



FACULTAD DE
CIENCIAS

UDELAR | fcien.edu.uy



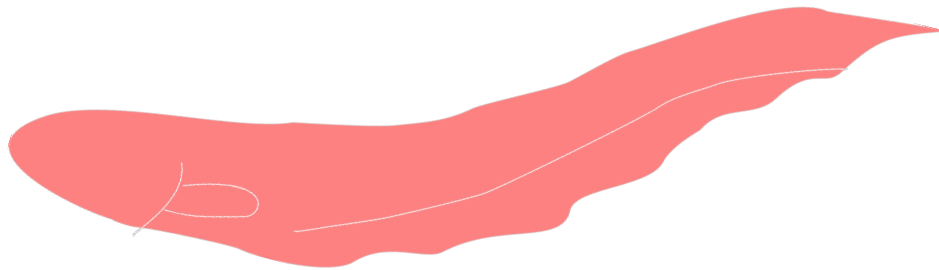
UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY

Modulación social y circadiana de la variabilidad de descarga eléctrica de *Gymnotus omarorum*

Trabajo Final de Carrera

Valentina Gascue

Orientadora: Dra. Adriana Migliaro



Licenciatura en Ciencias Biológicas,
Facultad de Ciencias,
Universidad de la República,
Noviembre, 2022

Índice

1. Resumen	2
2. Introducción	3
2.1. Sistemas circadianos	3
2.2. Osciladores biológicos y variabilidad	5
2.3. Modelo: peces eléctricos de descarga débil	7
2.3.1. Rol y modulación de la FB-DOE	8
2.3.2. <i>Gymnotus omarorum</i>	10
2.3.3. Modulación social del ritmo circadiano de comportamiento eléctrico	11
3. Punto de partida e hipótesis	12
4. Objetivos	13
5. Materiales y métodos	13
5.1. Animales	13
5.2. Registros en el campo	13
5.3. Procesamiento de datos	14
5.3.1. Adquisición de FB-DOE	14
5.3.2. Análisis de variabilidad	15
5.4. Análisis estadístico	16
6. Resultados	17
7. Discusión	21
7.1. Variabilidad interindividual:	21
7.2. Variabilidad intraindividual: Modulación circadiana y social de la variabilidad	23

1. Resumen

Los ritmos circadianos son ritmos biológicos con un período cercano a 24 horas. Estos le permiten a los organismos anticipar cambios cíclicos en el ambiente y asignar energía de forma apropiada para adaptarse a dichos cambios. Si bien estos ritmos son endógenos, están modulados y sincronizados por señales diarias tanto bióticas como abióticas, como lo son la luz, la temperatura y las interacciones sociales. De esta forma, los ritmos de comportamiento que presentan los animales en entornos naturales muestran fases de actividad y reposo que son influidas tanto por las variaciones diarias del ambiente como por la actividad de sus coespecíficos.

Gymnotus omarorum es un pez eléctrico de descarga débil autóctono de nuestro país. Los peces eléctricos de descarga débil se caracterizan por emitir constantemente una descarga eléctrica de baja amplitud (DOE) que cumple funciones tanto sensoriales como de comunicación. *G. omarorum*, en particular, es una especie que presenta territorialidad tanto reproductiva como no reproductiva, lo cual lo vuelve un modelo interesante para evaluar el efecto del contexto social sobre la fisiología animal.

La frecuencia de emisión del órgano eléctrico (FB-DOE) en *G. omarorum* constituye un repertorio conductual con ritmicidad circadiana. En este sentido, la FB-DOE requiere de una cierta estabilidad que asegure la predictibilidad de su rol al tiempo que debe tener una cierta flexibilidad que le permita adaptarse a los cambios del entorno. Analizar la variabilidad de los ritmos nos permite estudiar la capacidad de control que poseen los sistemas circadianos que los generan, ya que la variabilidad de una secuencia temporal rítmica nos habla de la eficacia del oscilador que genera dicha secuencia. Esto es cierto incluso cuando no se conocen las bases moleculares de estos sistemas, lo cual convierte a éste análisis en una herramienta muy versátil. Sin embargo, este aspecto del ritmo de conducta eléctrica no ha sido explorado.

En esta tesis caracterizamos la variabilidad de la conducta eléctrica de *G. omarorum* mediante registros de campo en su hábitat natural. Encontramos que el contexto social impone un rango de FB-DOE en la cual se solapan los individuos. A su vez, encontramos que en presencia de coespecíficos se da un descenso de la variabilidad de la FB-DOE en la noche, y que este efecto se pierde en ausencia del contexto social. Estos resultados sugieren una modulación complementaria entre el contexto social y otras variables ambientales de la conducta eléctrica de *G. omarorum*.

2. Introducción

2.1. Sistemas circadianos

Los movimientos de la Tierra alrededor del sol generan ciclos de incidencia de la luz sobre nuestro planeta: los ciclos de luz-oscuridad diarios y las variaciones estacionales del fotoperíodo. Estos cambios en el fotoperíodo generan ciclos en muchas variables ambientales, tanto bióticas como abióticas, como lo son la temperatura, disponibilidad de alimento, y los hábitos de conespecíficos o predadores.

La repetición de estos ciclos durante la historia de nuestro planeta significó una fuerte presión evolutiva para el desarrollo de sistemas capaces de anticipar estos cambios en la mayoría de los organismos, desde bacterias hasta humanos (Ishida y cols., 1999; Bhadra y cols., 2017). En un ambiente cíclico, se vuelve esencial poder acoplar tanto la fisiología como el metabolismo y el comportamiento a estos ciclos, para una exitosa adaptación al entorno. Las ventajas de contar con ritmos endógenos acoplados a ciclos ambientales son diversas. Por un lado, la anticipación de los cambios ambientales le permiten al individuo prepararse para los mismos (Paranjpe y Sharma, 2005; Krittika y Yadav, 2020), asignando energía a diferentes funciones propicias según el contexto. Sin embargo, es importante notar que esta predicción no implica rigidez, ya que es necesario mantener cierto margen de modulación ante desviaciones que puedan darse de los ciclos naturales. Poder modular los ritmos fisiológicos genera una potencial capacidad de conquistar nichos ligeramente diferentes y potencialmente más ventajosos. En la otra cara de esta moneda, los mecanismos endógenos de sincronización brindan robustez, evitando que la fisiología y comportamiento del animal se vean afectados por pequeñas fluctuaciones de los ciclos ambientales.

La rotación de la Tierra alrededor del sol genera una clase de ciclo particular: el ciclo diario de luz y oscuridad. Este ciclo determina que durante un día tenemos horas con alta intensidad de luz y horas en oscuridad. Los ritmos endógenos que se acoplan a este ciclo natural son los ritmos circadianos (del latín "circa", que significa "alrededor de" y "dies", que significa "día"), definidos por tener un período de aproximadamente 24 horas.

Los ritmos biológicos en general y los ritmos circadianos en particular tienen como característica definitoria su endogenidad. Es decir: persisten en ausencia de claves ambientales (condiciones de libre curso) ya que representan un mecanismo intrínseco de los organismos y no una respuesta inmediata al ambiente. En este sentido, los ritmos biológicos son generados por relojes biológicos, definidos como osciladores moleculares que cambian de estado con un período definido.

A pesar de encontrar sistemas circadianos a lo largo de toda la escala evolutiva, todos comparten una organización general muy similar. Cuentan con tres componentes principales: uno aferente que recibe la información del ambiente; los componentes críticos que cumplen la función reloj con actividad rítmica endógena; y vías eferentes a través de las cuales el oscilador regula y coordina la expresión de diferentes ritmos (Golombek y Rosenstein, 2010). Se han identificado múltiples relojes, tanto a nivel central como periférico, que son endógenos y a la vez fotosensibles

(Cahill y cols., 1998; HURD y cols., 1998; Whitmore y cols., 2000). Al ser fotosensibles, estos relojes son capaces de captar la información ambiental y utilizarla para sincronizarse al ciclo ambiental, sin la necesidad de una vía aferente con más intermediarios. Cumplen, de esta forma, la función de dos de los tres componentes necesarios para un sistema circadiano.

La organización de los sistemas circadianos varía en los vertebrados. En mamíferos se organiza de manera jerárquica con el núcleo supraquiasmático funcionando como un "director de orquesta" que dicta el ritmo a los otros osciladores corporales (Menaker y cols., 1997). El sistema circadiano de otros vertebrados funciona más como una red interconectada (Falcón y cols., 2010). Los mamíferos presentan una fuente única de información lumínica: los fotorreceptores retinales. Por el contrario, el resto de vertebrados cuentan con una variedad de opsinas distribuidas en diferentes áreas del cerebro (Pérez y cols., 2019) y de la periferia. Esto hace que los relojes corporales (periféricos) de estos organismos puedan responder directamente a estímulos lumínicos. De esta forma, no necesariamente requieren de un reloj maestro que los sincronice. De hecho, hay evidencia de que los relojes periféricos de los peces teleosteos son sincronizados por señales lumínicas (Whitmore y cols., 2000; Kumar, 2017).

El sistema circadiano de peces teleosteos es un sistema interconectado de osciladores que se encuentran en diferentes tejidos y actúan de forma parcialmente independiente para generar los ritmos circadianos (Falcón y cols., 2010). En este grupo, y en general en los vertebrados no mamíferos, el órgano pineal pasa a jugar un rol muy relevante. Este órgano es parte del cerebro de todos los vertebrados y a partir de muchos estudios comparativos se cree que, durante la evolución pasó de ser un órgano fotosensible a una glándula endocrina (Collin (1969, 1971); Oksche (1971); Collin and Oksche, 1981; Meissl y Dodt (1981); citados en EKSTRZM y MEISSL (1997).

En mamíferos, la glándula pineal se encarga de la secreción de melatonina, una hormona central en las vías de señalización circadianas. La melatonina es "la hormona de la noche", ya que señala a los osciladores biológicos la llegada de la noche (Pévet, 2003; Hardeland y cols., 2006). Esta función se mantiene en todos los animales, independientemente de sus hábitos, ya sean nocturnos o diurnos (Idda y cols., 2012). En vertebrados no mamíferos, el órgano pineal cumple funciones extra además de la secreción de melatonina. Cuenta con células fotosensibles (Dodt, 1963) donde se sintetiza melatonina (Falcón, 1999) de forma rítmica con un período cerca de las 24 horas (Falcón y cols., 2009).

Si bien la característica por definición de estos ritmos es la endogeneidad de los mismos, diferentes claves ambientales son capaces de sincronizarlos (Pittendrigh, 1981). A estas claves se las conoce como **zeitgebers** (término alemán que significa "dador de tiempo"). La luz y la temperatura son los zeitgebers más evidentes para los ritmos circadianos, pero no son los únicos. De hecho, la actividad de predadores y con-específicos son también potentes sincronizadores (Migliaro, 2018; Fuchikawa y cols., 2016; Bloch y cols., 2013; Siehler y cols., 2021).

Los diferentes moduladores cíclicos de los ritmos biológicos pueden generar

“**entrainment**”¹ o **sincronización**. El concepto de entrainment surge de la física y refiere a cuando un oscilador se acopla al período de otro, en el caso de los ritmos biológicos podemos pensar en un reloj circadiano que adapta su período a algún ciclo ambiental. Si la señal cíclica desaparece, el oscilador biológico en cuestión volverá progresivamente a su período endógeno. Esa readecuación progresiva pone en evidencia la existencia de procesos que estaban adaptados al ciclo externo y que progresivamente “liberan” la oscilación endógena. La sincronización, en el sentido amplio del término, refiere a que dos o más sucesos ocurren al mismo tiempo. En nuestro caso particular, hablamos de sincronización cuando dos o más osciladores oscilan al mismo tiempo de forma con cierto grado de solapamiento (ya sea en fase o en antifase). Para que esto sea posible, los osciladores deben contar con períodos ligeramente diferentes e interactuar mutuamente, para generar un período común con un valor diferente a los períodos individuales. En este sentido, el entrainment es un caso particular de sincronización, en la cual la interacción entre los osciladores es asimétrica, con uno de ellos que impone su período y fase sobre el otro.

Los ciclos de luz generados por la rotación de la Tierra, normalmente, operan a nivel de “entrainment”, llevando los ciclos endógenos a oscilar en períodos muy cerca de 24 hs (Pittendrigh y Minis, 1964). La sincronización en el ritmo circadiano de conducta eléctrica de varios individuos en una población puede originarse por la sincronización individual con una variable ambiental común (por ejemplo el ciclo luz-oscuridad) o por un fenómeno de sincronización entre individuos, donde los ritmos individuales interactúan generando un ritmo poblacional.

2.2. Osciladores biológicos y variabilidad

La variabilidad de una secuencia temporal rítmica nos habla del funcionamiento del oscilador que genera dicha secuencia. En este sentido, el análisis de variabilidad de ritmos circadianos nos permite estudiar el desempeño de los sistemas circadianos que los generan, así como determinadas características de los mismos. Esto es cierto incluso cuando no se conocen las bases moleculares de estos sistemas, lo cual convierte a éste análisis en una herramienta muy versátil.

Con herramientas estadísticas básicas, simples de implementar, ya se puede decir mucho sobre la variabilidad del ciclo. En este sentido, el cálculo de parámetros estadísticos de dispersión (desvío estándar, varianza, coeficiente de variabilidad) representan un análisis cuantitativo de la variabilidad del ritmo. Otros análisis permiten complementar esta visión de la variabilidad de una serie temporal, tanto cualitativa como cuantitativamente. En la sección "Materiales y métodos" se podrá encontrar una descripción más exhaustiva de los utilizados en este trabajo.

Desde el punto de vista biológico, la variabilidad es un componente muy importante de todos los sistemas. Desde los sistemas moleculares a los ecosistemas, todos poseen una variabilidad intrínseca producto del azar pero que cumple variadas funciones. En un entorno variable, los sistemas restringidos o constantes son más propensos a desaparecer. La estrategia que hoy es exitosa mañana puede no serlo, y los sistemas que presentan cierta variabilidad tienen la capacidad de sostenerse ante nuevas condiciones ambientales.

¹Por falta de una buena traducción del inglés usaré este término que defino en el texto

En particular, en los sistemas rítmicos, podemos estudiar su variación a tres niveles: el período, la amplitud y la fase del ciclo. El período está definido como el tiempo que toma completar una oscilación completa. El inverso del período, definido como la frecuencia, representa la cantidad de ciclos que se completan en una determinada unidad de tiempo. En los ritmos circadianos, el par período/frecuencia no debería variar demasiado ya que es lo que los define (estar cerca de 24 hs). De todas formas, existe cierta variación dentro de cada individuo (en la ontogenia) y entre individuos. De hecho, en humanos, la variabilidad en los períodos de los ritmos de sueño-vigilia determinan los diferentes cronotipos de las personas y suelen cambiar en la ontogenia (Roenneberg y Merrow, 2007).

La amplitud del ciclo puede significar varias cosas según la naturaleza del ritmo que estemos estudiando. Por ejemplo, la temperatura corporal de un individuo a lo largo de un día sigue un ritmo circadiano (Refinetti y Menaker, 1992). La amplitud de este ciclo representa la temperatura máxima que alcanza el individuo durante el ciclo. En forma similar pueden considerarse otras variables: actividad locomotora, otras mediciones conductuales, concentración de metabolitos, etc. La amplitud, entonces, responde a las necesidades funcionales del ritmo que se esté estudiando.

La fase es un parámetro que sirve para comparar dos o más oscilaciones que están ocurriendo al mismo tiempo. Para definirla suponemos que los osciladores comparten la misma frecuencia pero que no necesariamente están acoplados. Es decir, que en un determinado tiempo la amplitud de las oscilaciones puede ser distinta. Cualitativamente, podemos observar los tiempos en los que los osciladores alcanzan un pico (máximo o mínimo) y observar si estos difieren. Cuanto más lejos estén unos de otros, más desfasados están los ciclos y cuanto más cerca estén, más en fase se encuentran. Los ritmos circadianos de actividad que venimos describiendo están sincronizados al ciclo de oscilación de luz-oscuridad. Los animales diurnos tenemos un ritmo de actividad que se encuentra en fase con el sol (cuando éste sale estamos activos, y cuando se pone descansamos), mientras que los animales nocturnos se encuentran en la situación opuesta (tienen su pico de actividad cuando el sol se pone y descansan cuando el sol está presente)².

Los cronotipos, en humanos, son un ejemplo excelente de variabilidad interindividual en las fases de los ritmos. Generalmente, se refiere al cronotipo como las preferencias individuales sobre cuándo dormir (obtenidas de cuestionarios validados) o en relación a los niveles de melatonina durante el día (ROENNEBERG, 2012). Pensando en nuestro concepto de fase, el ciclo sueño-vigilia de un individuo que se va a dormir a las 9 de la noche no está en fase con el de uno que se duerme a las 12, pero sí lo está con el de otro que se duerme a las 9.

Esta variabilidad en la fase del ciclo de sueño-vigilia que existe para humanos no se ha descrito en otros animales. Sin embargo, el concepto de fase y sincronización de fase es un concepto universal en el análisis de la actividad de los osciladores que va a tomar diferentes significados biológicos según la especie y el contexto. Por ejemplo, muchos peces son capaces de cambiar sus conductas diurnas a conductas nocturnas dependiendo del contexto (Idda y cols., 2012). A esta variabilidad intra-

²Esto es una sobre-simplificación para ilustrar el concepto de fase, en la realidad no observamos ciclos en perfecta fase o antifase, sino que normalmente hay fases intermedias

individual se le suma una variabilidad interindividual propia de las poblaciones naturales.

Al comienzo de esta sección se discute la relevancia de un análisis de variabilidad como medida del desempeño del oscilador biológico en cuestión. En esta línea, podemos también pensar en la variabilidad como un modulador del sistema, que le permite moverse en un rango más o menos flexible de respuestas.

2.3. Modelo: peces eléctricos de descarga débil

La complejidad de los ritmos conductuales discutidos en las secciones anteriores requiere de un análisis abarcativo, que contemple la interrelación entre factores ambientales y el comportamiento de los individuos. Con este enfoque en mente, los peces son un excelente modelo para estudiar las bases de conductas altamente conservadas, y en particular aquellas que presentan ritmos diarios.

Por un lado, los peces cuentan con sistemas circadianos con una organización en redes distribuidas que difiere de la organización jerárquica presente en mamíferos. Por otro lado, los ritmos que estos sistemas generan presentan una plasticidad generalmente mayor que la que vemos en mamíferos, aunque existen ejemplos de mamíferos que escapan a esta regla. Esta plasticidad se ve reflejada en especies diversas que son capaces de cambiar su fase de actividad (generalmente diurna) según la estación del año, el contexto o incluso en la ontogenia (Kronfeld-Schor y cols., 2017; Idda y cols., 2012).

En este trabajo utilizamos como modelo de estudio un pez eléctrico de descarga débil autóctono: *Gymnotus omarorum*. Los peces eléctricos de descarga débil se caracterizan por emitir constantemente una descarga eléctrica de baja amplitud generada por un órgano eléctrico especializado. Las descargas del órgano eléctrico (DOEs) sirven funciones tanto sensoriales como de comunicación. Por un lado, la electrorrecepción le permite al animal detectar objetos en su entorno cuya conductividad sea diferente a la conductividad del agua (A. Caputi y cols., 1998), y constituye una fuente de información ambiental altamente especializada. Además, la DOE funciona como un sistema de electro comunicación intraespecífica (Hopkins y cols., 1974; Crampton, 2019).

Dentro de los peces eléctricos de descarga débil podemos encontrar dos tipos de peces: de onda y de pulso. Esta distinción recae en el tiempo entre descargas del órgano eléctrico. Los peces de onda descargan de forma continua una descarga tras otra, con variaciones de amplitud sinusoidales (Hopkins y cols., 1974), mientras que los peces de pulso se caracterizan por pequeños silencios entre una descarga y la siguiente. En ambos casos, cada especie cuenta con una forma de onda y frecuencia basal de la DOE característica.

La forma de onda característica de una especie viene dada por los patrones de inervación y activación de las electromotoneuronas del órgano eléctrico. Además de la especie, la forma de onda de la DOE puede contener información sobre el sexo y estado fisiológico del animal que la emite (G. K. H. Zupanc y Bullock, 2005; Silva y cols., 2002; Hopkins y cols., 1990). Esta forma de onda es, a su vez, modulable por la temperatura ambiente y factores hormonales.

2.3.1. Rol y modulación de la FB-DOE

La frecuencia basal de descarga del órgano eléctrico (FB-DOE) opera como salida conductual del sistema eléctrico del pez. Variaciones en la FB-DOE responden tanto a necesidades perceptuales (mayor FB-DOE genera una mayor adquisición de información), o comunicativas.

En términos generales, la percepción surge de una interacción dinámica entre el individuo y el ambiente. Un problema usual que los sistemas sensoriales deben resolver es poder distinguir entre las señales ambientales (que pueden o no ser electrocomunicativas) y las señales autogeneradas que reciben por los mismos canales sensoriales. Los peces eléctricos presentan diferentes estrategias para resolver este problema y así obtener información más confiable. En *Mormyriiformes*, se ha descrito un mecanismo neural conocido como “descarga corolaria” (Bell, 1981), que implica una señal interna generada en los centros motores que comandan la DOE y que afecta el procesamiento sensorial. Es un mecanismo que permite distinguir entre la propia DOE y otras señales que llegan al sistema electrosensorial del individuo. En *G. omarorum* se describió otro mecanismo con la misma finalidad: la “ventana de baja respuesta” de la vía rápida electrosensorial (Castelló y cols., 1998). La activación de neuronas esféricas del lóbulo electrosensorial genera la activación de una corriente de bajo umbral de K⁺ que, a su vez, genera un período refractario largo que bloquea siguientes respuestas (Nogueira y Ángel Ariel Caputi, 2011).

Estos mecanismos perceptuales van de la mano con estrategias conductuales que evitan la interferencia de señales. La “Jamming avoidance response” (JAR) supone aceleraciones y desaceleraciones de la FB-DOE que desfazan la DOE de otras señales (G. M. Westby, 1981). Este mecanismo ha sido descrito para diversos grupos de gymnotiformes, entre ellos *G. omarorum* (G. W. M. Westby, 1979). Otra estrategia conductual descrita en *Gymnotiformes* son los “synchronization bouts” donde la frecuencia de dos individuos es prácticamente la misma por unos segundos y la fase (definida como la diferencia de tiempo entre la DOE de un individuo y la del otro) oscila de forma muy lenta cambiando de dirección (G. M. Westby, 1981). Al mantener a la fase oscilando de esta manera se mantiene la señal del otro individuo siempre dentro de la ventana de detección.

En cuanto al rol comunicativo de la FB-DOE, se sabe que esta puede ser modulada en varios contextos sociales tales como el cortejo o las interacciones agonísticas, generando señales características como los *chirps* (aumentos de la frecuencia acompañados de variaciones en la forma de onda) o directamente con silencios en la emisión eléctrica (Hagedorn, 1988; G. K. Zupanc, 2002; Pappas y Dunlap, 2011; Perrone y cols., 2009).

Para sostener sus dos funciones, la FB-DOE está modulada por factores tanto ambientales como sociales (Ardanaz y cols., 2001). La FB-DOE como salida conductual presenta un aumento nocturno que se ha puesto en evidencia en distintas especies de peces eléctricos sudamericanos (Silva y cols., 2007; Stoddard y cols., 2007; Migliaro, 2018; Migliaro y cols., 2018; Migliaro, 2018). Este aumento nocturno de la FB-DOE responde a los hábitos nocturnos que siguen estos peces (de forrajeo, socialidad, cortejo, exploración, etc). Además de este aumento nocturno, la FB-DOE aumenta en otros contextos como frente a estímulos novedosos (A. A. Caputi y cols.,

2005) o durante la búsqueda de alimento en un ambiente desconocido (Jun y cols., 2016; Migliaro y cols., 2018).

Aumentar la frecuencia de descarga del órgano eléctrico es costoso desde un punto de vista energético, de forma que una modulación circadiana de la misma parece sensata. El animal invierte energía en la noche, cuando requiere un mayor muestreo perceptual y existe una mayor probabilidad de interacción social acompañada de modulaciones específicas de la DOE con un rol comunicativo. Durante la fase de reposo conductual la frecuencia de descarga es menor, generando un ahorro de energía.

El aumento nocturno de la FB-DOE representa un ritmo que se mantiene en condiciones de libre curso y cumple con las características necesarias para ser considerado como un ritmo circadiano (Migliaro, 2018; Migliaro y cols., 2018; Stoddard y cols., 2007). En condiciones de laboratorio, se ha constatado un aumento nocturno temprano que depende de melatonina (Migliaro y Silva, 2016) y es modulado por el contexto social (Silva y cols., 2007).

El sistema nervioso central del pez, más precisamente el núcleo electromotor bulbar (NEB), comanda las variaciones de la FB-DOE (Bennett y cols., 1967). El NEB cuenta con un centenar de células de dos tipos: neuronas marcapasos y neuronas bulbo espinales de relevo (neuronas Relé) (Bennett y cols., 1967; Quintana y cols., 2011) (Figura 1). Las neuronas marcapasos descargan de forma oscilatoria intrínsecamente (Moortgat y cols., 1998). Al inervar a las neuronas Relé, marcan su ritmo de descarga. A su vez, las neuronas Relé inervan las electro motoneuronas del órgano eléctrico, marcando el ritmo de emisión de la DOE (A. Caputi y Trujillo-Cenóz, 1994). De esta forma, como ilustra la *Figura 1*, existe una relación 1:1 entre lo que pasa a nivel del sistema nervioso central y el comportamiento eléctrico macroscópico del animal. Es así que el estudio del comportamiento de la DOE nos permite observar, a su vez, el comportamiento del sistema nervioso central.

La frecuencia de descarga del NEB está influenciada por varias estructuras premarcapasos que integran información ambiental y del estado fisiológico del animal (Heiligenberg y cols., 1981; Kawasaki y Heiligenberg, 1989). De esta forma, el núcleo marcapaso es un centro regulador, que integra información relevante y la traduce en variaciones de la FB-DOE acordes.

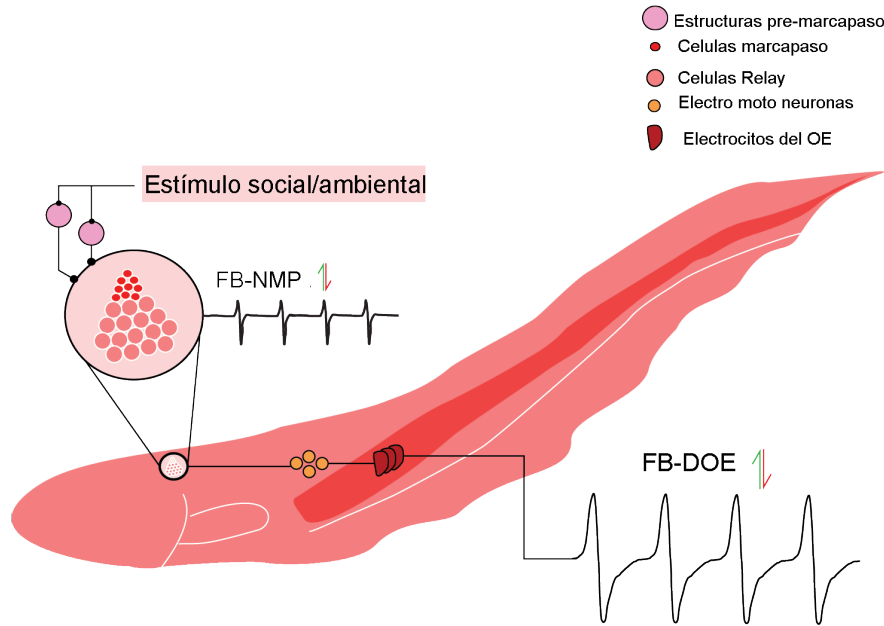


Figura 1: Esquema del sistema generador de la DOE en gymnotiformes. Los estímulos sociales y ambientales en general llegan al núcleo electromotor bulbar (explicado en el texto), específicamente a las estructuras pre-marcapasos. Estos estímulos generan variación en la descarga de las células marcapaso (FB-NMP) que a su vez genera una variación en la descarga del órgano eléctrico (FB-DOE). Es decir, existe una relación 1:1 entre la descarga de las neuronas del núcleo marcapaso (FB-NMP) y la descarga del órgano eléctrico (FB-DOE). OE: órgano eléctrico. Obtenido y modificado de Vazquez, et al. 2022 (manuscrito en escritura)

2.3.2. *Gymnotus omarorum*

Gymnotus omarorum (de Forges y cols., 2009) es un pez eléctrico de descarga débil que se distribuye de forma uniforme en nuestro país (30–35°S) (Silva y cols., 2003). Habita bajo matas densas de vegetación macrofita (Figura 2b), que no permite el pasaje de luz (Migliaro, 2018; Fontanarrosa y cols., 2010). Esta característica vuelve a *Gymnotus omarorum* un interesante modelo para estudiar la sincronización de los ritmos circadianos por variables ambientales diferentes al fotoperíodo.



Figura 2: (a) Un individuo de *G. omarorum*. (b) Fotografía del hábitat natural de la especie donde se puede apreciar la vegetación que cubre la laguna donde habitan.

Es un animal territorial que emite DOEs al rededor de 25Hz a 20°C de temperatura (de Forges y cols., 2009). En un registro cabeza-cola (con un electrodo registran-

do a cada extremo rostro-caudal del animal, Figura 3a), su forma de onda consta de 4 fases: V1, V2, V3, V4 (Figura 3b).

Tal como muchos otros de su grupo, *G. omarorum* presenta un aumento de la FB-DOE nocturno que sigue un ritmo circadiano (Migliaro y cols., 2018) ya que persiste en condiciones de libre curso. Este ritmo circadiano de conducta eléctrica se puede reproducir en el laboratorio con la inyección de melatonina durante el día (Migliaro y cols., 2018)

G. omarorum es un reproductor estacional que presenta conductas agresivas intra e intersexuales dentro y fuera de la estación reproductiva (Bastista y cols., 2012; Silva y cols., 2003). Siendo un animal de importante territorialidad, precisa mantener un buen control sobre las señales que emite así como sobre el flujo de información que recibe. Por ejemplo, tras una contienda agonística, el individuo subordinado modulará su emisión eléctrica haciéndole saber al dominante que ganó (por ejemplo con señales estereotipadas como los "chirps") (Perrone, 2012). Esta modulación es de suma importancia ya que el dominante seguirá atacándolo si no lo hace.

En este sentido, aún siendo un individuo mayormente solitario, la interacción social juega un rol muy importante en la modulación del comportamiento eléctrico del pez. De hecho, el ritmo circadiano de FB-DOE se sincroniza en el contexto social.

2.3.3. Modulación social del ritmo circadiano de comportamiento eléctrico

La conducta eléctrica de *G. omarorum* es modulada por variables ambientales. Particularmente, cambios en la temperatura del agua generan cambios proporcionales en la FB-DOE del animal como resultado directo de su efecto sobre el núcleo marcapasos y en consonancia con su condición de animal ectotermo (Ardanaz y cols., 2001). Por otro lado, el contexto social es un importante modulador de la FB-DOE (Perrone y Silva, 2018), a la vez que influencia la generación de transitorios eléctricos, las señales eléctricas sociales (Hagedorn y Heiligenberg, 1985). Estas modulaciones sociales están mediadas por el neuropéptido hipotalámico arginina-vasotocina, que afecta directamente la FB-DOE en el NEB (Perrone y cols., 2014).

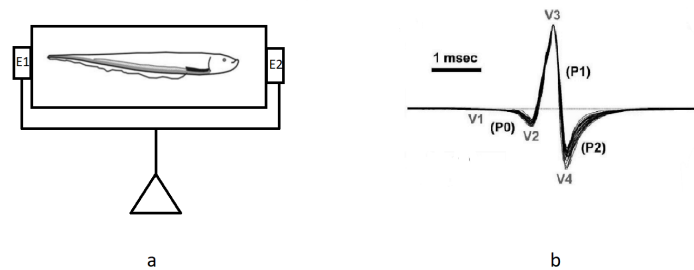


Figura 3: Forma de onda de la DOE de *Gymnotus omarorum* en un registro cabeza-cola. (a) Esquema del registro cabeza-cola: el animal se mantiene en un recipiente que no permite su movimiento. El recipiente posee un electrodo en cada extremo (E1 y E2), que registran la señal emitida por el órgano eléctrico del pez. (b) Registro obtenido de la forma de onda (de Forges y cols., 2009), con sus cuatro fases: V1, V2, V3 y V4.

Como se mencionó antes, los ritmos circadianos suelen sincronizarse con diferentes señales ambientales. En nuestra especie modelo se ha reportado una sincronización poblacional del ritmo circadiano de conducta eléctrica (Migliaro y cols., 2018). En este artículo, comparan las acrofases (momento de mayor actividad) de individuos en contexto social e individuos aislados. La Figura 4 fue extraída de dicho artículo y muestra los resultados del test de Rayleigh realizado. Este es un test para evaluar la periodicidad de una serie de datos. Indica los puntos de mayor actividad individual (las acrofases) posterior al ajuste de una función coseno en un diagrama circular que asemeja un reloj. El test calcula el momento de mayor actividad promedio en la población (señalado con una línea radial verde) y la significancia estadística de dichos cálculos.

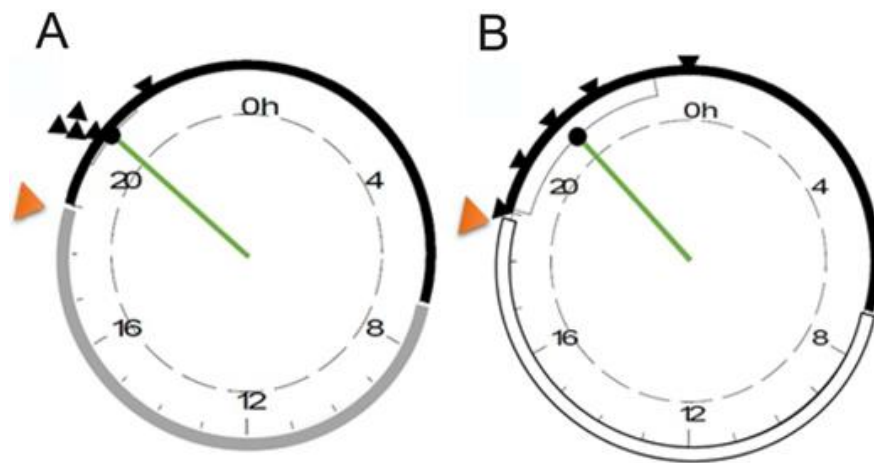


Figura 4: Test de Rayleigh para individuos registrados en (A) contexto social y (B) aislados; ambos en el ambiente natural. Las puntas de flecha negras son las acrofases individuales de cada pez, y la punta de flecha naranja indica el tiempo de mayor temperatura del agua. Las regiones en negro del diagrama son las horas de la noche, mientras que las grises son las horas del día. En verde se marca la acrofase media para cada grupo. Extraído de (Migliaro y cols., 2018)

Como se puede observar en la figura, si bien la media poblacional se mantiene en valores similares entre los dos grupos, la dispersión de las acrofases aumenta en aislamiento. Los individuos registrados en contexto social presentan acrofases muy similares, sugiriendo una sincronización de los ritmos individuales de conducta eléctrica. Cuando se pierde la señal social, las acrofases individuales se distribuyen en un rango de tiempo mayor.

3. Punto de partida e hipótesis

En el contexto de estos resultados y de lo desarrollado previamente, en este trabajo final de carrera me propuse a estudiar un aspecto de la modulación circadiana no muy atendido aún: la variabilidad de la conducta eléctrica. De esta forma, nos preguntamos si hay cambios en la variabilidad de la FB-DOE asociados a la noche (período de mayor actividad) y cómo influye el contexto social en esta modulación.

Hipotetizamos que en la noche, por ser el momento del día en el que el animal se encuentra más activo, diferirá la variabilidad de la conducta eléctrica respecto del día. De forma similar, hipotetizamos que el contexto social tendrá un efecto sobre la variabilidad de la conducta eléctrica, ya que parte de su función es comunicativa.

4. Objetivos

Caracterizar la variabilidad de la conducta eléctrica del pez eléctrico *Gymnotus omarorum* y su modulación contextual.

Objetivos específicos:

1. Analizar patrones circadianos en la variabilidad de la descarga eléctrica.
2. Evaluar la modulación de esta variabilidad por el contexto social

5. Materiales y métodos

5.1. Animales

Se utilizaron individuos de *G. omarorum* adultos (n=10) en el hábitat natural del que provienen: Laguna del Sauce, Departamento de Maldonado (34°51'S, 55°07'W). Para su registro, los animales fueron primero detectados con un detector de señales eléctricas para la pesca individual (Silva y cols., 2003).

5.2. Registros en el campo

Se realizaron registros de campo en dos condiciones diferentes (Figura 5): condiciones naturales (contexto social) y semi-naturales (aislados).

Contexto social

Por un lado, 5 individuos fueron colectados y ubicados en bolsas de malla plástica (red, 80x50 cm con una abertura de 40 cm de diámetro). Estas bolsas cuentan con dos electrodos y un flotador sobre el borde. Una vez colocado el pez en la bolsa, ésta se cubrió de vegetación natural y se la ubicó en el mismo sitio de colecta del animal. En estas condiciones los individuos eran capaces de moverse libremente dentro de la bolsa y percibir las variables ambientales así como las señales de sus conespecíficos.

En estas condiciones se tomaron mediciones de la DOE por 30s una vez por hora, por 72 hs utilizando una tarjeta de sonido para digitalización (Realteck) previa amplificación (WorldPrecision Instruments DAM50). A su vez, se monitoreo la temperatura y luminosidad del agua cada 30 min con sensores ubicados en la zona de registro. En base a estas mediciones se esquematiza en la figura 5 las evoluciones de las mismas durante ambos registros.

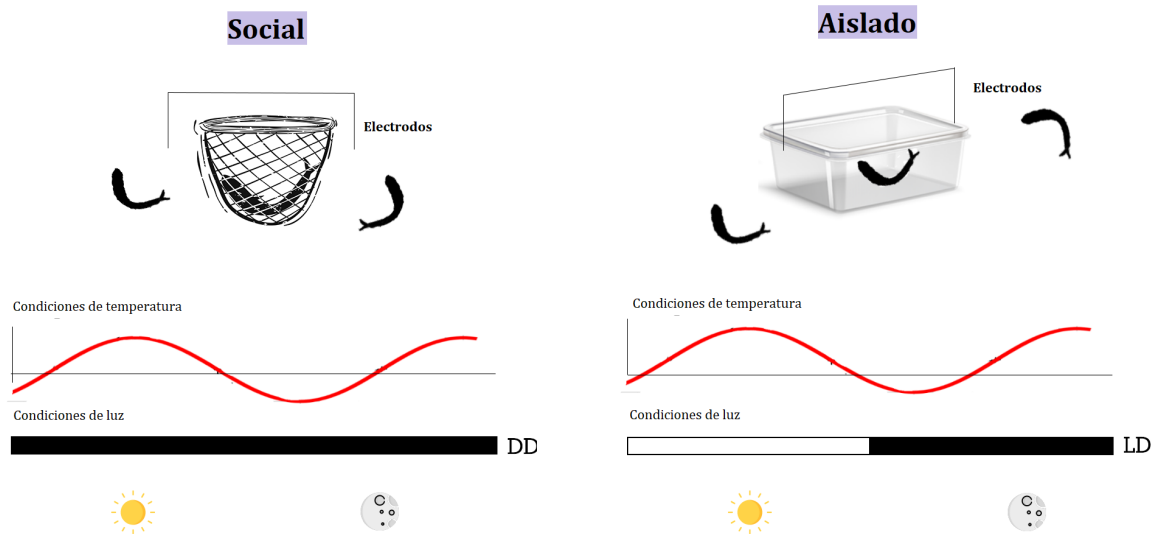


Figura 5: Esquema del set-up experimental para la toma de registros de la descarga del órgano eléctrico. Se muestran las dos condiciones estudiadas: individuos en contexto social e individuos aislados. En ambos casos, los individuos se encuentran sumergidos en su hábitat natural; los individuos sociales en una malla de registro que permite el pasaje de agua y los aislados en un contenedor de plástico que aísla eléctricamente al animal de su entorno. Ambos se encuentran expuestos al ciclo de temperatura. Sin embargo, los individuos en contexto social no están expuestos a la luz (condición natural para éstos animales), mientras que los aislados sí, ya que el contenedor en el que están, al ser de plástico, se mantiene más cerca de la superficie. Los contenedores -ya sean las mallas o lo de plástico- están equipados con electrodos que permiten el registro de la señal eléctrica del pez. Dentro de estos contenedores los peces son capaces de moverse libremente.

Contexto semi-natural

Los individuos en estas condiciones (n=5) se ubicaron en recipientes plásticos de 50L de capacidad en la orilla de la laguna, cubiertos de vegetación natural. En cada recipiente se ubicó un cilindro plástico (refugio) de 12cm de longitud y 3cm de diámetro interno. Cada recipiente cuenta con un par de electrodos en cada extremo.

En estas condiciones se registró la DOE durante 30s una vez cada hora, por 24 hs con una tarjeta de sonido para digitalización (Realteck) previa amplificación (WorldPrecision Instruments DAM50).

5.3. Procesamiento de datos

5.3.1. Adquisición de FB-DOE

La FB-DOE fue calculada como el inverso del intervalo entre DOEs en los registros y expresado en Hz.

Para normalizar el efecto de la temperatura del agua en la FB-DOE se corrigieron los valores a una temperatura constante (20°C) usando el valor Q10 de 1.5 de acuerdo a cómo se calcula para peces eléctricos (Silva y cols., 2007). El Q10 es una cantidad sin unidades definida como la velocidad de aumento de la FB-DOE cuando la temperatura aumenta en 1°C. Se calcula, entonces, de la siguiente manera:

$$Q_{10} = \frac{FBDOE * T}{FBDOE * (T + 10)}$$

5.3.2. Análisis de variabilidad

En este trabajo se realizó un análisis de variabilidad tanto a nivel interindividual (para ilustrar la sincronización entre individuos sociales ausentes en aquellos aislados) como a nivel intraindividual (como una característica intrínseca del oscilador).

De forma cualitativa, se observaron las diferencias en la variabilidad interindividual generando histogramas de frecuencia poblacionales para cada grupo (social y aislado). A estos histogramas se les ajustó una curva de densidad de probabilidad según el método "Kernel Density Estimate" (Rosenblatt, 1956). Este método permite observar la forma de la curva de distribución de los datos, por ejemplo para identificar entre distribuciones unimodales (con una sola moda) o multimodales (con más de una moda).

La variabilidad a nivel interindividual fue cuantificada siguiendo un enfoque tradicional. Se analizó el coeficiente de variación entre la frecuencia basal media entre individuos de cada grupo. Este coeficiente es una normalización del desvío estándar que nos permite comparar grupos en escalas diferentes.

En primer lugar, el desvío estándar fue calculado como:

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

Siendo N el número de observaciones, x_i la observación i , y \bar{x} el promedio de todas las observaciones. A partir de la varianza, calculamos el coeficiente de variación (CV) como sigue:

$$CV = \frac{\sigma}{\bar{x}}$$

A nivel intraindividual se realizó, en primer lugar, el mismo análisis ya expuesto. Luego, para una visualización cualitativa de esta variabilidad se generaron diagramas de Poincaré para cada individuo en el día y en la noche.

En la *Figura 6* se muestra un diagrama que ilustra las gráficas de Poincaré y su cuantificación. Estos diagramas se generan graficando cada observación (en este caso de frecuencia instantánea de la DOE) contra la siguiente observación.

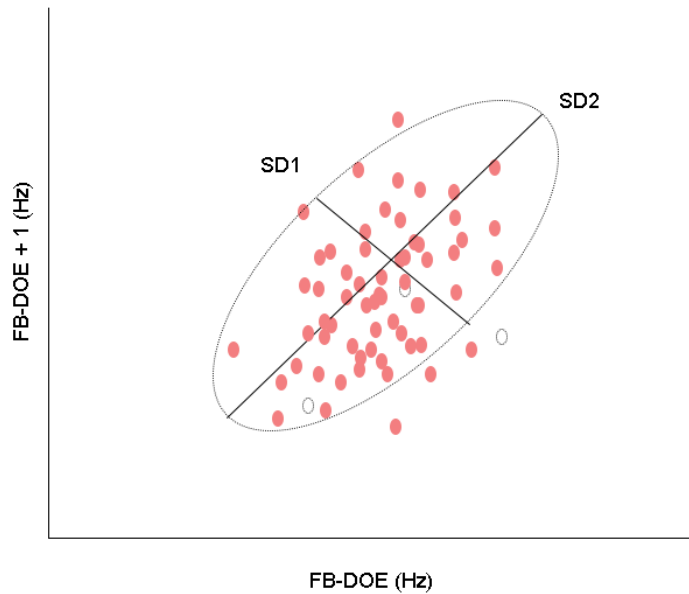


Figura 6: Diagrama esquemático de un gráfico de Poincaré. Se grafica cada observación de la serie temporal (en nuestro caso la FB-DOE), contra la siguiente observación (FB-DOE + 1). Para cuantificar este diagrama se ajusta una elipse a la nube de puntos y se miden sus ejes. El largo del eje longitudinal (SD2) es una medida de variabilidad a largo plazo, mientras que el largo del eje perpendicular (SD1) es una medida de variabilidad a corto plazo.

Como se muestra en la figura, para cuantificar la variabilidad a partir de estos diagramas se debe realizar el ajuste de una elipse. Los largos de los ejes de esta elipse son los parámetros de Poincaré: SD1 (eje perpendicular) y SD2 (eje longitudinal).

SD1, el eje perpendicular de la elipse, es una medida de variabilidad a corto plazo o "ciclo a ciclo". SD2, el eje longitudinal de la elipse, es una medida a largo plazo, de toda la serie temporal (Fishman y cols., 2012). Esta última es más similar a las mediciones tradicionales de variabilidad (varianza, desvío estándar, coeficiente de variación).

Estos diagramas son utilizados normalmente en registros de electrocardiograma (ECG) (Huikuri y cols., 2000), muy similares a los registros eléctricos de la DOE.

El cálculo de todos los parámetros mencionados, así como las representaciones gráficas fueron realizados mediante una rutina generada por mí en el software libre Python que queda a disposición del laboratorio para futuros análisis de este tipo.

5.4. Análisis estadístico

Por la naturaleza de los datos, se utilizaron tests no paramétricos. Para el análisis de la variación en la FB-DOE interindividuales (social vs. aislado) se utilizaron pruebas no pareadas (test U de Mann-Whitney). Se utilizaron pruebas pareadas (test de Wilcoxon) para el análisis de variabilidad de FB-DOE a nivel individual (día vs. noche).

6. Resultados

En la *Figura 7* se muestran ejemplos de los registros de frecuencia basal de la descarga del órgano eléctrico adquiridos en los peces en contexto social (a) y los peces en condiciones seminaturales (b). A simple vista parecería haber una sincronización entre individuos sociales, ausente en los aislados.

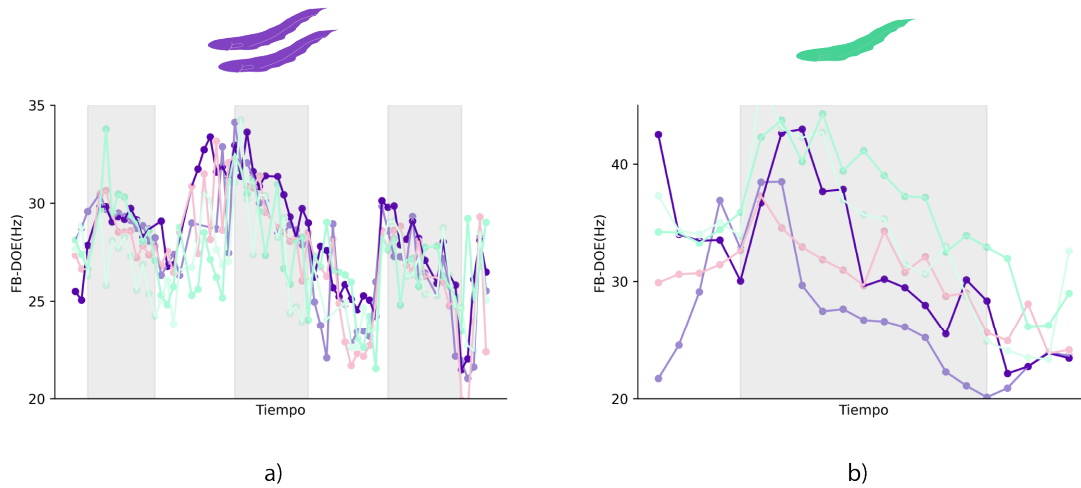


Figura 7: Registros de frecuencia basal de la descarga del órgano eléctrico (FB-DOE) para individuos en condiciones sociales (a) e individuos aislados (b); ambos en el hábitat natural. Se muestra la FB-DOE promedio por hora (72 hs en a y 24 hs en b). En gris se marcan las horas de la noche.

Para evaluar los rangos de frecuencias en los cuales descargan los animales en las diferentes condiciones se realizó un histograma de frecuencias poblacional para cada condición (*Figura 8a*). A cada histograma se le realizó un ajuste "kernel density estimate" (KDE) para observar la distribución de observaciones utilizando una curva continua de densidad de probabilidad.

A primera vista podemos fácilmente observar que los individuos aislados descargan en un rango mayor de frecuencias (entre 20 y 55 Hz) que los sociales (entre 20 y 35 Hz). En la *Figura 8b* se muestra una medida de variabilidad entre individuos (Coeficiente de variación, CV). Por otro lado, en la *Figura 8a* se puede observar el aumento marcado de la frecuencia basal de la DOE en los individuos sociales. En el histograma de aislados se enmascara este aumento por la aumentada variabilidad inter-individual.

Los individuos aislados mostraron una variabilidad entre individuos significativamente mayor que los sociales (Mann-Whitney test, $p < 0.0001$). En otras palabras, se observa que los peces sociales mantienen un rango más acotado y superpuesto de FB-DOE que los peces aislados. Esto se observa en la *Figura 8b*, donde cada punto es la frecuencia basal media del grupo para una hora (72 puntos en social y 24 en aislados).

Si separamos los coeficientes de variación correspondientes a las horas del día y de la noche, encontramos que hay una disminución significativa de la variabilidad individual en la noche, para los individuos en contexto social (Figura 8c).

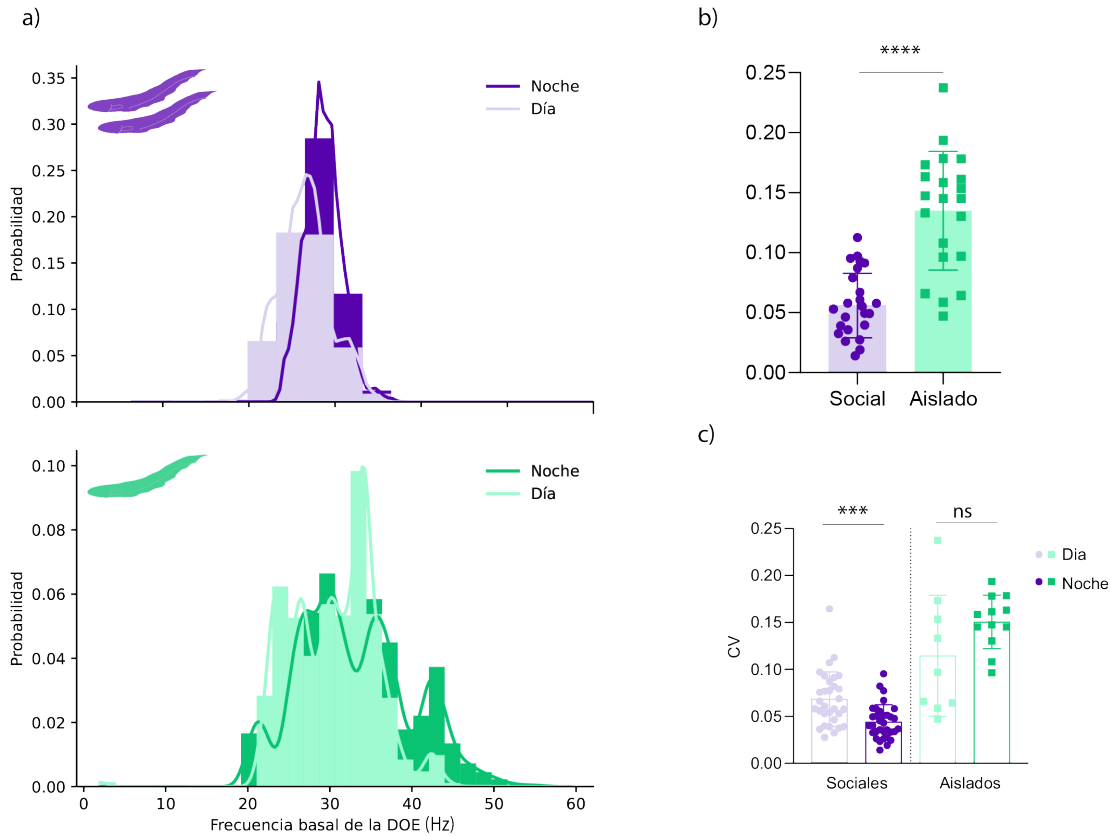


Figura 8: (a) Histogramas de frecuencia basal de la DOE (Hz) para el grupo social (arriba) y para el grupo aislado (abajo). Cada histograma comprende las frecuencias instantáneas de descarga de todos los individuos del grupo. (b) Coeficiente de variación (CV) entre peces. Cada punto representa el coeficiente de variación entre peces para una determinada hora, calculado a partir de la FB-DOE media para cada pez en esa hora. Se observa una diferencia significativa (Social vs. Aislado, Mann-Whitney test, $p < 0.0001$) entre la variabilidad interindividual de peces sociales y aislados. (c) Coeficiente de variación entre individuos para cada grupo en el día (colores claros) y en la noche (colores fuertes). Hay un descenso significativo de la variabilidad en la noche respecto del día en individuos sociales (CV día vs CV noche, Mann-whitney test, $n=68$, $p=0.0005$) pero no en individuos aislados

A nivel individual, el aumento de la frecuencia basal de la DOE en la noche vino acompañado de una disminución en la variabilidad. Por un lado, la varianza disminuye en la noche en peces sociales (Varianza Día y Varianza Noche, Wilcoxon $n=5$, $p=0.02$), pero no en peces aislados (Figura 9a), sugiriendo una modulación circadiana sobre la variabilidad en los peces sociales. Se observa también un efecto de la socialidad sobre la varianza, con un descenso significativo en individuos sociales en la noche frente a individuos aislados por la noche (Varianza noche Social vs. Varianza Noche Aislado, Mann-Whitney $n=10$, $p=0.03$)

Para normalizar estas diferencias y asegurarnos de no estar observando un efecto de la media sobre la varianza, se calculó el coeficiente de variación. Este coeficiente muestra también un descenso en la noche respecto del día para los individuos sociales (CV Dia vs CV Noche, Wilcoxon $n=5$, $p=0.03$) (Figura 9(b)).

Además de estas medidas tradicionales para estimar la variabilidad, se utilizaron otros métodos, como el análisis de Poincaré.

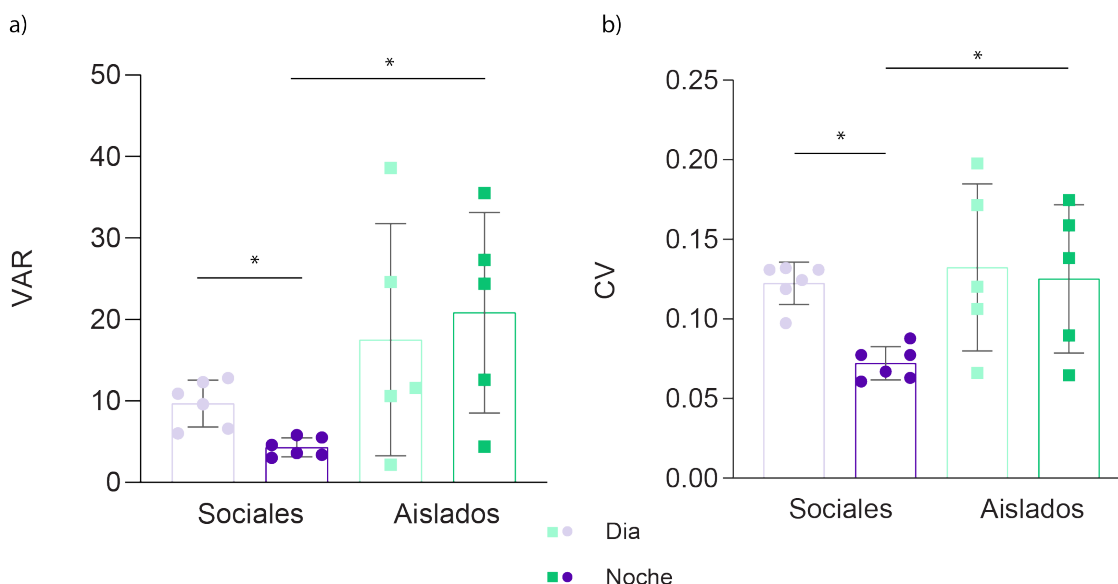


Figura 9: (a) Varianza de los individuos en condiciones de aislamiento y sociales, durante el día y durante la noche. Los peces sociales muestran un descenso de la varianza en la noche, respecto del día (Varianza Dia vs Varianza Noche, Wilcoxon $n=5$, $p=0.02$). Además se observa un efecto de la socialidad en la noche, con una varianza significativamente menor que el individuo aislado (Varianza noche Social vs. Varianza Noche Aislado, Mann-Whitney $n=10$, $p=0.03$) (b) Coeficiente de variación para individuos en condiciones de aislamiento y sociales, durante el día y durante la noche. Los peces sociales muestran un descenso del coeficiente de variación en la noche, respecto del día (CV Dia vs CV Noche, Wilcoxon $n=5$, $p=0.03$). Además se observa un efecto de la socialidad en la noche, con un CV significativamente menor que el individuo aislado (CV noche Social vs. CV Noche Aislado, Mann-Whitney $n=6$, $p=0.04$)

En la Figura 10 se muestran ejemplos de estas gráficas obtenidas tanto para un individuo en presencia de conespecíficos (a) y un individuo aislado (b). De forma cualitativa, podemos observar una mayor diferencia día-noche en el individuo social: la elipse es más "larga" en el sentido de la diagonal en el día. Esto también se observa en los histogramas superpuestos (el día está más achatado y alargado). En el individuo aislado, por otro lado, podemos ver más superposición de las elipses, con largos similares. Esto se observa también en el ancho de los histogramas superpuestos. Notar que en éste, a diferencia del poblacional para individuos aislados, se observa el aumento nocturno de la frecuencia.

El análisis cuantitativo de estos gráficos permite obtener los parámetros de variabilidad: SD1 y SD2. En individuos sociales se encontraron diferencias significa-

tivas en SD2 entre el día y la noche (SD2 social noche vs SD2 social día, Wilcoxon $n=5$, $p=0.0313$), apoyando el descenso de variabilidad en la noche observado en los parámetros tradicionales.

En individuos aislados no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los dos parámetros entre el día y la noche. Por otro lado, se observa una diferencia significativa en SD2 entre individuos sociales y aislados en la noche (SD2 social noche vs SD2 aislado noche, Mann-Whitney $n=5$, $p=0.0173$). Además, el SD1 día-noche en contexto social presenta una diferencia con un p-valor marginal (SD1 Día social vs SD1 noche social, Wilcoxon test $n=5$, $p=0.07$). Estos resultados se muestran en la Figura 11.

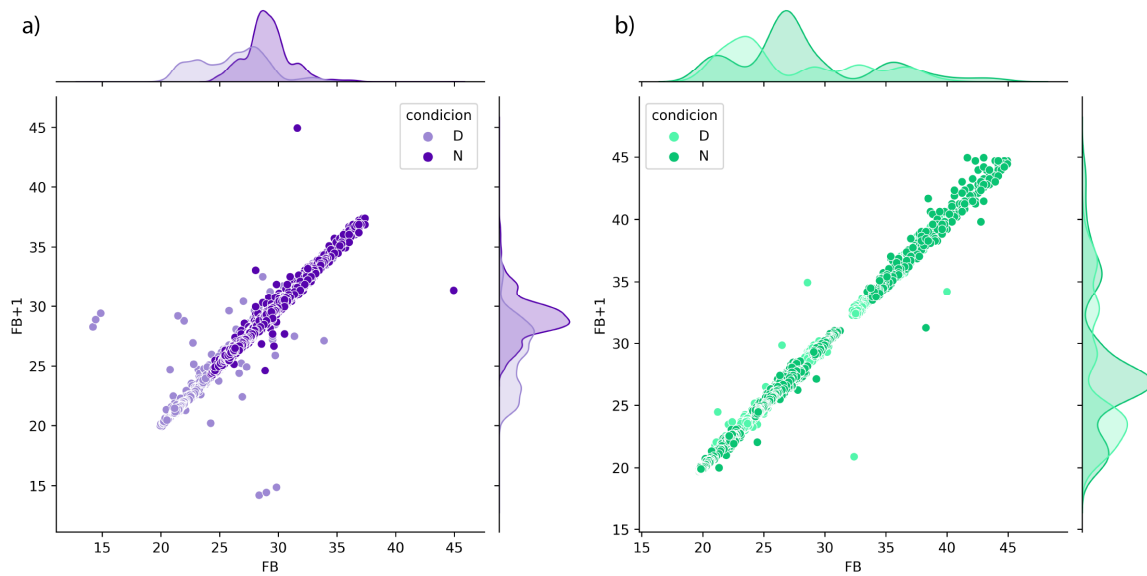


Figura 10: Ejemplos de diagramas de Poincaré para un individuo en contexto social (a) y para un individuo aislado (b). En violeta se observan los puntos del día y en rosa los de la noche. Se superpusieron histogramas de densidad de probabilidad continuos (usando el método KDE) para observar la distribución de las observaciones. El individuo social presenta una mayor variabilidad a largo plazo en el día, mientras que en el individuo aislado no se observa diferencia entre los diagramas de día y de noche.

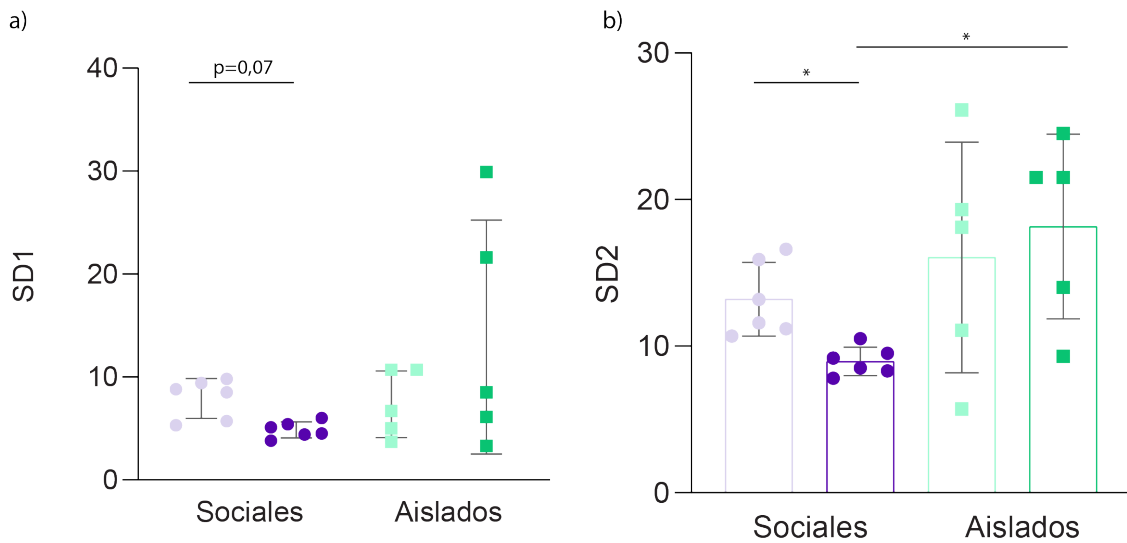


Figura 11: *Parámetros de Poincaré entre grupos. (a) SD1: no se encontraron diferencias significativas entre ningún grupo. Sin embargo, la diferencia día-noche en contexto social tiene un p-valor marginal (SD1 Día social vs SD1 noche social, Wilcoxon test $n=5$, $p=0.07$)(b) SD2: Se encontraron diferencias significativas entre el día y la noche en individuos sociales (SD2 Día social vs SD2 noche social, Wilcoxon test $n=5$, $p=0.0313$). Además, se observa un descenso en el SD2 de individuos sociales en la noche respecto de individuos aislados en la noche (SD2 social noche vs SD2 aislado noche, Mann-Whitney $n=5$, $p=0.0173$)*

7. Discusión

7.1. Variabilidad interindividual:

En esta tesis encontramos que *G. omarorum* en contexto social modula su FB-DOE descargando a frecuencias dentro de un rango más estrecho y que se solapa con el de sus conespecíficos. Esta modulación se exagera en la noche, durante la fase de actividad de esta especie. Estos resultados se evidencian a partir del análisis de variabilidad interindividual discutido en esta sección.

En línea con lo discutido en la introducción (en particular en las secciones 2.1 y 2.2) la sincronización del comportamiento de un individuo con el comportamiento de conespecíficos así como con fluctuaciones de variables ambientales puede resultar ventajoso. Sin embargo, los relojes biológicos por sí solos no son capaces de satisfacer estas necesidades sino que para lograr esta adaptación deben poder recibir e interpretar información ambiental, y cambiar su funcionamiento en consecuencia.

G. omarorum presenta una sincronización interindividual en el ritmo circadiano de conducta eléctrica en poblaciones naturales. Trabajos previos de nuestro grupo (Migliaro y cols., 2018), comparan las acrofases individuales en animales sociales y aislados mostrando que los animales en contexto social sincronizan sus acrofases. En este trabajo construimos sobre esto para estudiar diferentes aspectos de la dinámica temporal de la FB-DOE dentro y fuera del contexto social.

Con ese propósito, primero nos propusimos estudiar la variabilidad interindividual evaluando los rangos de variación en la FB-DOE que manejan los individuos y el grado de solapamiento interindividual de los mismos. Este análisis mostró que los animales en contexto social presentaban una menor variabilidad entre individuos que los animales aislados. Es decir, habría un mayor solapamiento entre los rangos de FB-DOE en animales sociales. Esto se podría deber a un efecto del contexto social propiamente dicho o de un entrainment individual con algún Zeitgeber. La mayor variabilidad interindividual medida en los individuos aislados en iguales condiciones ambientales, sugiere un rol del contexto social en la modulación de los rangos de frecuencias observados en la población natural.

El contexto social, en este sentido, parece imponer un rango de FB-DOE que favorece la percepción y comunicación, al volver la DOE propia y de conespecíficos más predecible (menos variable). Un paso más allá de este razonamiento nos llevaría a pensar en una sincronización de los osciladores circadianos de cada individuo social. De todas formas, para poder afirmar eso se requiere otro enfoque experimental y de análisis.

Para lograr aislar el efecto del contexto social se requerirá de nuevos estudios, en contextos controlados, donde se pueda investigar si se mantiene o no el solapamiento de los rangos de FB-DOE del grupo aún en condiciones ambientales (luz, temperatura, conductividad del agua, etc) constantes.

En esta tesis, además, observamos que la variabilidad interindividual entre individuos en contexto social - de por sí más baja que en los aislados - es aún más baja en la noche respecto del día. Es decir, los individuos presentan un mayor solapamiento de rangos de FB-DOE en la noche que la que muestran en el día.

La noche para los *Gymnotiformes* es el momento del día donde las interacciones sociales y la actividad exploratoria tienden a ser más frecuentes (Black-Cleworth, 1970; G. K. Zupanc, 2002; Stoddard y cols., 2007). De esta forma, requieren de una modulación apropiada de su conducta eléctrica a un entorno más rico a nivel perceptual y social. Esta modulación puede variar a lo largo de diferentes escalas temporales.

En la escala temporal de la DOE, podremos encontrar diferentes modulaciones inmediatas asociadas a las interacciones sociales y a la percepción. Por un lado, en la introducción comentamos el problema que genera en la percepción la interferencia de señales autogeneradas con señales provenientes del ambiente biótico y abiótico. A nivel social, la interferencia a otros peces puede cumplir un rol en la electrocomunicación, particularmente en la contienda agonística. Capurro y cols. (1997) mostraron que el tratamiento con 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) disminuye el comportamiento agonístico, y esto viene acompañado de un aumento en la probabilidad de eventos de JAR. Es decir, sugiere que durante la contienda agonística *G. omarorum* disminuye su conducta de evitación de interferencias. De forma similar, en *Apteronotus leptorhynchus* (especie de pez eléctrico de pulso sudamericano), se encontró que durante contiendas agonísticas, los individuos (tanto machos como hembras) interfieren a sus contrincantes cuando la frecuencia de éstos era mayor que la propia (Tallarovic y Zakon, 2005). En este sentido, la interferencia sirve para "escondarse" del contrincante.

Por otro lado, los chirps, aceleraciones en la FB-DOE pronunciados con variaciones en la forma de onda, junto con los silencios eléctricos, son señales características que cumplen funciones esenciales en la electrocomunicación (Hagedorn, 1988; G. K. Zupanc, 2002; Pappas y Dunlap, 2011; Perrone y cols., 2009), ya sea en el cortejo, el desove o las conductas agonísticas. En *B. gauderio*, estas señales juegan un rol fundamental generando un sofisticado diálogo eléctrico tanto en la reproducción como durante la contienda agonística (Perrone y cols., 2009). En *A. leptorhynchus*, la presencia de los chirps también cumple un rol en la agresividad y en el cortejo; con la presencia de "ecos" de chirps por machos en respuesta a chirps largos en hembras (Henninger y cols., 2018).

Las interacciones y modulación de las diferentes señales implica un grado de complejidad importante. En este trabajo hacemos un alejamiento de escala y vemos que pasa a nivel de horas. Esto nos da una visión general de la modulación circadiana y social, pero cabe tener presente que para estos animales en un minuto pueden pasar muchas cosas, por ejemplo: una contienda agonística en la etapa no reproductiva dura, en promedio, 147 segundos (Batista y cols., 2012)

En este sentido, es interesante notar que, si bien hay modulaciones a una menor escala que pueden llevar a solapamientos en las señales o a señalizaciones características que hagan diferir la DOE de los individuos, a una escala mayor los peces se mantienen dentro de un rango estrecho de frecuencias. Es decir, segundo a segundo pueden diferir o solaparse, con la DOE cumpliendo con su rol receptivo y comunicativo, pero cuando observamos la noche en su conjunto podemos ver que estas modulaciones se restringen en un determinado rango de frecuencias "permitido". Durante el día, si bien continúa habiendo un efecto del contexto social, el rango parece ampliarse, posiblemente por la disminución de interacciones sociales y actividad exploratoria de los animales.

En conclusión, parece haber un efecto complementario entre el contexto social y la modulación circadiana. Por lo observado en individuos aislados, al perder el contexto social aumenta la dispersión en el rango de frecuencias utilizadas. Se pierde también la diferencia día noche, homogeneizando así el rango de frecuencias, que pasa a ser individualizado según la conducta exploratoria de cada pez.

7.2. Variabilidad intraindividual: Modulación circadiana y social de la variabilidad

En este trabajo mostramos que en conjunto con el aumento nocturno de la FB-DOE se da una disminución en su variabilidad a largo plazo. Esto se observa en los individuos en contexto social pero no en los aislados, sugiriendo una modulación complementaria del contexto social y otras variables ambientales.

Como hemos venido discutiendo, la noche para los gymnotiformes es un momento del día con gran riqueza de señales y actividad (Black-Cleworth, 1970; G. K. Zupanc, 2002; Stoddard y cols., 2007). De esta forma, en la noche el ambiente se llena de información que el individuo debe ser capaz de adquirir e interpretar de forma confiable. El aumento de la frecuencia basal de la DOE en la noche, que se mantiene

tanto en contexto social como aislado, así como en condiciones de laboratorio (Migliaro y Silva, 2016), constituye un repertorio conductual con ritmicidad circadiana (Migliaro, 2018). Este ritmo le permite al animal adquirir e interpretar de forma confiable la información ambiental y, en consecuencia, comportarse adecuadamente según los requerimientos del ambiente, que difieren entre el día y la noche.

El aumento nocturno de la FB-DOE registrado en individuos aislados, en condiciones de laboratorio, es menor y más corto que en el contexto natural (Migliaro y Silva, 2016), sugiriendo la acción conjunta de las diversas variables ambientales, así como del contexto social. Las interacciones sociales, incluso las que ocurren en el laboratorio, han demostrado potenciar el aumento nocturno de la conducta eléctrica en la especie simpátrida *Brachyhyopomus gauderio* (Silva y cols., 2007).

Reciente trabajo de nuestro grupo mostró que en *B. gauderio*, el aumento nocturno de la FB-DOE va acompañado de un aumento en la variabilidad (Vazquez y cols., manuscrito en preparación) en el contexto natural. *B. Gauderio* y *G. omarorum* son especies muy similares, pero que difieren de gran manera en sus niveles de socialidad: mientras que *B. gauderio* es una especie gregaria, *G. omarorum* es una especie territorial. Es interesante notar como en estas dos especies ubicadas casi en los extremos de la socialidad, la variabilidad de la conducta eléctrica sigue patrones diarios invertidos.

Considerando que la variabilidad de una señal se correlaciona directamente con su entropía (Chen y cols., 2016) o incertidumbre, una mayor regularidad en la descarga nocturna del órgano eléctrico puede que brinde un escenario más confiable para la electrocomunicación y electrorecepción. En *B. gauderio*, sin embargo, el aumento de la variabilidad puede que esté relacionado con el manejo de un repertorio conductual más amplio que incluya una diversidad de señales comunicativas que *G. omarorum*, por ser una especie territorial, no utiliza o utiliza con menor frecuencia.

En este sentido, conceptualizamos a la variabilidad como una medida de la capacidad de control del sistema circadiano que genera el ritmo de conducta eléctrica. Una menor variabilidad implica una menor flexibilidad del repertorio de señales, que ayuda a evitar dificultades en la comunicación, principalmente en las interacciones agonísticas. En un contexto social, *G. omarorum* debe mantener un control fino sobre las señales que genera, ya que de lo contrario puede costarle su territorio. Esta hipótesis explicaría el descenso de variabilidad en la noche, cuando los individuos están más alertas, explorando e interactuando. También explicaría la pérdida de este efecto circadiano en los individuos aislados.

En otros teleósteos, así como en algunos mamíferos, el contexto social induce una disminución en la variabilidad y cantidad de actividad locomotora, sugiriendo un efecto de la presencia de coespecíficos en la motivación para los despliegues conductuales (Gómez-Laplaza y Morgan, 1991; Pasquarelli y cols., 2017). Esto apoya nuestra hipótesis sobre la necesidad de un control mayor sobre la conducta en presencia de coespecíficos.

Los peces teleósteos *Trichogaster trichopterus*, una especie de agua dulce tropical, son territoriales y los machos defienden su territorio mediante comportamientos

de agresión (Miller, 1964). Poseer territorio les brinda una ventaja para la obtención de parejas, pero el comportamiento agonístico necesario para mantenerlo puede “espantar” a hembras visitantes, ya que responden de forma agresiva a cualquier visitante, independientemente de su sexo (Miller, 1964). Hollis y cols. (1997), descubrieron que la flexibilidad conductual en esta especie, de forma de poder inhibir el comportamiento agresivo al tener visitantes hembras, aumenta el éxito reproductivo. En ese sentido, un mayor control sobre las señales que emiten, en este caso dado gracias a un condicionamiento previo que realizan los investigadores, representa una ventaja para esa especie.

En gorriones cantores (*Melospiza melodia*) existe una gran variabilidad interindividual en la respuesta agresiva a una señal de intrusión emitida en experimentos de playback (Nowicki y cols., 2002). Sin embargo, cada individuo responde de forma consistente al estímulo a lo largo de diferentes estados reproductivos, sugiriendo que algunos defienden su territorio más vigorosamente que otros, pero que no cambian de estrategia en el tiempo (Nowicki y cols., 2002).

No es novedad que las señales sociales, honestas o deshonestas, son centrales para el éxito reproductivo de los individuos. El comportamiento agonístico es una interacción social con un alto costo energético, el cual se debe balancear con los beneficios del mismo (adquisición y mantención de territorio, recursos, parejas). En este sentido, señales sin ambigüedades y consistentes promueven una comunicación más confiable. Un análisis más fino de las señales emitidas por *G. omarorum*, la frecuencia de emisión de las mismas y los contextos en los cuales ocurren es necesario para una caracterización de la consistencia en la comunicación y cómo ésta influye en el éxito reproductivo de los individuos.

En suma, los resultados de esta tesis aportan al conocimiento de la modulación social y circadiana de la conducta en general y eléctrica en particular. Dan, además, un interesante puntapié para continuar con el estudio de la predictibilidad de las señales sociales como proxy de la fidelidad las mismas, así como su rol en el control de las interacciones a nivel poblacional.

Referencias

- Ardanaz, J., Silva, A., y Macadar, O. (2001, 12). Temperature sensitivity of the electric organ discharge waveform in gymnotus carapo. *Journal of Comparative Physiology A: Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 187, 853-864. doi: 10.1007/s00359-001-0256-8
- Batista, G., Zubizarreta, L., Perrone, R., y Silva, A. (2012, 4). Non-sex-biased dominance in a sexually monomorphic electric fish: Fight structure and submissive electric signalling. *Ethology*, 118, 398-410. doi: 10.1111/j.1439-0310.2012.02022.x
- Bell, C. C. (1981, 10). An efference copy which is modified by reafferent input. *Science*, 214, 450-453. doi: 10.1126/science.7291985
- Bennett, M. V., Pappas, G. D., Aljure, E., y Nakajima, Y. (1967, 3). Physiology and ultrastructure of electrotonic junctions. ii. spinal and medullary electromotor nuclei in mormyrid fish. *Journal of Neurophysiology*, 30. doi: 10.1152/jn.1967.30.2.180
- Bhadra, U., Thakkar, N., Das, P., y Bhadra, M. P. (2017, 7). Evolution of circadian rhythms: from bacteria to human. *Sleep Medicine*, 35. doi: 10.1016/j.sleep.2017.04.008
- Black-Cleworth, P. (1970, 1). The role of electrical discharges in the non-reproductive social behaviour of gymnotus carapo (gymnotidae, pisces). *Animal Behaviour Monographs*, 3, 1-IN1. doi: 10.1016/S0066-1856(70)80001-2
- Bloch, G., Herzog, E. D., Levine, J. D., y Schwartz, W. J. (2013, 8). Socially synchronized circadian oscillators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280, 20130035. doi: 10.1098/rspb.2013.0035
- Cahill, G. M., Hurd, M. W., y Batchelor, M. M. (1998, 10). Circadian rhythmicity in the locomotor activity of larval zebrafish. *NeuroReport*, 9, 3445-3449. doi: 10.1097/00001756-199810260-00020
- Capurro, A., Reyes-Parada, M., Olazabal, D., Perrone, R., Silveira, R., y Macadar, O. (1997, 11). Aggressive behavior and jamming avoidance response in the weakly electric fish gymnotus carapo: Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (mdma). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 118, 831-840. doi: 10.1016/S0300-9629(97)00132-1
- Caputi, A., Silva, A., y Macadar, O. (1998). The electric organ discharge of *brachyhypopomus pinnicaudatus*. *Brain, Behavior and Evolution*, 52, 148-158. doi: 10.1159/000006559
- Caputi, A., y Trujillo-Cenóz, O. (1994). The spiral cord of *gymnotus carapo*: The electromotoneurons and their projection patterns. *Brain, Behavior and Evolution*, 44, 166-174. doi: 10.1159/000113588
- Caputi, A. A., Carlson, B. A., y Macadar, O. (2005). *Electric organs and their control*. Springer New York. doi: 10.1007/0-387-28275-0_14

- Castelló, M. E., Caputi, A., y Trujillo-Cenóz, O. (1998, 11). Structural and functional aspects of the fast electrosensory pathway in the electrosensory lateral line lobe of the pulse fish gymnotus carapo. *The Journal of comparative neurology*, 401, 549-63.
- Chen, B., Wang, J., Zhao, H., y Principe, J. (2016, 5). Insights into entropy as a measure of multivariate variability. *Entropy*, 18, 196. doi: 10.3390/e18050196
- Collin, J.-P. (1969). Contribution a l'étude de l'organe pineál. de l'épiphyse sensorielle a la glande pinéale: modalités de transformation et implications fonctionnelles. *Annls Stn Biol. Besse-enChandesse*, 1, 1-359.
- Collin, J.-P. (1971, 5). *Differentiation and regression of the cells of the sensory line in the epiphysis cerebri*. doi: 10.1002/9780470715376.ch5
- Crampton, W. G. R. (2019, 7). Electroreception, electrogenesis and electric signal evolution. *Journal of Fish Biology*, 95, 92-134. doi: 10.1111/jfb.13922
- de Forges, M. M. R., Crampton, W. G. R., y Albert, J. S. (2009, 9). A new species of gymnotus (gymnotiformes, gymnotidae) from uruguay: Description of a model species in neurophysiological research. *Copeia*, 2009, 538-544. doi: 10.1643/CI-07-103
- Dodt, E. (1963). Photosensitivity of the pineal organ in the teleost, salmo irideus (gibbons). *Experientia*, 19(12), 642-643.
- EKSTRZM, P., y MEISSL, H. (1997). The pineal organ of teleost fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7, 199-284. doi: 10.1023/A:1018483627058
- Falcón, J. (1999, 6). Cellular circadian clocks in the pineal. *Progress in Neurobiology*, 58, 121-162. doi: 10.1016/S0301-0082(98)00078-1
- Falcón, J., Besseau, L., Fuentès, M., Sauzet, S., Magnanou, E., y Boeuf, G. (2009, 4). Structural and functional evolution of the pineal melatonin system in vertebrates. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1163, 101-111. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.04435.x
- Falcón, J., Migaud, H., Muñoz-Cueto, J., y Carrillo, M. (2010, 2). Current knowledge on the melatonin system in teleost fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165, 469-482. doi: 10.1016/j.ygcen.2009.04.026
- Fishman, M., Jacono, F. J., Park, S., Jamasebi, R., Thungtong, A., Loparo, K. A., y Dick, T. E. (2012, 7). A method for analyzing temporal patterns of variability of a time series from poincaré plots. *Journal of Applied Physiology*, 113, 297-306. doi: 10.1152/jappphysiol.01377.2010
- Fontanarrosa, M. S., Chaparro, G., de Tezanos Pinto, P., Rodriguez, P., y O'Farrell, I. (2010, 6). Zooplankton response to shading effects of free-floating plants in shallow warm temperate lakes: a field mesocosm experiment. *Hydrobiologia*, 646, 231-242. doi: 10.1007/s10750-010-0183-1

- Fuchikawa, T., Eban-Rothschild, A., Nagari, M., Shemesh, Y., y Bloch, G. (2016, 9). Potent social synchronization can override photic entrainment of circadian rhythms. *Nature Communications*, 7. doi: 10.1038/ncomms11662
- Golombek, D. A., y Rosenstein, R. E. (2010, 7). Physiology of circadian entrainment. *Physiological Reviews*, 90, 1063-1102. doi: 10.1152/physrev.00009.2009
- Gómez-Laplaza, L. M., y Morgan, E. (1991). Effects of short-term isolation on the locomotor activity of the angelfish (pterophyllum scalare). *Journal of Comparative Psychology*, 105, 366-375. doi: 10.1037/0735-7036.105.4.366
- Hagedorn, M. (1988, 5). Ecology and behavior of a pulse-type electric fish, hypopomus occidentalis (gymnotiformes, hypopomidae), in a fresh-water stream in panama. *Copeia*, 1988, 324. doi: 10.2307/1445872
- Hagedorn, M., y Heiligenberg, W. (1985, 2). Court and spark: electric signals in the courtship and mating of gymnotoid fish. *Animal Behaviour*, 33, 254-265. doi: 10.1016/S0003-3472(85)80139-1
- Hardeland, R., Pandi-Perumal, S., y Cardinali, D. P. (2006, 3). Melatonin. *The International Journal of Biochemistry Cell Biology*, 38, 313-316. doi: 10.1016/j.biocel.2005.08.020
- Heiligenberg, W., Finger, T., Matsubara, J., y Carr, C. (1981, 5). Input to the medullary pacemaker nucleus in the weakly electric fish, eigenmannia (sternopygidae, gymnotiformes). *Brain Research*, 211, 418-423. doi: 10.1016/0006-8993(81)90966-5
- Henninger, J., Krahe, R., Kirschbaum, F., Grewe, J., y Benda, J. (2018, 6). Statistics of natural communication signals observed in the wild identify important yet neglected stimulus regimes in weakly electric fish. *The Journal of Neuroscience*, 38, 5456-5465. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0350-18.2018
- Hollis, K. L., Pharr, V. L., Dumas, M. J., Britton, G. B., y Field, J. (1997, 9). Classical conditioning provides paternity advantage for territorial male blue gouramis (trichogaster trichopterus). *Journal of Comparative Psychology*, 111, 219-225. doi: 10.1037/0735-7036.111.3.219
- Hopkins, C. D., Bell, C., Cobar, C., y Heiligenberg, W. (1974). Electric communication in fish. *American Scientist*, 426-437.
- Hopkins, C. D., Comfort, N. C., Bastian, J., y Bass, A. H. (1990). Functional analysis of sexual dimorphism in an electric fish, *hypopomus pinnicaudatus*, order gymnotiformes. *Brain, Behavior and Evolution*, 35, 350-367. doi: 10.1159/000115880
- Huikuri, H. V., Makikallio, T. H., Peng, C.-K., Goldberger, A. L., Hintze, U., y Møller, M. (2000, 1). Fractal correlation properties of r-r interval dynamics and mortality in patients with depressed left ventricular function after an acute myocardial infarction. *Circulation*, 101, 47-53. doi: 10.1161/01.CIR.101.1.47

- HURD, M., DEBRUYNE, J., STRAUME, M., y CAHILL, G. (1998, 10). Circadian rhythms of locomotor activity in zebrafish. *Physiology Behavior*, 65, 465-472. doi: 10.1016/S0031-9384(98)00183-8
- Idda, M. L., Bertolucci, C., Vallone, D., Gothilf, Y., Sánchez-Vázquez, F. J., y Foulkes, N. S. (2012). *Circadian clocks: Lessons from fish* (Vol. 199). doi: 10.1016/B978-0-444-59427-3.00003-4
- Ishida, N., Kaneko, M., y Allada, R. (1999, 8). Biological clocks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96. doi: 10.1073/pnas.96.16.8819
- Jun, J. J., Longtin, A., y Maler, L. (2016, 5). Active sensing associated with spatial learning reveals memory-based attention in an electric fish. *Journal of Neurophysiology*, 115, 2577-2592. doi: 10.1152/jn.00979.2015
- Kawasaki, M., y Heiligenberg, W. (1989). Distinct mechanisms of modulation in a neuronal oscillator generate different social signals in the electric fish *hypsopomus*. *Journal of Comparative Physiology A*, 165, 731-741. doi: 10.1007/BF00610872
- Krittika, S., y Yadav, P. (2020, 10). Circadian clocks: an overview on its adaptive significance. *Biological Rhythm Research*, 51, 1109-1132. doi: 10.1080/09291016.2019.1581480
- Kronfeld-Schor, N., Visser, M. E., Salis, L., y van Gils, J. A. (2017, 11). Chronobiology of interspecific interactions in a changing world. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372, 20160248. doi: 10.1098/rstb.2016.0248
- Kumar, V. (2017). *Biological timekeeping: Clocks, rhythms and behaviour* (V. Kumar, Ed.). Springer India. doi: 10.1007/978-81-322-3688-7
- Meissl, H., y Dodt, E. (1981). *Comparative physiology of pineal photoreceptor organs*.
- Menaker, M., Moreira, L., y Tosini, G. (1997, 3). Evolution of circadian organization in vertebrates. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 30, 305-313. doi: 10.1590/S0100-879X1997000300003
- Migliaro, A. (2018). *Modulación ambiental y hormonal del ritmo circadiano de la conducta eléctrica*.
- Migliaro, A., Moreno, V., Marchal, P., y Silva, A. (2018, 1). Daily changes in the electric behavior of weakly electric fish in nature persist in constant darkness and are socially synchronized. *Biology Open*. doi: 10.1242/bio.036319
- Migliaro, A., y Silva, A. (2016). Melatonin regulates daily variations in electric behavior arousal in two species of weakly electric fish with different social structures. *Brain, Behavior and Evolution*, 87, 232-241. doi: 10.1159/000445494
- Miller, R. J. (1964). Studies on the social behavior of the blue gourami, *trichogaster trichopterus* (pisces, belontiidae). *Copeia*, 469-496.

- Moortgat, K. T., Keller, C. H., Bullock, T. H., y Sejnowski, T. J. (1998, 4). Submicro-second pacemaker precision is behaviorally modulated: The gymnotiform electromotor pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95, 4684-4689. doi: 10.1073/pnas.95.8.4684
- Nogueira, J., y Ángel Ariel Caputi. (2011, 7). Timing actions to avoid refractoriness: A simple solution for streaming sensory signals. *PLoS ONE*, 6, e22159. doi: 10.1371/journal.pone.0022159
- Nowicki, S., Searcy, W. A., Krueger, T., y Hughes, M. (2002). Individual variation in response to simulated territorial challenge among territory-holding song sparrows. *Journal of Avian Biology*, 33(3), 253–259. Descargado 2022-11-17, de <http://www.jstor.org/stable/3677592>
- Oksche, A. (1971). Sensory and glandular elements of the pineal organ. En J. Knight (Ed.), (p. 127-146).
- Pappas, K., y Dunlap, K. (2011). *Sensory systems, perception, and learning | shocking comments: Electrocommunication in teleost fish*. Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-374553-8.00079-4
- Paranjpe, D. A., y Sharma, V. K. (2005, 5). Evolution of temporal order in living organisms. *Journal of Circadian Rhythms*, 3, 7. doi: 10.1186/1740-3391-3-7
- Pasquarelli, N., Voehringer, P., Henke, J., y Ferger, B. (2017, 8). Effect of a change in housing conditions on body weight, behavior and brain neurotransmitters in male c57bl/6j mice. *Behavioural Brain Research*, 333, 35-42. doi: 10.1016/j.bbr.2017.06.018
- Perrone, R. (2012). *La vasotocina modula el comportamiento social de dos especies de peces eléctricos con diferente socialidad* .
- Perrone, R., Macadar, O., y Silva, A. (2009, 5). Social electric signals in freely moving dyads of brachyhypopomus pinnicaudatus. *Journal of Comparative Physiology A*, 195, 501-514. doi: 10.1007/s00359-009-0427-6
- Perrone, R., Migliaro, A., Comas, V., Quintana, L., Borde, M., y Silva, A. (2014, 4). Local vasotocin modulation of the pacemaker nucleus resembles distinct electric behaviors in two species of weakly electric fish. *Journal of Physiology-Paris*, 108, 203-212. doi: 10.1016/j.jphysparis.2014.07.007
- Perrone, R., y Silva, A. C. (2018, 1). Status-dependent vasotocin modulation of dominance and subordination in the weakly electric fish gymnotus omarorum. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12. doi: 10.3389/fnbeh.2018.00001
- Pittendrigh, C. S. (1981). *Circadian systems: Entrainment*. Springer US. doi: 10.1007/978-1-4615-6552-9_7
- Pittendrigh, C. S., y Minis, D. H. (1964, 9). The entrainment of circadian oscillations by light and their role as photoperiodic clocks. *The American Naturalist*, 98, 261-294. doi: 10.1086/282327

- Pérez, J. H., Tolla, E., Dunn, I. C., Meddle, S. L., y Stevenson, T. J. (2019, 1). A comparative perspective on extra-retinal photoreception. *Trends in Endocrinology Metabolism*, 30, 39-53. doi: 10.1016/j.tem.2018.10.005
- Pévet, P. (2003, 12). Melatonin in animal models. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 5, 343-352. doi: 10.31887/DCNS.2003.5.4/ppvet
- Quintana, L., Pouso, P., Fabbiani, G., y Macadar, O. (2011, 1). A central pacemaker that underlies the production of seasonal and sexually dimorphic social signals: anatomical and electrophysiological aspects. *Journal of Comparative Physiology A*, 197, 75-88. doi: 10.1007/s00359-010-0588-3
- Refinetti, R., y Menaker, M. (1992, 3). The circadian rhythm of body temperature. *Physiology Behavior*, 51, 613-637. doi: 10.1016/0031-9384(92)90188-8
- ROENNEBERG, T. (2012, 4). What is chronotype? *Sleep and Biological Rhythms*, 10, 75-76. doi: 10.1111/j.1479-8425.2012.00541.x
- Roenneberg, T., y Mellow, M. (2007, 1). Entrainment of the human circadian clock. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 72, 293-299. doi: 10.1101/sqb.2007.72.043
- Rosenblatt, M. (1956, 9). Remarks on some nonparametric estimates of a density function. *The Annals of Mathematical Statistics*, 27, 832-837. doi: 10.1214/aoms/1177728190
- Siehler, O., Wang, S., y Bloch, G. (2021, 10). Social synchronization of circadian rhythms with a focus on honeybees. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 376. doi: 10.1098/rstb.2020.0342
- Silva, A., Perrone, R., y Macadar, O. (2007, 2). Environmental, seasonal, and social modulations of basal activity in a weakly electric fish. *Physiology Behavior*, 90, 525-536. doi: 10.1016/j.physbeh.2006.11.003
- Silva, A., Quintana, L., Ardanaz, J. L., y Macadar, O. (2002, 9). Environmental and hormonal influences upon eod waveform in gymnotiform pulse fish. *Journal of Physiology-Paris*, 96, 473-484. doi: 10.1016/S0928-4257(03)00003-2
- Silva, A., Quintana, L., Galeano, M., y Errandonea, P. (2003, 4). Biogeography and breeding in gymnotiformes from uruguay. *Environmental Biology of Fishes*, 66, 329-338. doi: 10.1023/A:1023986600069
- Stoddard, P. K., Markham, M. R., Salazar, V. L., y Allee, S. (2007, 1). Circadian rhythms in electric waveform structure and rate in the electric fish brachyhypopomus pinnicaudatus. *Physiology Behavior*, 90, 11-20. doi: 10.1016/j.physbeh.2006.08.013
- Tallarovic, S. K., y Zakon, H. H. (2005, 12). Electric organ discharge frequency jamming during social interactions in brown ghost knifefish, *apteronotus leptorhynchus*. *Animal Behaviour*, 70, 1355-1365. doi: 10.1016/j.anbehav.2005.03.020

- Westby, G. M. (1981, 1). Communication and jamming avoidance in electric fish. *Trends in Neurosciences*, 4, 205-210. doi: 10.1016/0166-2236(81)90066-7
- Westby, G. W. M. (1979). Electrical communication and jamming avoidance between resting gymnotus carapo. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 4(4), 381-393. Descargado 2022-11-17, de <http://www.jstor.org/stable/4599209>
- Whitmore, D., Foulkes, N. S., y Sassone-Corsi, P. (2000, 3). Light acts directly on organs and cells in culture to set the vertebrate circadian clock. *Nature*, 404, 87-91. doi: 10.1038/35003589
- Zupanc, G. K. (2002, 9). From oscillators to modulators: behavioral and neural control of modulations of the electric organ discharge in the gymnotiform fish, apteronotus leptorhynchus. *Journal of Physiology-Paris*, 96, 459-472. doi: 10.1016/S0928-4257(03)00002-0
- Zupanc, G. K. H., y Bullock, T. H. (2005). *From electrogenesis to electroreception: An overview*. Springer New York. doi: 10.1007/0-387-28275-0_2