistas positivas en un **28%** con respecto al primer día, en el tercer día la disminución fue de **39%**, el cuarto día fue de **60%** y los demás días los valores porcentuales oscilaron entre **65%** y **90% menos respecto al día inicial**. A partir del quinto día las interacciones agonistas consistían en amenazas y algunos ataques aislados que por lo regular terminaban con el retiro del acocil sumiso. La iniciativa para comenzar cualquier interacción agonista siempre dependía del acocil dominante, y por lo general la actividad de los sumisos se presentaba como respuesta a la agresión ejercida por el acocil dominante.

En la **figura 10** se muestran los valores promedio (\pm Error Estándar) para los animales control. Los datos corresponden a 4 lotes diferentes registrados entre febrero y junio de 1998. Nótese la variación en los valores de **error estándar** (**5.4** el quinto día de muestreo y hasta **6.9** el octavo día para los organismos dominantes) durante los primeros 10 días de registro y la estabilización de los mismos, y del orden de dominancia, a partir del 5to día. La estabilidad de la jerarquía se mantuvo constante a lo largo de los 25 días de registro y cuando llegó a cambiar coincidió con la muerte del animal que era dominante.

**CONTROL
(Serie B)**

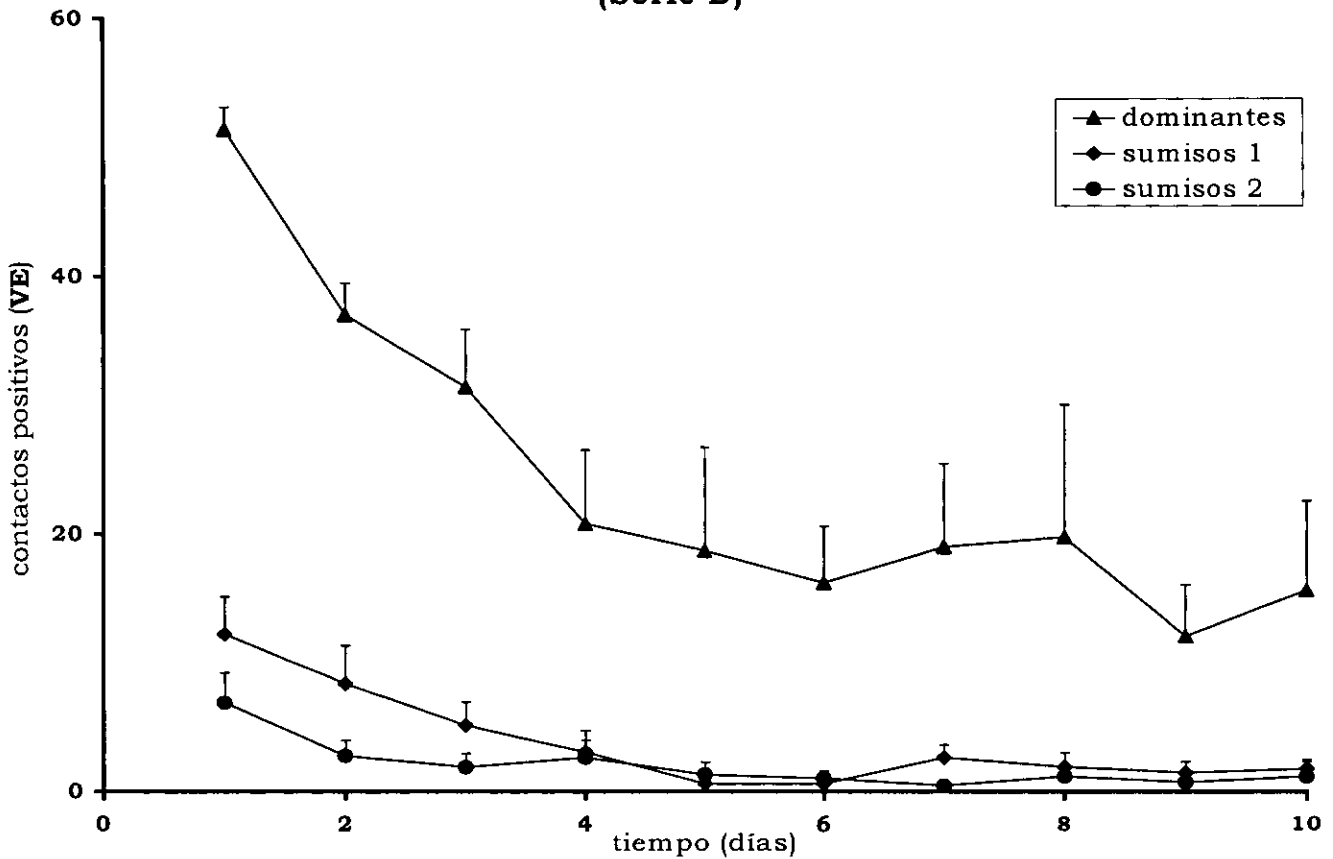


Fig. 11.- Interacciones agonistas promedio para 4 triadas de acociles control durante 10 días consecutivos.

Los datos utilizados para las gráficas control de la **Serie A** y **B** son los mismos, no obstante, existe un incremento en los valores esperados de la serie B (**fig. 11**). Esto se debe a la ponderación utilizada, ya que el número de interacciones que se tomaron en cuenta para los muestreos de la **serie A** (que abarcan 25 días) es mayor que los utilizados para los muestreos de la **serie B** (que sólo duraron 10 días), y esto trae como consecuencia que exista una diferencia de 10 puntos porcentuales entre ambas gráficas. El perfil de las interacciones agonistas a lo largo del tiempo es el mismo en la **serie A** y en la **serie B**.

Estos resultados muestran que el orden de dominancia, y la restante distribución jerárquica -sumiso 1, sumiso 2- se establece desde el primer día de registro, se mantiene estable durante el resto del tiempo de observación, y parece depender fundamentalmente de la actividad agonista del animal dominante.

b) Bloqueo del sistema visual

Serie A

La evaluación del papel de la visión en el comportamiento agonista del acocil se hizo en cuatro triadas. Estas se manejaron de acuerdo con el protocolo de los animales control durante los primeros 14 días de registro. A partir del 15° día se bloqueó, de manera temporal y reversible, la visión de todos los acociles de la triada durante cinco días consecutivos.

Durante los cinco días que duró la supresión de la información visual se observaron cambios en el comportamiento de los acociles, pero las mayores diferencias se encontraron en el animal dominante. Cuando los animales eran colocados en el tanque de registro, permanecían inmóviles por un tiempo prolongado. Solamente el animal dominante realizaba exploraciones esporádicas del entorno, usando para ello, las quelas y las antenas. Sin embargo, la cantidad e intensidad de esta actividad fue menor que en los días previos.

La poca actividad del animal dominante llevó a un menor número de encuentros con sus conoespecíficos, lo que se tradujo en interacciones agonistas aisladas en las que sólo hubo golpes sobre el cefalotorax o el abdomen. La respuesta de los acociles sumisos consistió en retirarse. En ningún caso observé que los animales ciegos sostuvieran una lucha, entrelazaran las quelas o atraparan una extremidad del contendiente; tampoco se presentaron persecuciones.

En al **figura 12** se muestran los valores promedio de los 12 animales utilizados (4 dominantes y 8 sumisos). Los primeros 14 días de registro muestran un patrón similar al de los registros control (**fig. 10, pag. 38**) resultando en una clara relación entre las 3 condiciones jerárquicas. El bloqueo de la visión (día 15) redujo el número de contactos positivos en casi un **58%** con respecto al día anterior en el caso del animal dominante y prácticamente anuló cualquier respuesta agresiva por parte de los sumisos, durante todos los días que se mantuvieron ciegos.

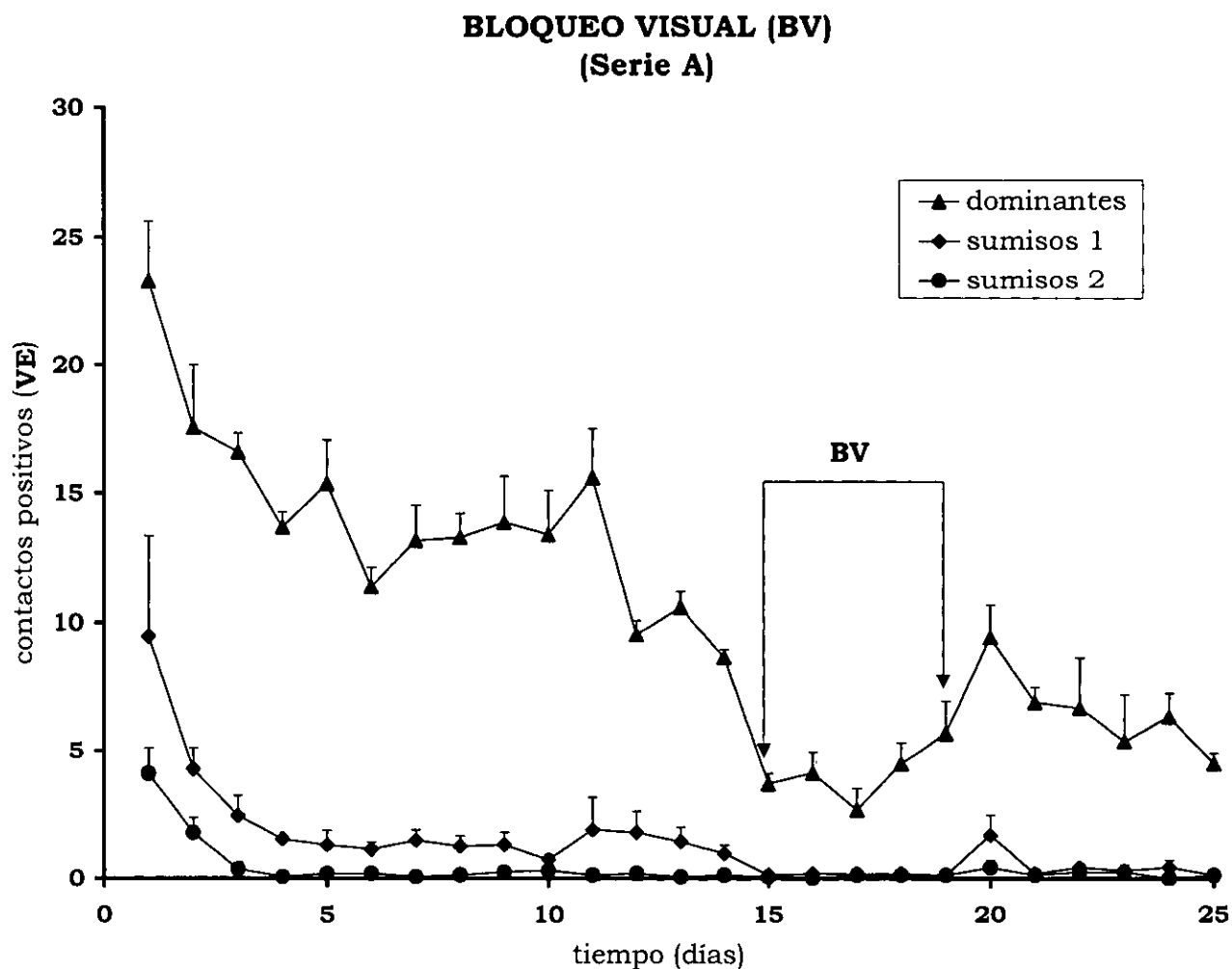


Fig. 12.- Interacciones agonistas promedio para 4 triadas de acociles ciegos (BV) durante 5 días consecutivos (flechas).

Después de realizar el registro del día 19, todos los acociles del lote fueron de nuevo anestesiados por frío para retirar los capuchones de sus ojos. Terminado esto, los animales eran regresados a su tanque individual y al siguiente día fueron registrados de manera normal. El cegamiento transitorio no provocó daño alguno al ojo, pues la pseudopupila estaba presente y de gran tamaño y los animales reaccionaron de manera normal a objetos en movimiento.

**EFFECTO DEL BLOQUEO VISUAL
(serie A)**

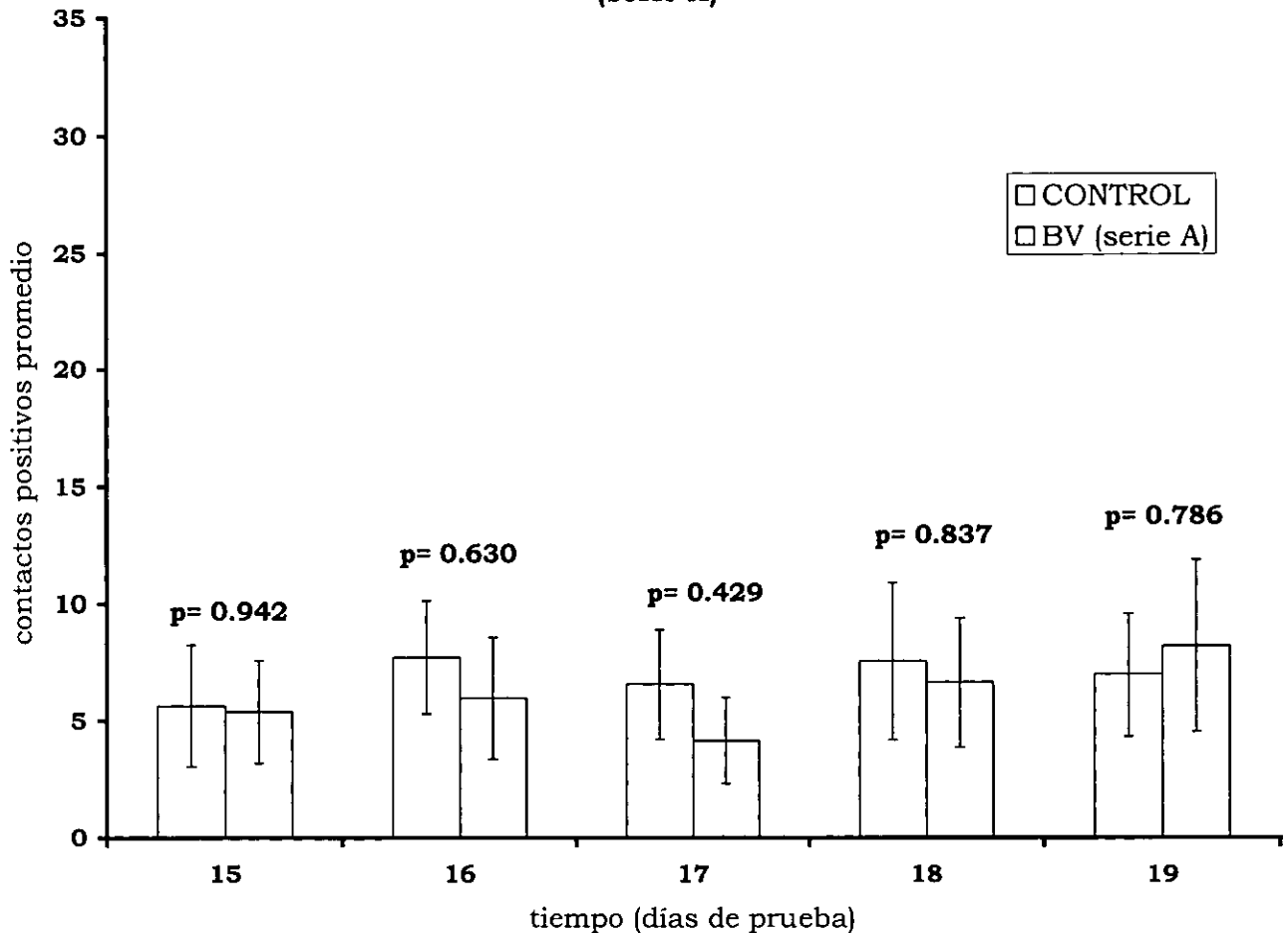


Fig. 13.- Comparación realizada con una prueba T de Student para los valores de los organismos dominantes de los lotes Control y los de Bloqueo Visual (BV) de la Serie A.

La recuperación de la visión, al día 20°, resultó en un incremento en el número de contactos positivos hasta alcanzar los niveles anteriores a la manipulación experimental.

Los datos que se obtuvieron con esta manipulación experimental fueron analizados previamente con una prueba de **Levene**, la cual encontró una igualdad entre las varianzas de los valores control y experimental para la condición jerárquica de dominante. Después se aplicó una prueba **T de Student**, para verificar la existencia de diferencias significativas entre los valores medios de los organismos control y de los sometidos al Bloqueo Visual (**fig 13**). Como puede verse en la gráfica, los resultados arrojados por esta prueba indican que durante los días de prueba **no existen diferencias significativas entre los valores control y el tratamiento.**

día	t	° de libertad	p
15	0.073	22	0.942
16	0.489	22	0.630
17	0.805	22	0.429
18	0.208	22	0.837
19	-0.274	22	0.786

Serie B

Los resultados de los experimentos de la *Serie A* mostraron que la falta de información visual no afecta, de manera significativa, la número de interacciones agonistas y tampoco modifica el orden de dominancia. Sin embargo, este experimento no aclara si la visión es importante para el establecimiento del orden de dominancia, que ocurre en los primeros días

de interacción. Por ello decidí hacer una serie experimental en la que los acociles estuvieran cegados, en forma reversible, desde el inicio de las interacciones agonistas. Con este fin aislé 4 triadas de acociles a las que cegué (en la forma ya descrita) 24 horas antes del primer encuentro agonista y que permanecieron en esta condición durante 10 días consecutivos.

En términos generales los 3 acociles de cada triada mostraron un elevado nivel de actividad locomotora durante los primeros 10 minutos en el tanque de registro.

BLOQUEO VISUAL (Serie B)

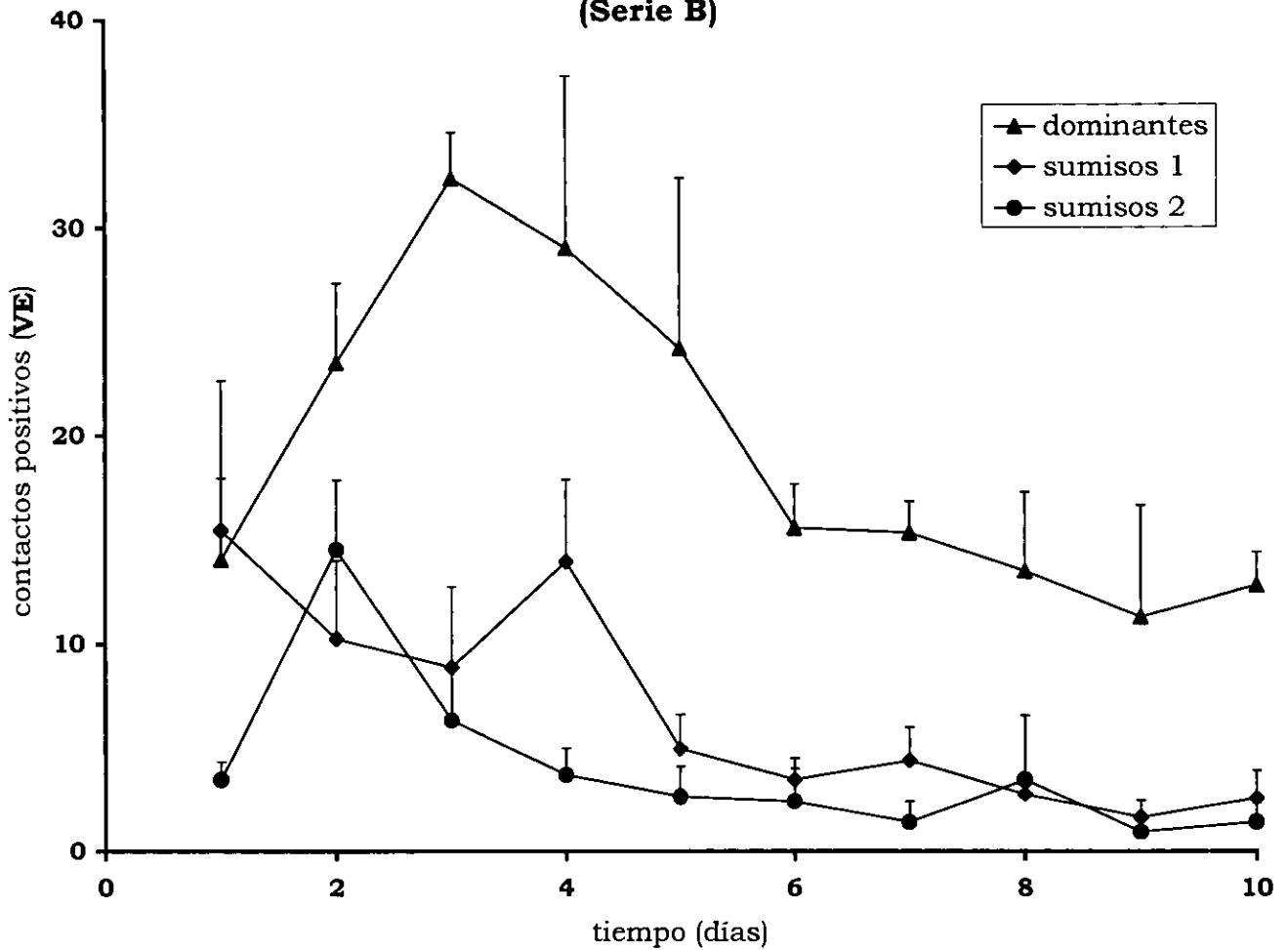


Fig. 14.- Interacciones agonistas promedio para 4 triadas de acociles cegados de manera reversible desde el inicio durante 10 días consecutivos

El retiro de los divisores significó una mayor área de exploración para los tres animales y esto desembocó en encuentros fortuitos entre ellos. Los encuentros agonistas fueron distintos de los observados en los animales control e incluso también presentan diferencias con los del Bloqueo Visual de la serie A. Las interacciones fueron intensas, con múltiples golpes, empujones y retiros.

La dominancia no se definió claramente en el primer día de registro y se presentaron cambios en el orden de dominancia en los primeros 2 días (**fig. 14**). El número de contactos para la condición de dominante aumentó, en promedio, para el segundo y el tercer día de registro (**67%** y **130%** más respectivamente, con respecto al valor del primer día). Si tomamos el número de interacciones del primer día, podemos observar que para los organismos dominantes, el nivel de actividad agonista permaneció elevado los últimos 5 días de registro: para el quinto día se presentó un incremento del **10%**, el sexto día el aumento fue de un **9 %**, el séptimo día solo se presentó una disminución del **5%** y los últimos dos días el decremento fue de solo **20** y **10%** respectivamente.

Estos resultados contrastan en forma notable con los experimentos control (**fig. 11, pag. 40**), en donde las interacciones agonistas muestran una reducción progresiva del número de interacciones promedio a lo largo del tiempo. Resaltan dos hechos importantes, la inversión en el orden de dominancia que ocurre el segundo día de registro y el nivel de actividad que se mantiene elevado durante los 10 días de registro, principalmente para los animales dominantes pero también en menor grado, para los sumisos, sobre todo los primeros 4 días. Otro hecho importante fue la variación de los datos entre los 4 lotes estudiados, que trajo como consecuencia que se obtuvieran valores muy elevados de error estándar, los cuales oscilaron entre **16.7** y **39.4**. Esto imposibilitó un análisis más profundo de los resultados, como el realizado con los lotes de Bloqueo Visual de la serie A.

c) Bloqueo del sistema olfatorio

Serie A

El papel del sistema olfatorio en la conducta agonista del acocil se evaluó en cuatro triadas de animales. Cada una de ellas se manejó de acuerdo con el protocolo relatado en la sección control durante los primeros 14 días. La parte experimental se realizó durante cinco días consecutivos contados a partir del 15° día de registro y consistió en reducir la sensibilidad química de las anténulas de cada animal mediante el lavado de estos apéndices durante los 30 minutos previos al inicio de la sesión de registro.

El lavado de anténulas se realizó con agua bidestilada y ultrafiltrada; se ha reportado que esta maniobra reduce de manera importante la sensibilidad de los quimiorreceptores localizados en estos apéndices a las sustancias liberadas por los contendientes (Karavanich y Atema, 1991). Inmediatamente después del lavado, los animales eran colocados en el tanque de registro para que sostuvieran un encuentro agonista.

Como lo mencioné antes, a los quince días de registro el orden de dominancia ya está firmemente establecido y los niveles de actividad son bajos (**figura 10, p. 38**). El lavado de las anténulas produjo un cambio brusco en los niveles de actividad pero no en la jerarquía. Como resultado del lavado de anténulas, el número de contactos positivos se incrementó bruscamente y alcanzó niveles similares a los del primer día de registro (**figura 15**).

BLOQUEO OLFATORIO (BO) (Serie A)

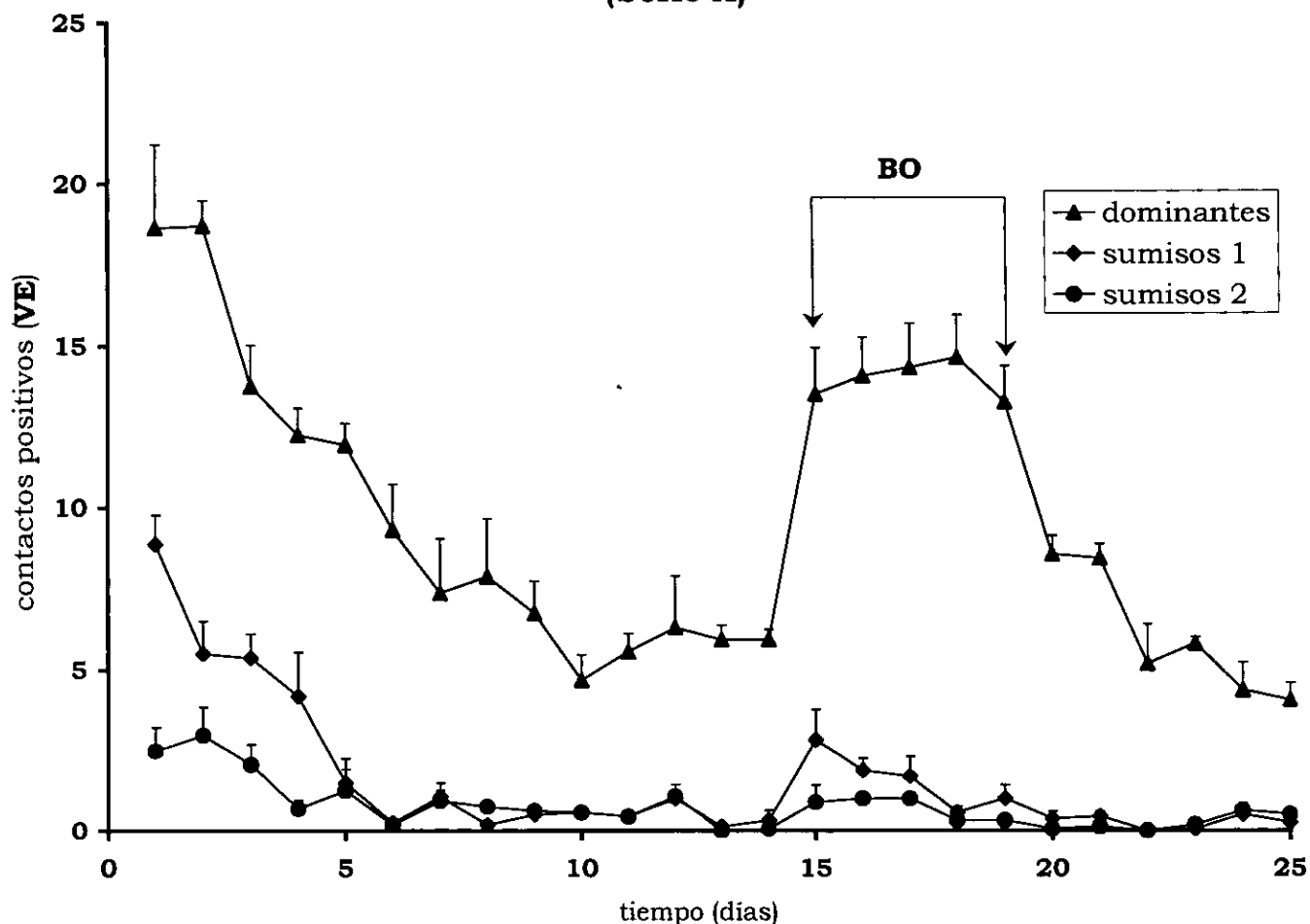


Fig. 15.- Interacciones agonistas promedio para 4 triadas de acociles sometidos a un periodo de reducción de su sensibilidad olfatoria (BO).

Los valores obtenidos fueron máximos durante los días de lavado y se redujeron lentamente al cesar las manipulaciones, a partir del día 20, retornando a los valores previos al tratamiento hacia los 23 días de registro.

En la **figura 15** se muestran los resultados obtenidos cuando se bloquea la olfacción a partir del día 15. Hubo un aumento notable de las

interacciones agonistas del acocil dominante (\blacktriangle), cuyos valores se elevaron al nivel de actividad que se presentó el primer día de registro. Si se toma como base el valor del día previo al tratamiento puede verse que el incremento de las interacciones agonistas fue de entre **146%** (día 18) y un **42%** (día 19) con enfrentamientos largos e intensos durante los cinco días que duró el tratamiento.

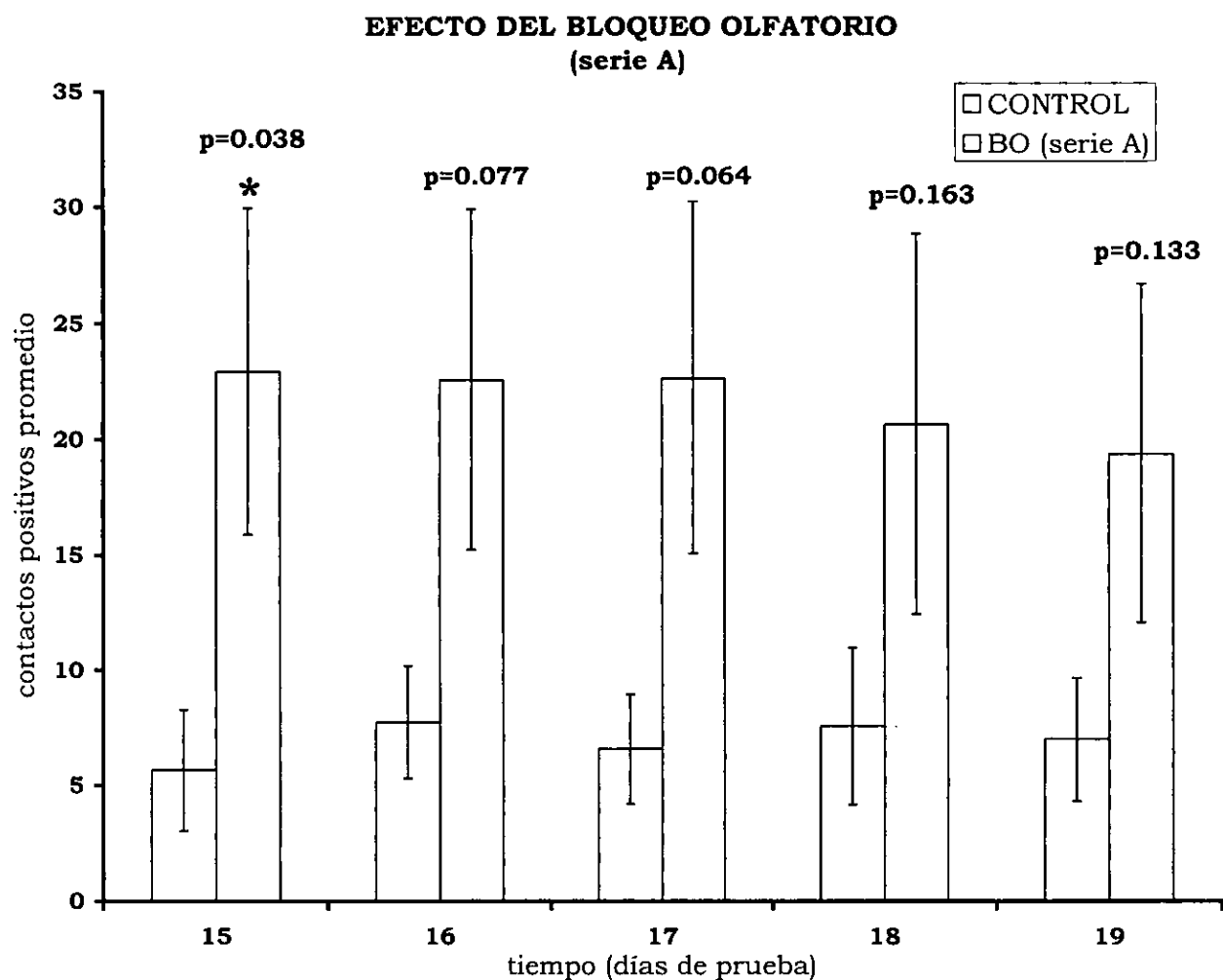


Fig. 16.- Comparación realizada con una prueba T de Student para los valores de los organismos dominantes de los lotes Control y los de Bloqueo Olfatorio (BO) de la Serie A.

El tipo de actividad del acocil dominante fue muy similar al observado los primeros días de registro: amenazas, sujeción de alguno de

los apéndices, golpes sobre el cefalotórax con las quelas cerradas, golpeteo de las antenas sobre el contendiente, una mayor frecuencia de persecuciones alrededor y a lo largo del tanque y retiros rápidos con la flexión del abdomen por parte de los acociles sumisos. La respuesta defensiva de los acociles subordinados a la "inusual" conducta agresiva del acocil dominante trajo como consecuencia también un aumento discreto en el número de contactos positivos de los sumisos, como puede verse en la **figura 15**.

Los datos que se obtuvieron con esta manipulación experimental también fueron analizados con una prueba **T de Student** para verificar la existencia de diferencias significativas entre los valores promedio de los organismos dominantes, tanto control como los sometidos al Bloqueo Olfatorio; debido a la variación de los datos **se asumió la desigualdad de las varianzas** con la consiguiente disminución de los grados de libertad para esta prueba. Como puede verse en la **figura 16**, los resultados de esta prueba indican que sólo existen diferencias significativas entre los valores control y los del Bloqueo Olfatorio de la Serie A durante el primer día del tratamiento.

día	t	° de libertad	p
15	-2.297	13.978	0.038
16	-1.917	13.389	0.077
17	-2.021	13.113	0.064
18	-1.470	14.648	0.163
19	-1.596	13.861	0.133

A partir del 20° día los registros continuaron de manera normal. No obstante la recuperación de las capacidades olfativas fue gradual (**figura 15**), pues el número de interacciones agonistas se mantuvo elevado y no fue sino hasta el día 22 que regresó a los valores previos al tratamiento.

Serie B

La falta de información olfatoria desde el 1^{er} día de interacción tuvo efectos desde los primeros 10 minutos en que los animales compartieron el tanque de registro. A diferencia de lo observado en los animales control, en los anósmicos la actividad exploratoria se redujo en forma considerable. Sin embargo, al retirar los divisores de plástico ocurrieron interacciones agonistas intensas. Abundaron los golpes, desplazamientos y enlaces con las quelas. Los tres animales pelearon casi por igual pero al cabo de 30 minutos surgió un animal dominante.

De igual forma que con lo ocurrido en los experimentos de Bloqueo Visual de la serie B, en estos también se presenta una modificación al perfil de actividad observado en los lotes control. El número de interacciones positivas se mantiene con fuertes incrementos los días 5 y 6 (con aumentos respecto al valor del primer día de un **53%** y **94%** respectivamente) así como un nivel de actividad elevado y sostenido, lo que contrasta con la disminución progresiva de los experimentos control (**fig. 11, pag. 40**). La gran variabilidad de los datos y los amplios valores de error estándar (el más bajo de **20.9** para el primer día hasta el más alto de **53.4** para el día 6) no permitieron un análisis estadístico con mayor profundidad; sin embargo, es claro que el tratamiento perturbó de manera importante el comportamiento normal de estos animales.

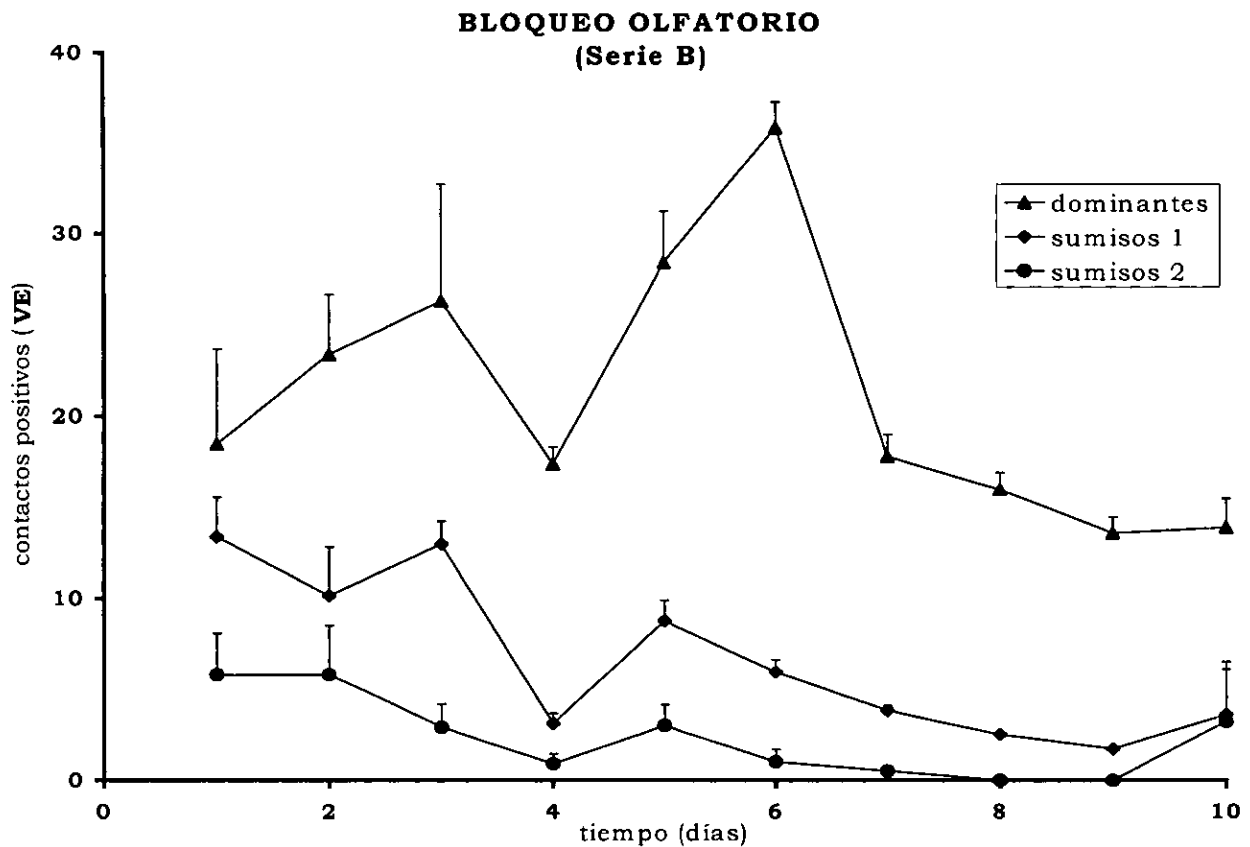


Fig. 17.- Contactos positivos promedio para 5 triadas de acociles anósmicos (BO) desde el primer día (Serie B).

Los resultados obtenidos en los registros de conducta indican que cuando la jerarquía ya está establecida (Serie A), la pérdida transitoria de la sensibilidad olfatoria induce un aumento en la agresividad del acocil dominante que se traduce en un mayor número de interacciones agonistas contra sus conespecíficos, sin embargo, no se modifica el orden ya establecido. Por otro lado, cuando aún no se ha establecido la jerarquía de dominancia-sumisión, la falta de sensibilidad olfatoria incrementa la agresividad en los tres animales y dificulta el establecimiento del orden de dominancia. No obstante, la jerarquía se establece, aunque no con la misma estabilidad que en los controles.

Microscopía electrónica de barrido:

Con el propósito de correlacionar los cambios conductuales observados con el lavado de anténulas realicé un estudio de microscopía electrónica de barrido. El lavado antenular redujo la abundancia de las ramificaciones que se encuentran en los estetascos de la anténula. En la **figura 18** se compara la misma región (cercana al pedúnculo antenular) de la anténula de un animal control (A) en la de uno experimental (B) después de 5 días de lavado con agua bidestilada y ultrafiltrada. Los pelos olfatorios están reducidos en número y extensión. El resto de la anténula no mostró cambios.

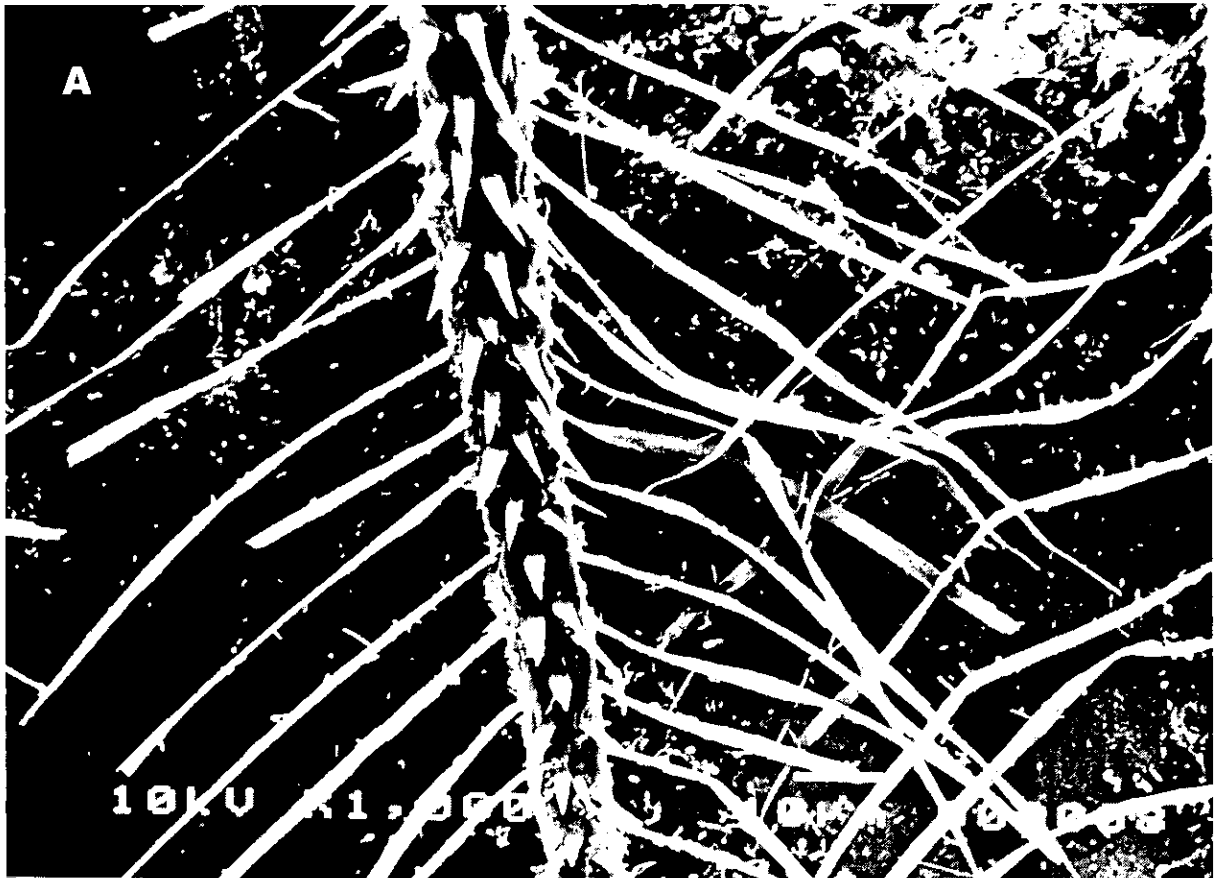


Fig. 18A.- Imagen de microscopía electrónica de barrido donde se muestra un estetasco normal.



Fig. 18B.- Imagen de microscopía electrónica de un estetasco después de 5 días de lavado con agua bidestilada. Nótese la reducción en el número y extensión de los pelos olfatorios sobre el estetasco.

V.- Discusión

a) Controles

No es mucho lo que se conoce en cuanto a la conducta del acocil en condiciones naturales. Los pocos reportes disponibles indican que se trata de un animal solitario y territorial que pasa la mayor parte del tiempo en su refugio (Bruski y Dunham, 1987). Las interacciones de este animal con sus congéneres ocurren principalmente durante la búsqueda de alimento y en el apareamiento. Es indudable que los estudios de laboratorio introducen variables cuyo número y tipo, además de desconocidas, pueden iniciar conductas atípicas. No obstante, los análisis en espacios confinados son nuestra principal fuente de información en los intentos por correlacionar la conducta del acocil con las entradas sensoriales, pues en estas condiciones, es posible controlar el flujo de información que recibe un animal. Por esta razón es que los primeros experimentos se enfocaron en obtener un patrón confiable del comportamiento del acocil durante las interacciones agonistas, con el cuál comparar las manipulaciones experimentales que usé.

El patrón que obtuve no difiere en forma notable al reportado por otros autores (Bobvjerg, 1953; Huber y Kravitz, 1995; Karavanich y Atema, 1998a) bajo condiciones que no necesariamente son las mismas (número de organismos empleado, duración de los encuentros, intervalos entre cada medición, etc.). El protocolo utilizado que incluye triadas de animales y registros diarios durante cerca de un mes, es poco común, pues en la mayoría de los casos se usan 2 animales por periodos de hasta una semana (Karavanich y Atema, 1998a; Kaplan y cols., 1993). La

observación de los animales por periodos largos permite simular las condiciones de estos organismos en la naturaleza y conocer mejor la organización social (Copp, 1986).

Varios hechos llaman la atención en el grupo control: una intensa actividad exploratoria observada a lo largo de los 25 días de registro; el establecimiento de una jerarquía desde el primer día; y la estabilidad de las relaciones en cada triada.

Una conducta común en diversos grupos de animales es la exploración de su entorno. Se ha observado que los acociles exploran un espacio que es nuevo mediante el uso de las antenas como detectores, (Varju y Sandeman, 1989; Cromarty y cols., 1999) de manera que "reconocen" todas las características del espacio al recorrerlo constantemente. Resulta interesante que al ser colocados en el tanque de registro y luego al retirar los divisores todos los animales usados realizaran esta actividad prácticamente sin cambios a lo largo de 25 días. La disposición de los divisores fue constante, por lo que la geometría espacial de la experiencia diaria no cambió. Es decir, el tanque de residencia es distinto al de registro y el tiempo pasado en éste es insuficiente para "reconocerlo" como propio (Cromarty y cols., 1999), no obstante que la estancia en él se haya repetido diariamente por 25 días. La actividad exploratoria continua pone en claro que la memoria espacial requiere de reforzamientos en intervalos menores a 24 horas, de estancias mayores o de ambas cosas para considerar un sitio como "su" espacio.

Este hecho contrasta en forma notable con el establecimiento del orden de dominancia, donde otros factores se ponen en juego. A partir del primer día de registro y desde el momento en que los 3 acociles se encuentran en el mismo tanque (aún con los divisores puestos) cada animal es capaz de detectar las vibraciones producidas por el desplazamiento de los otros dos, pues todos poseen los mecanorreceptores apropiados para ello (Taylor, 1968). Al retirar los divisores, el deambular de los animales era del mismo tipo (ambas quelas a la altura del rostrum, el abdomen extendido, las antenas moviéndose en amplios arcos y tocando las paredes del acuario y las anténulas moviéndose a sacudidas breves) y no había detalle alguno que señalara al que sería el animal dominante. Este aparece después de una serie de encuentros agresivos que son más rituales que realmente lesivos.

La aparición de la jerarquía ocurre en un tiempo de menos de 30 minutos pero genera cambios de largo plazo en la conducta global de cada individuo. Además de los cambios posturales ampliamente documentados, también existen otros más sutiles de medir, pero no menos importantes, que involucran, entre otros, la alimentación (Kravitz, 2000), la producción de orina (Breithaupt y cols., 1999) y la actividad cardíaca (Hernández-Falcón y Kravitz, 1999). Por otro lado, tanto el animal dominante como los sumisos asumen su lugar en la jerarquía y la probabilidad de que el primero gane un nuevo encuentro con un acocil "desconocido" es mayor que para los sumisos, los cuales suelen rehuir todo nuevo combate (Karavanich y Atema, 1998a).

La aparición del orden de dominancia se liga con la estabilidad de tal relación. El animal dominante lo es durante todo el tiempo de registro

y los sumisos no representan, en condiciones normales, ninguna amenaza a su posición. Esta dominancia es reforzada día con día al ser este animal el que inicia cualquier tipo de interacción agonista, de la que invariablemente resultará triunfador. La estabilización del orden de dominancia implica una reducción en los niveles de agresividad de los contendientes, sobre todo del animal dominante, lo que se refleja en una reducción en el número de interacciones entre los animales. A partir del quinto día de registro, el nivel de agresión es el mínimo necesario para mantener la jerarquía, treinta minutos diarios de interacción bastan para mantener tal organización. En mis condiciones de registro, encontré modificaciones en la posición jerárquica del animal dominante sólo cuando éste estuvo próximo a la muerte pues en ese momento el segundo en la jerarquía tomaba la posición dominante, independientemente del grado de dominancia previo.

b) Bloqueo visual

En su constante patrullar por el tanque de registro, el acocil dominante inevitablemente se encuentra en la cercanía de uno de los animales sumisos. El animal dominante inicia entonces dos tipos de acciones que parecen depender de la información visual disponible: eleva las quelas (amenaza) y se desplaza sobre su contendiente, intentando golpearlo. El animal sumiso también parece emplear la visión, además del tacto, para detectar ambas acciones y preparar la defensa.

Parece poco probable que en un animal con visión pobre las señales a distancia, es decir visuales, pudieran tener alguna utilidad durante las interacciones agonistas, independientemente de la posición jerárquica que éste tenga. En el aspecto visual el acocil es todo lo contrario. La presencia de fotorreceptores altamente sensibles a la luz (Glantz, 1968), capaces de detectar el color dentro de una gama muy amplia de longitudes de onda (Serrato y cols., 1996) con numerosas fibras detectoras de movimiento desde el nervio óptico (Glantz, 1974), y relevos centrales que le permiten discriminar pequeños objetos en movimiento y la presencia de objetos "importantes" (Hernández-Falcón y cols., 1999) parecen implicar a la visión como una modalidad sensorial muy importante desde el punto de vista conductual. Sin embargo diversos estudios han puesto a la visión no en un segundo plano durante los encuentros agonistas sino como poco importante o aún inútil (Kaplan y cols., 1993). Los dos protocolos de trabajo que usé permitieron poner en claro que los acociles sí usan la visión durante los encuentros agonistas. Así, en la Serie A los primeros 15 días permitieron confirmar que cada

triada se comportaba como los controles y a partir de este momento manipulamos la información visual de los animales.

Una vez establecida la jerarquía de dominancia-sumisión, es posible esperar varias cosas con respecto a la información visual:

- 1) Si los animales usan en forma importante la visión para ubicarse en el espacio deberán reducir su actividad exploratoria cuando están ciegos.
- 2) Si la visión es empleada para identificar al conoespecífico como sumiso, al ser cegado el animal dominante se encontrará ante una situación de indefinición y deberá volver a pelear intensamente para ganar su estatus de nuevo. Por otra parte el sumiso estará en condiciones similares y también deberá luchar con intensidad si "desconoce" quien lo ataca.
- 3) Si la visión forma parte del repertorio de entradas sensoriales empleadas para la identificación de conoespecíficos durante las interacciones agonistas, el número e intensidad de ellas deberá reducirse en forma notable en animales ciegos; pero ello también puede significar un cambio en el orden de dominancia si la visión es un factor clave y único de identificación.

Mis resultados apuntan a una mezcla de estas tres posibilidades. Por un lado sí hubo una reducción en la actividad exploratoria que llevó a los animales, particularmente a los sumisos, a permanecer prácticamente inmóviles en el sitio en el que se les había colocado. El animal dominante sin embargo, sí llevó a cabo actividad exploratoria, aunque literalmente "pegado" a las paredes del tanque de registro, donde tenía un punto de

referencia y podía usar los mecanorreceptores de antenas y caparazón para orientarse (Taylor, 1968).

Es éste mismo animal dominante el que se encontrará accidentalmente con alguno de los sumisos, pero ahora no hay despliegue visual alguno y el contacto fortuito mas que traducirse en un encuentro agonista, se transforma en una respuesta de escape por parte del animal sumiso. Pero el escape es errático y en ocasiones lleva al animal sumiso directamente sobre el dominante con lo que se presenta otra y otras respuestas de escape hasta que ambos quedan aislados, separados por más de un cuerpo de distancia entre ellos. La gran reducción en las interacciones, en las que faltan aquellas que implican un despliegue visual, da cuenta de la necesidad de la información para identificar a sus contendientes al menos en sus aspectos topológicos. Pese a esta falta de información el orden de dominancia previamente establecido, se mantiene estable y el retorno de la visión restablece por completo el nivel de interacciones y la calidad de las mismas.

Sin embargo, estos resultados no ponen en claro si la visión es empleada para establecer la jerarquía. Dicho de otro modo, ¿se establece una jerarquía en animales cegados antes de la primera interacción?

Los experimentos de la *Serie B* confirman que la visión es necesaria para establecer y mantener el orden de dominancia. Durante el primer día, hay encuentros intensos cuyo número no decrece en los siguientes 4 días, por el contrario aumenta y aunque siempre existe un animal dominante el nivel de dominancia es bajo e inestable, de ahí el gran número de interacciones entre los contendientes. Los resultados de la

figura 14 (p. 47) muestran que la visión sí es utilizada durante los encuentros agonistas; la falta de esta modalidad sensorial dificulta el establecimiento del orden de dominancia e incrementa el nivel de agresividad de los contendientes, en particular, el del animal dominante hasta el punto que 10 días de interacción no reducen el número de interacciones agonistas más allá del nivel observado el primer día.

Es posible pensar que en animales ciegos la información táctil (que tiene direccionalidad) y la información olfatoria suplieran y dirigieran a los animales hacia sus conespecíficos. Se ha adjudicado un papel protector a la visión en el acocil (Glantz, 1974; Hernández-Falcón y cols., 1999) como detectora de movimiento, capaz de responder a sombras de posibles depredadores que se le aproximan desde arriba. Mis resultados muestran que la función de esta modalidad sensorial va más allá. La visión es necesaria durante el primer encuentro agonista para localizar a los demás conespecíficos del lote y la falta de esta modalidad sensorial debe poner en acción la olfacción y el tacto como elementos determinantes en el establecimiento de la jerarquía de dominancia-sumisión. Por otro lado, la gran actividad exploratoria en los animales de la *Serie B* parece indicar la necesidad de la visión en la ubicación espacial del acocil.

Si la jerarquía ya está establecida, durante el periodo de pérdida de la visión las señales táctiles y olfatorias guían la conducta y mantienen el orden de dominancia. Si aún no hay jerarquía, la información olfatoria y táctil no bastan para reducir el nivel de agresividad pese al establecimiento eventual de una relación jerárquica.

c) Bloqueo olfatorio

El mantenimiento del orden de dominancia en animales ciegos implica que hay otras señales capaces de indicar a cada acocil su estatus en la jerarquía previamente establecida. Dos posibles fuentes de información son la información táctil y la química. Aunque realicé algunos experimentos en acociles fuera del agua (lo que reduce buena parte de la información táctil y anula la química), los cambios funcionales que esta condición implica son tan grandes que los resultados son poco concluyentes. Pese a ello, encontré que todavía hubo despliegue visual pero las interacciones se redujeron en forma notable. La información táctil no explica mis resultados, pues si se empleara ésta en lugar de la visión, no debería encontrar cambios en el número e intensidad de las interacciones. La información química puede ser el factor faltante.

En la langosta (*Homarus americanus*) se ha propuesto que la orina del animal dominante lleva una feromona que al ser detectada por el animal sumiso induce un cambio en su conducta y por consecuencia en su estatus, probablemente liberando o incrementando sus niveles de octopamina, lo que provoca que el sumiso asuma su postura característica (Livingstone y cols., 1980; Karavanich y Atema, 1998b). Se ha demostrado que el establecimiento de la dominancia (en condiciones artificiales) se debe más a un asunto contingente (Salmon y Hyatt, 1983) que a una característica diferencial predeterminada genéticamente. Por otro lado, si dos animales previamente dominantes son enfrentados, el resultado inevitable es que uno de ellos se convierte en sumiso (Bobvjerg, 1953). También se sabe que los animales sumisos dejan de orinar e incluso lo hacen por periodos prolongados (Breithaupt y cols., 1999). Es

decir, uno de los factores identificadores del animal sumiso pareciera ser el cese en la liberación de orina, en tanto el dominante continúa haciéndolo y en ella se libera la supuesta feromona postulada por Karavanich y Atema (1998b). El animal sumiso la identifica y refuerza con ello su estatus de sumisión. Por tanto se puede plantear que un mecanismo no conocido determina al perdedor y como resultado de ello deja de orinar y de producir la supuesta feromona.

Cuando el orden de dominancia está previamente establecido, la anosmia debería incrementar los niveles de agresividad en todos los organismos pues se habría perdido la señal de identidad. Si la anosmia ocurre desde el primer encuentro agonista no se establecería jerarquía alguna y los conoespecíficos pelearían con gran intensidad día con día. Aunque siempre habría un ganador, no habría manera de reconocerlo a través de las señales químicas pues ellas no serían detectadas. Cada enfrentamiento sería igual al primero y habría inestabilidad en el orden de dominancia.

Mis resultados experimentales se asemejan a lo propuesto por Karavanich y Atema (1998b) sobre una señal en la orina que permite identificar la posición jerárquica en los acociles. Cuando tenemos un orden establecido hay un incremento notable de las interacciones en los animales anósmicos. Sin embargo, es necesario destacar que, de nueva cuenta, el animal dominante es el que conduce las acciones. Los animales sumisos no atacan, mas bien se defienden y solamente responden al incremento en la actividad del dominante. Por supuesto que no hay cambios en el orden jerárquico y cuando cesan los lavados y se

recupera la funcionalidad de los quimiorreceptores, los ataques del animal dominante regresan al nivel que tenían antes del tratamiento.

En los animales anósmicos se mantiene el orden de dominancia; es más, tal vez cabría decir que el animal dominante restablece día con día el orden de dominancia pero con el mismo resultado que había antes del lavado antenular: él gana. Cabría pensar que si la sustancia liberada en la orina o la orina misma no es detectada por cada uno de los contendientes, los tres tienen las mismas probabilidades de ganar. Sin embargo, gana el que ya antes era dominante pese a la falta de señales químicas de identificación.

Por otro lado, la información sensorial disponible no parece despertar memoria alguna de los encuentros previos en el animal dominante pues las interacciones que lleva a cabo son intensas. Es hasta que los quimiorreceptores olfatorios vuelven a ser funcionales que el ganador "se entera" de su posición jerárquica y reduce las interacciones agonistas con los demás conespecíficos.

Los resultados obtenidos en los animales anósmicos de la *Serie B* apuntan a favor de esa interpretación. Los animales se detectan visualmente, se amenazan y se sujetan de las quelas, se colocan rostrum frente a rostrum y liberan su orina, pero ninguno de ellos la detecta y la interacción continúa. Las señales químicas parecen participar en el refuerzo de la identidad jerárquica de los individuos. A falta de ellas hay que establecer la dominancia por primera vez aunque el resultado sea el mismo que el del día anterior. La gran dispersión de los valores de la

VI.- Conclusiones

- 1.- *En el acocil adulto Procambarus clarkii, los encuentros agonistas son más de tipo ritual que ocasionadores de daño físico.*
- 2.- *A través de las interacciones agonistas se forma un orden jerárquico estable. Una vez determinado, el orden de dominancia se mantiene sin cambios importantes pese a la falta de información visual u olfatoria.*
- 3.- *Tanto la información visual como la olfatoria son importantes para el establecimiento de un orden jerárquico. La ausencia de cualquiera de estas vías sensoriales dificulta la identificación entre los individuos de una triada.*
- 4.- *Durante las interacciones agonistas se utiliza la información visual y olfatoria para el mantenimiento del orden jerárquico y la falta de alguna de estas modalidades sensoriales no afecta el resultado final de tales interacciones.*

Referencias

- Ache, B. 1982. Chemoreception and thermoreception. En: Bliss, D. (edit.) *The Biology of Crustacea*. Academic Press. Vol. 3: 369-397.
- Antonsen, B. and Paul, H. 1997. Serotonin and octopamine elicit stereotypical agonistic behaviors in the squat lobster *Munida quadrispina* (Anomura, Galatheidae). *J Comp Physiol*. 181: 501-510.
- Arzuffi, A. 1997. Factores determinantes del orden jerárquico en el acocil *Cambarellus zempoalensis*. Tesis. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. 100 p.
- Brusca, R. and Brusca, G. 1990. *Invertebrates*. Sinauer Associates Inc. 922 pp.
- Bernstein, I. 1984. The Adaptive Value of Maladaptive Behavior, or You've Got to be Stupid in Order to be Smart. *Ethology and Sociobiology*. 5: 297-303.
- Bovbjerg, R. 1953. Dominance order in the crayfish *Orconectes virilis* (Hagen). *Physiol. Zool*. 26: 173-178.
- Breithaupt, T., Lindstrom, D. and Atema, J. 1999. Urine release in freely moving catheterised lobster (*Homarus americanus*) with reference to feeding and social activities. *The Journal of experimental Biology*. 202: 837-844.
- Bruski, C. and Dunham, D. 1987. The importance of vision in agonistic communication of the crayfish *Orconectes rusticus*. I: An analysis of bout dynamics. *Behavior*. 103: 83-107.
- Copp, N. 1986. Dominance hierarchies in the crayfish *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) and the question of learned individual recognition (Decapoda, Astacidea). *Crustaceana*. 51(1): 9-24.
- Cromarty, S. 1997. Molting and its influence over agonistic behaviors in the American Lobster. *The Lobster Newsletter*. 1: 8-11.

Cromarty, S., Mello, J. and Kass-Simon, G. 1999. Time in residence affects escape and agonistic behavior in adult male american lobsters. *Biol. Bull.* 196: 105-112.

Drews, C. 1993. The concept and definition of dominance in animal behaviour. *Behaviour.* 125: 283-313.

Fadool, D.A. and Ache, B.N. 1992. Plasma membrane inositol 1, 4, 5,-trisphosphate-activated channels mediate signal transduction in lobster olfactory receptor neurons. *Neuron.* 9: 907-918.

Fadool, D.A. and Ache, B.W. 1994. Inositol 1, 3, 4, 5- tetrakisphosphate-gated channels in olfactory receptors neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91: 9471-9475

Glantz, R. 1968. Light adaptation in the photoreceptor of crayfish *Procambarus clarkii*. *Vision Res.* 8: 1407-1421.

Glantz, R. 1974. Defense reflex and motion detection responsiveness to approaching targets: The motion detector triggers to the defense reflex pathway. *J. Comp. Physiol.* 95: 297-314.

Goessmann, C., Hemelrijk, C, and Huber, R. 2000. The formation and maintenance of crayfish hierarchies: behavioral and self-structuring properties. *Behav. Ecol.. Sociobiol.* 48: 418-428.

Grant, P. and Mackie, M. 1985. Chemoreception in marine organisms. Academic Press. 295 p.

Grier, J. 1984. Biology of animal behavior. Mosby College Publishing. 541 p.

Headstrom, R. 1979. Lobsters, crabs, shrimps and their relatives. Dover Publications. 143 p.

Hernández-Falcón, J. 1989. Estudio del potencial de receptor en células retinulares de acocil. Tesis. Facultad de medicina, UNAM. 69 p.

Hernández-Falcón, J. and Fuentes-Pardo, B. 1991. Crayfish retinular cells: influence of extracellular sodium and calcium upon receptor potential. *Comp. Biochem. Physiol.* 100A (4): 823-832.

Hernández-Falcón, J. and Kravitz, E. 1999. Change in heart rate accompany agonistic encounters in lobsters. Soc. Neurosci. Abstr. 25: 67

Hernández-Falcón, J., Serrato, J. and Ramón, F. 1999. Evoked potentials elicited by natural stimuli in the brain of unanesthetized crayfish. Physiology & Behavior. 66(3): 397-407.

Hildebrand, J.G. and Shepherd, G.M. 1997. Mechanism of olfactory discrimination: converging evidence for common principles across phyla. Annu. Rev. Neurosci. 20: 595-631.

Huber, R. and Kravitz, E. 1995. A quantitative analysis of agonistic behavior in juvenile american lobsters (*Homarus americanus*). Brain Behavior Evolution. 46: 72-83

Kaplan, L., Lowrance, C., Basil, J. and Atema, J. 1993. The role of chemical and visual cues in agonistic interactions of the american lobster. Biol. Bull. 185: 320-321.

Karavanich, C. and Atema, J. 1991. Role of olfaction in recognition of dominance in the american lobster (*Homarus americanus*). Biol. Bull. 181: 359-360.

Karavanich, C. and Atema, J. 1998a. Individual recognition and memory in lobster dominance. Animal Behavior. 56: 1553-1560.

Karavanich, C. and Atema, J. 1998b. Olfactory recognition of urine signals in dominance fights between male lobster, *Homarus americanus*. Behaviour. 135: 719-730.

Kravitz, E. A. 1988. Hormonal control of behavior: amines and the biasing of behavioral output in lobsters. Science. 241: 1775-1781.

Kravitz, E. A. 2000. Serotonin and aggression: insights gained from a lobster model system and speculations on the role of amine neurons in a complex behavior. J. Comp. Physiol. 186: 221-238.

Livingstone, M., Harris-Warrick, R. and Kravitz, E. 1980. Serotonin and Octopamine produce opposite postures in lobsters. Science. 208: 76-79.

- Lorenz, K. 1963. On Aggression. Helen and Kurt Wolff Book. 306 p.
- Mann, J., Arango, V., Marzuk, P., Theccanat, S. and Reiss, D. 1989. Evidence for the 5-HT hypothesis of suicide: a review of post-mortem studies. *British Journal of Psychiatry*. 155: 7-14.
- Manning, A. 1979. An introduction to animal behaviour. Edward Arnold Publishers. 329 p.
- Martin, P., y Bateson, P. 1991. La medición del comportamiento. Alianza Editorial. 237 p.
- Michel, W.C. and Ache, B.W. 1992. Cyclic nucleotides mediate and odor-evoked potassium conductance in lobster olfactory receptor cells. *J. Neurosci.* 12:3979-3984.
- Nilsson, D. 1990. From cornea to retinal image in invertebrate eyes. *TINS*. 13(2): 55-64.
- Otsuka, M., Kravitz, E. A. and Potter, D. 1967. The physiological and chemical architecture of a lobster ganglion with particular reference to gamma-aminobutyrate and glutamate. *J. Neurophysiol.* 30: 725-752.
- Ridley, M. 1995. Animal behavior. Blackwell Scientific Publications. 288 p.
- Salmon, M. and Hyatt, G. 1983. Communication. En: Bliss, D. (edit.) *The Biology of Crustacea*. Academic Press. Vol. 7: 1-40.
- Sandeman, D. 1982. Organization of the Central Nervous System. En: Bliss, D. (edit.) *The Biology of Crustacea*. Academic Press. Vol. 3: 1-61.
- Sandeman, D., Sandeman, R., Derby, C. y Schmidt, M. 1992. Morphology of the brain of crayfish, crabs and spiny lobsters: a common nomenclature for homologous structures. *Biological Bulletin*. 183: 304-326.
- Schram, F. 1986. Crustacea. Oxford University Press. 606 p.

Serrato, J., Hernández, O. H. and Ramón, F. 1996. Integration of visual signals in the crayfish brain. Multiunit recordings in eyestalk and brain. *Comp. Biochem. Physiol.* 114A: 211-217.

Shaw, S. and Stowe, S. 1982. Photoreception. En: Atwood, L. y Sandeman, D. (edit.) *The Biology of Crustacea*. Academic Press. Vol. 3: 291-367.

Steullet, P., Cate, H. and Derby, C. 2000. A spatiotemporal of turnover and maturation of olfactory receptor neurons in the Spiny Lobster *Panulirus argus*. *The Journal of Neuroscience*. 20(9): 3282-3294.

Taylor, R. 1968. Water-vibration reception: a neurophysiological study in unrestrained crayfish. *Comp. Biochem. Physiol.* 27: 795-805.

Varju, D. and Sandeman, D. 1989. Tactile learning in a new habitat and spatial memory in the crayfish *Cherax destructor*. En: Elsner, N. y Singer, W. (edit.) *Dinamics and plasticity in neuronal systems*.

Vergnes, M., Depaulis, A., Boehrer, A. and Kempf, E. 1988. Selective increase of offensive behavior in the rat following intrahypothalamic 5, 7-DHT - induced serotonin depletion. *Behavioural Brain Research*. 29: 85-91.

Weiger, W. 1997. Serotonergic modulation of behaviour: a phylogenetic overview. *Biol. Rev.* 72: 61-95.

White, D. 1974. *Biological physics*. Chapman and Hall. 293 p.

Wiersma, C. A. G. and Yamaguchi, T. 1967. Integration of visually stimuli by the crayfish central nervous system. *J. Exp. Biol.* 47: 409-431.

Wilson, E. 1980. *Sociobiología: la nueva síntesis*. Ediciones Omega. 701p.

Wittenberger, J. 1981. Aggression. En: *Animal social behavior*. Duxbury Press. 135-137.

Yeh, S., Fricke, R. and Edwards, D. 1996. The effect of social experience on serotonergic modulation of the scape circuit of crayfish. *Science*. 271: 366-369.