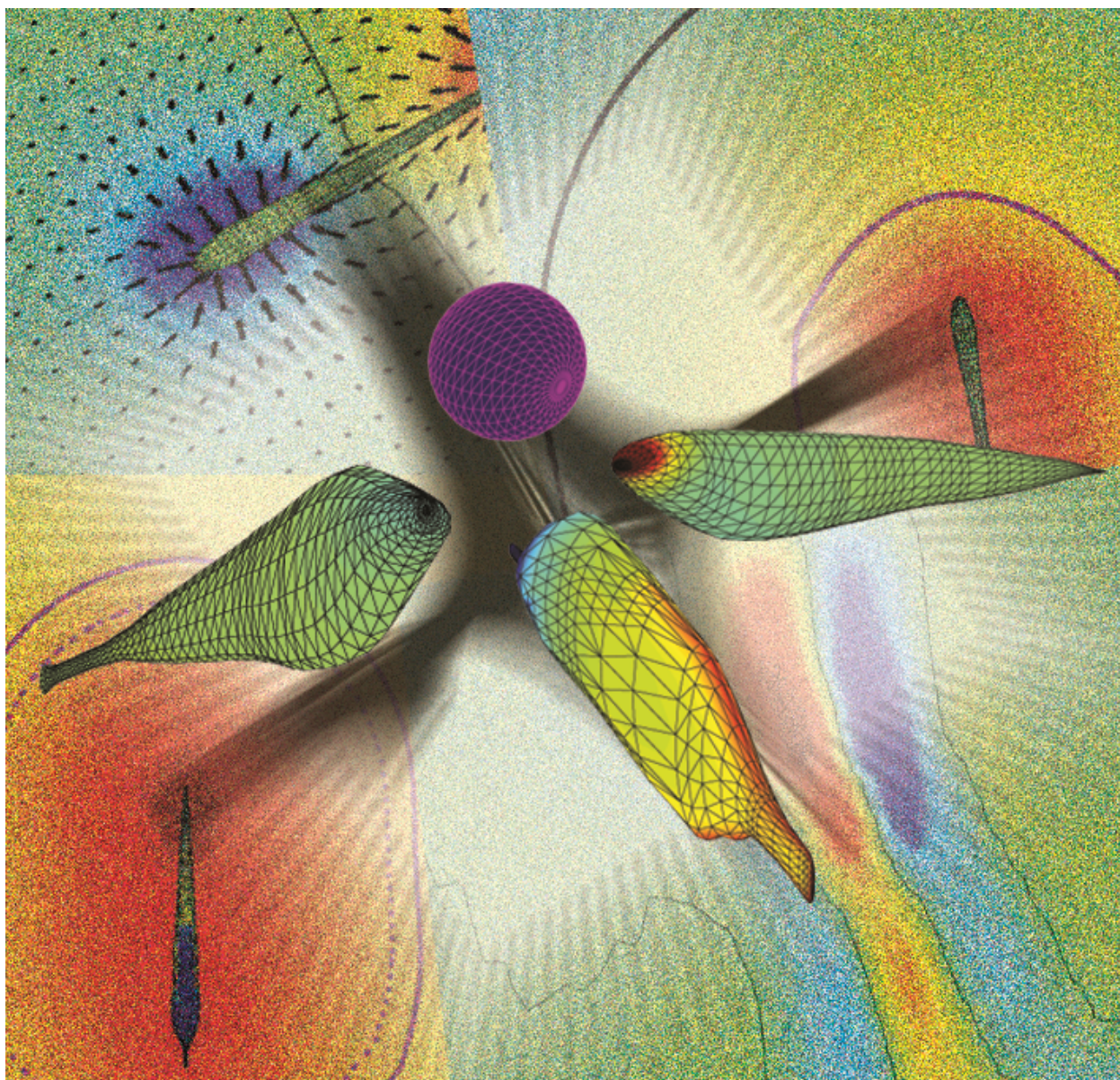




AÑO 2014

LIC. FEDERICO PEDRAJA

Tesis de Maestría PEDECIBA. Área Biología, Subárea Neurociencia |



Tesis de Maestría PEDECIBA. Área Biología, Subárea
Neurociencia, 2014



Electrorecepción en *Gymnotus omarorum*: desde la interacción con objetos simples a comportamientos sociales complejos

Federico Pedraja

Sección Biomatemática, Instituto de Biología.
Facultad de Ciencias, Udelar
Montevideo, Uruguay

Orientador: Ruben Budelli

Tribunal:
Eduardo Mizraji
Omar Macadar
Maria Castelló

Resumen

El modelado del campo eléctrico y las imágenes generadas por peces eléctricos contribuyen a la mejor comprensión de los condicionamientos prereceptoriales de las imágenes eléctricas. Aunque el método informático basado en los elementos de contorno ha sido muy exitoso para el cálculo de las imágenes y los campos, la complejidad de la descarga del órgano eléctrico representa un desafío para el modelado de la electrorrecepción. Se desarrolló previamente un método directo para el cálculo de imágenes eléctricas que tiene en cuenta la estructura y fisiología del órgano eléctrico, así como la geometría y la resistividad de los tejidos de los peces. La presente tesis presenta una aplicación general del simulador para el estudio de las imágenes eléctricas en peces eléctricos con órganos eléctricos extendidos y heterogéneos. La misma se desarrolla en dos capítulos, donde se aplica la herramienta informática para el abordaje dos problemas.

En el primer capítulo se estudiaron tres especies de Gymnotiformes, incluyendo una de tipo onda (*Apteronotus albifrons*) y dos de tipo pulso (*Gymnotus obscurus* y *Gymnotus coropinae*) cuyos órganos eléctricos difieren en su complejidad y se compararon con los peces ya estudiados, *Gnathonemus petersii* y *Gymnotus omarorum*. EL objetivo fue caracterizar la generación del campo eléctrico y la formación de imágenes eléctricas en especies diversas de peces eléctricos. abordando las siguientes preguntas: 1) cómo calcular la distribución de las fuentes equivalentes basadas en mediciones experimentales?, 2) cómo la complejidad de la descarga del órgano eléctrico determina las características del campo ? y 3) cómo el campo basal determina las características de las imágenes eléctricas?. Los resultados permiten generalizar la hipótesis (previamente posada para *G. omarorum*) en el que la región perioral y el resto del cuerpo desempeñan diferentes papeles sensoriales. Mientras que la "fóvea electrosensorial" aparece adecuada para la exploración de objetos en detalle, el resto del cuerpo es comparado como una "retina periférica" para detectar la presencia y el movimiento de objetos. Se discuten los aspectos comunes y las diferencias entre las especies. En comparación con las especies de África, los peces eléctricos americanos muestran un campo más débil. Esta característica, derivada de la complejidad del órgano eléctrico distribuido, puede proporcionar a los Gymnotiformes con la posibilidad de emitir señales específicas de sitio para ser detectadas en el corto alcance por una misma especie y la posibilidad de desarrollar estrategias de evitación de predadores.

La aplicación de modelos puede brindar pistas importantes acerca de la conducta de los peces eléctricos. En el último capítulo de esta tesis, se pretendió generar un marco conceptual en la utilización de modelos informáticos para estudiar las propiedades de la imagen eléctrica en situaciones reales. Se utilizó el programa desarrollado previamente para el cálculo de las corrientes transcutáneas, mapas de potenciales y el campo eléctrico, en este caso para dos peces. Se realizó un abordaje experimental enfocado en los encuentros agonísticos diádicos entre peces eléctricos de la especie *Gymnotus omarorum*. De esta forma se realizaron registros en peceras y se modelaron las imágenes eléctricas de ambos peces, con el objetivo de Determinar el rol de la electrorrecepción activa y pasiva en la evaluación entre coespecíficos en contexto agonístico. Este abordaje mostro que efectivamente hay diferencias en las imágenes eléctricas de ambos peces enmarcado en este contexto. Sin embargo la utilización o no de esa información dependiente de la distancia y de la posición de ambos peces, sigue siendo una interrogante.

Agradecimientos

Las fuentes de financiación que hicieron posible la realización de esta tesis fueron: ANII Beca de Maestría y PEDECIBA.

Sin lugar a dudas esta es la sección mas difícil de esta tesis, tengo mucho que agradecer y el espacio es acotado para hacerlo debidamente. Espero se sepa entender.

Primero que nada quiero agradecer al tribunal de esta tesis: A Eduardo Mizraji, Omar Macadar y Marita Castello. Gracias a ellos por la dedicación que le dieron a mi trabajo, por sus comentarios siempre interesantes y por su buen humor.

A Ruben, porque me dejó ser parte de un grupo humano increíble y me dio la oportunidad de trabajar de lo que realmente me gusta. Gracias por dejarme hacer la licenciatura y la maestría, gracias por los consejos y por compartir conmigo tu historia de vida.

A Ana, por darme la oportunidad de trabajar junto a un grupo hermoso en la UBNC, por su apoyo incondicional, por mostrar siempre el lado positivo de las cosas.

A la gente del piso 4. Sin lugar a dudas el mejor piso de Facultad de Ciencias. Adrian, Andres, Eugenio, Fran, Gaby, Helena, Leo, Lu Graña, Matias, Mari, Maria Noel, Musto, Nati, Pelo, Yuyo. A la gente del piso cuarto y afines. Juan Carlos, Alvaro, Andres, Cami. Gracias por compartir su tiempo conmigo.

A la gente de la UBNC. Adri Jala, Lau, Lu, Pau, Roxe. Sin lugar a dudas la mejor unidad del IIBCE. A la gente de Neurofisiología y afines. Nico, Adrian, Russo, Felipe, Gaby Gaby, Ceci, Tabare, Virginia

Gracias a todos por hacerme reír y disfrutar del día a día.

A la gente de la BAW que me hicieron disfrutar de forma increíble. Valen, Camila, Moira, Carina, Jala, Emilia, Marcela, Marto, Sabrina, Esteban, Mati Cavelli, Vicent, Gaby, Gaby Martínez, Hernán, Mariana, Josepe

A mis amigos de la vida que me acompañaron siempre en las buenas y en las malas. Diego, Emi, Goyo, Guille, Pablo, Ro, Seba.

A mi familia que me bancaron en todo momento a lo largo de mi carrera y de mi vida. Tíos Y Abuelos

A mi Padre y a mi Madre, por siempre darme todo lo que pueden y más. Soy lo que soy y llegue a donde llegue gracias a su amor y cariño.

A mi familia extendida. Sylvia, Mario, Ines, Flor y Santi. Gracias por abrirme las puertas de su vida.

Y especialmente a Lucia, Te Amo

Cada vez que uno comparte aunque sea un momento de su vida con alguien, un cambio casi inapreciable se da a nivel neuronal, ambos dos se ven afectados por el otro.

El placer y el goce de compartir mi vida con estas personas han moldeado mi ser. De cada uno me llevo algo, de cada uno he robado algo...espero desde lo más profundo de mi ser que ustedes también se hallan llevado algo de mí.

Gracias

Índice

1	<i>Introducción general</i>	8
2	<i>Hipótesis y Objetivos</i>	10
3	<i>CAPITULO 1</i>	<i>Modelado computacional de Gymnotus</i>
	<i>omarorum: Electrorrecepción a través de la evolución, Semejanzas y Diferencias.</i>	12
3.1	<i>Introducción</i>	13
3.1.1	Electrorrecepción	13
3.1.2	Imagen eléctrica	15
3.1.3	Modelos en peces eléctricos	17
3.2	<i>Métodos</i>	19
3.2.1	Modelado del Órgano eléctrico	19
3.2.2	Modelado de la Imagen eléctrica	20
3.3	<i>Resultados</i>	23
3.3.1	Desde los registros en la trampa de aire a la distribución de las fuentes	23
3.3.2	Desde la distribución de las fuentes al campo eléctrico	26
3.3.3	De los campos a las imágenes: mecanismos de formación de imágenes estudiadas con pequeñas esferas metálicas	32
3.4	<i>Discusión</i>	37
3.4.1	El papel de la estrategia electromotora en la generación de imágenes sensoriales	37
3.4.2	Elementos comunes en la imagen eléctrica activa	38
3.4.3	Ventajas y desventajas de tener un OE complejo	39
4	<i>CAPITULO 2</i>	<i>Peleas eléctricas: electrorrecepción</i>
	<i>durante encuentros agonísticos en Gymnotus omarorum</i>	42
4.1	<i>Introducción</i>	43
4.1.1	Conducta agonística	43
4.1.2	<i>Gymnotus omarorum</i> como modelo de conducta agonística	43
4.1.3	Respuestas de acercamiento ante campos eléctricos simulados	44
4.2	<i>Métodos</i>	45
4.2.1	Protocolo conductual	45

4.2.2	Registros conductuales.....	45
4.2.3	Modelado de escenas y órganos eléctricos.....	47
4.2.4	Simulaciones computacionales.....	48
4.2.5	Análisis estadístico	49
4.3	Resultados	50
4.3.1	Dinámica de los encuentros agonísticos	50
4.3.2	Trayectoria de acercamiento.....	52
4.3.3	Imagen eléctrica activa y pasiva	53
4.4	Discusión	59
4.4.1	Ventajas y desventajas en el uso de modelos informáticos.....	59
4.4.2	Relación entre territorio y despliegues agresivos.....	60
4.4.3	El mundo electrosensorial y los comportamientos complejos.....	60
5	Conclusiones generales	63
6	Contribuciones	65
6.1.1	Artículos aceptados y en preparación.....	65
7	Perspectivas.....	66
8	Material suplementario	67
9	Referencias	75

Introducción general

Las distintas formas de vida que habitan el planeta están constantemente expuestas a diferentes formas de energía, algunos ejemplos de éstas son; mecánica, química, térmica, eléctrica, electromagnética. A lo largo de la evolución, los distintos organismos han desarrollado la capacidad de obtener datos del medio a través de sensor cambios en los distintos tipos de energía y producir respuestas ante los mismos. De esta forma, existen en las distintas especies de animales, estructuras especializadas en la recepción que cambian su actividad ante un tipo de energía específica. A este tipo de estructura se le denomina habitualmente receptor sensorial, y su función primordial es informar al sistema nervioso central.

Los peces eléctricos de descarga débil exploran su medio ambiente haciendo uso de la electrorecepción. Para ello, poseen dos modalidades sensoriales basadas en la sensibilidad a campos eléctricos: la electrorrecepción pasiva y la electrorrecepción activa [3,4,5,6]. La electrorrecepción pasiva, modalidad no exclusiva de los peces eléctricos, permite sensor los campos eléctricos generados externamente mediante receptores de bajo umbral, distribuidos en la piel. Por otra parte, la electrorrecepción activa, permite sensor los cambios que objetos cercanos al pez provocan en el campo eléctrico generado por el órgano eléctrico (OE) del propio pez, modificando las corrientes que circulan a través de la piel. Objetos, de impedancias distintas a la del agua, modifican el campo producido por la descarga del OE (DOE). El campo resultante, que Lissman (1951) llamó perturbado, es la suma del campo basal, generado en ausencia del objeto, y la modificación que introduce su presencia. La modificación en el patrón de corrientes transcutáneas, provocada por la presencia de un objeto, implica un cambio en la energía portadora del estímulo que alcanza a los electrorreceptores, la cual se ha denominado imagen eléctrica del objeto.

Medir el patrón espacial de la imagen eléctrica en un pez es extremadamente complejo cuando se realiza experimentalmente, ya que requeriría la implantación de una matriz de electrodos en la piel mientras se asegura un comportamiento sano del animal. El desarrollo de métodos computacionales para determinar los campos y las imágenes en peces eléctricos, ha ayudado a superar las dificultades presentes en los enfoques experimentales. El modelado del campo eléctrico y de las imágenes generadas por el pez contribuye a la mejor comprensión del acondicionamiento prereceptorial de las imágenes eléctricas, que a su vez es la clave para desentrañar la codificación periférica de las entradas

electrosensoriales [7,8]. Las simulaciones llevadas a cabo en el sentido eléctrico de *Gnathonemus petersii*, un pez africano con OE concentrado en su región caudal, facilitaron el análisis de los resultados perceptivos y conductuales [8,9]. Más adelante se realizaron simulaciones con el pez americano *Gymnotus omarorum* [10]. Estas simulaciones brindaron pistas acerca de la generación de imágenes en peces eléctricos de pulso con OE distribuido.

Esta tesis está centrada en dos grandes aproximaciones abordadas en dos capítulos:

- I) La primera pretende, utilizando un abordaje mediante el uso de herramientas informáticas, generar un marco teórico para estudiar el campo eléctrico y la imagen eléctrica de distintas especies de peces eléctricos de descarga débil que presentan diferencias en la estructura de su OE y por consiguiente de su DOE. Este capítulo constituye la proyección de la línea de investigación en modelaje del campo e imágenes eléctricas y consolida este desarrollo al generalizarlo a diversas especies de Gymnotiformes.
- II) La segunda es la aplicación del modelo a una situación compleja a partir de datos reales, como es la conducta agonística de la especie *G. omarorum* [11]. Este Gymnotiforme es una especie autóctona, solitaria y territorial, que en la zona templada presenta reproducción estacional, sin dimorfismo sexual externo ni electrofisiológico. Fuera del período reproductivo, *G. omarorum* despliega agresión territorial intra e intersexual, establece una dominancia exclusivamente basada en las asimetrías de peso y señala sumisión a través de una secuencia progresiva de señales eléctricas [12]. Los encuentros agonísticos de díadas de individuos se resuelven rápidamente mediante despliegues agresivos. En este contexto, se pondrá énfasis en esclarecer que variables utilizan los peces para la evaluación de otro individuo y en dilucidar si lo realizan usando electrorecepción pasiva o activa, o una combinación de ambas.

Hipótesis y Objetivos

Capítulo 1

Hipótesis

Existen mecanismos similares en la generación de la imagen física, independientemente de la especie y de la estructura del OE.

Objetivo general

Caracterizar la generación del campo eléctrico y la formación de imágenes eléctricas en especies diversas de peces eléctricos.

Objetivos particulares

Modelar, mediante el uso de herramientas informáticas, especies de peces eléctricos que difieren en su morfología y en su OE.

Establecer cómo la complejidad de la DOE determina las características del campo eléctrico.

Establecer cómo el campo basal determina las características de las imágenes eléctricas.

Determinar las diferencias y similitudes en las distintas especies.

Capítulo 2

Hipótesis

La detección, el acercamiento y la determinación de la capacidad de lucha en un encuentro agonístico, utiliza información electrorreceptiva.

Objetivo general

Determinar el rol de la electrorrecepción activa y pasiva en la evaluación entre coespecíficos en contexto agonístico en *Gymnnotus omarorum*

Objetivos particulares

Caracterizar las trayectorias de acercamiento que los peces utilizan antes del comienzo de la contienda.

Caracterizar, usando el modelo, las imágenes de electrorecepción pasiva y activa.

Modelar las imágenes electrorreceptivas activas y pasivas durante enfrentamientos agonísticos.

Determinar si la estrategia que siguen para acercarse y para tomar la decisión de atacar o no utiliza electrorecepción pasiva, activa o una combinación de ambas.

Discutir la posibilidad del uso de la mecanorecepción, realizada por la línea lateral, en enfrentamientos agonísticos.

CAPITULO 1

Modelado computacional de *Gymnotus omarorum*: Electrorecepción a través de la evolución, Semejanzas y Diferencias.

3.1 Introducción

3.1.1 Electrorrecepción

Entre las modalidades sensoriales desarrolladas por los animales acuáticos, y en particular por los peces, aparece la electrorrecepción. La electrorrecepción puede ser considerada, haciendo un paralelo con la definición que hace Marr para la visión [13], como el proceso de descubrir a partir de las imágenes eléctricas qué es lo que hay en el mundo circundante y dónde está ubicado. Es una modalidad sensorial presente fundamentalmente en peces.

En 1951, Lissman propuso que ciertos peces podrían ser capaces de detectar objetos a cierta distancia por la apreciación de su conductividad eléctrica, si difiere de la del agua [4]. El campo eléctrico en un ambiente acuático homogéneo es modificado por objetos. Cualquier objeto que tenga una conductividad diferente a la del agua, deflexiona las líneas de fuerza distorsionando la configuración original del campo. El pez es capaz de detectar esa distorsión. Además Lissman, propone que las corrientes que atraviesan la piel serían detectadas por receptores cutáneos. En resumen, la electrorrecepción es una modalidad sensorial cuyo estímulo específico son las corrientes transcutáneas autogeneradas o generadas externamente.

Electrorrecepción pasiva

La electrorrecepción pasiva sensa estímulos eléctricos generados externamente al individuo que lo recibe. Los animales y algunas plantas acuáticas producen campos eléctricos que constituyen posibles estímulos sensoriales para los electrorreceptores. Las señales generadas por dicho tipo de estímulo se denominan señales exaferentes [14]. Dentro de la electrorrecepción, la electrorrecepción pasiva es la forma más primitiva y la submodalidad más antigua desde el punto de vista evolutivo. Está presente en distintos condriictios [3], en bagres, en todos los peces electrogénicos, en renacuajos, en las salamandras, en una especie de mamífero [15] y en abejas [16]. Los electrorreceptores ampulares [3], llamados así por su aspecto morfológico, están asociados con esta submodalidad sensorial. Sus estímulos naturales son los campos eléctricos de baja frecuencia generados por otros seres vivos. La electrorrecepción pasiva de los campos generados por la DOE de un conespecífico es realizada mediante los receptores tuberosos. A esta capacidad de localizar fuentes electrogénicas u objetos con propiedades eléctricas distintas al medio se la denomina electrolocalización pasiva.

Electrocomunicación

De los peces electroreceptivos, un grupo de especies posee órganos especializados para emitir electricidad, que como se mencionó anteriormente se denominan órganos eléctricos (OE). Algunas de estas especies producen descargas de mayor voltaje y utilizan la DOE como arma para atacar una presa o repeler la agresión de un predador. Sin embargo, existe especies en donde la magnitud de la descarga no ejerce efectos nocivos. La DOE es en estos casos portadora de señales reaférentes para el propio sistema nervioso o señales exaferentes percibidas por otro individuo [17]. A este grupo se les denomina comúnmente, peces eléctricos de descarga débil.

Los peces eléctricos de descarga débil americanos (Gymnotiformes) y de africanos (Mormyriiformes) emiten DOEs estereotipadas con forma de onda especie-específica y presentan un segundo tipo de electroreceptores, llamados tuberosos, que son capaces de responder en forma selectiva a la forma de onda de la especie. Dado que su estímulo natural es la DOE de la especie, estos receptores responden a un solo tipo particular de señal exaferente: la DOE de un congénere [18,19]. En este caso, las señales emitidas por un pez pueden ser detectadas por otros peces de la misma especie por medio de receptores tuberosos (en el caso de algunos Mormyridos un subtipo particular, los Knollenorgans). En varias especies se ha observado que la DOE de los conoespecíficos o señales eléctricas similares a ella generadas artificialmente, provocan cambios en el comportamiento motor o electrogénico [20,21,22,23]. Estas observaciones indican que los peces eléctricos efectivamente se comunican utilizando variaciones en el ritmo y/o en la forma de onda de la DOE. A esta función se la denomina electrocomunicación.

Electrorecepción activa

Al tocar o rozar con nuestra mano un objeto, esta se deforma. Como consecuencia, los receptores sensibles a esta deformación mecánica resultan estimulados. A estos sistemas se les denominan “sistemas sensoriales activos”, donde la imagen física del mundo resulta de la interacción de la energía portadora del estímulo autogenerada y la presencia de un objeto [17]. En este caso la exploración táctil sería un proceso activo y las señales derivadas de este proceso se denominan reaférentes [14].

Esto ocurre también en la electrolocación activa. Al ocurrir la DOE propia, todo el cuerpo del pez se transforma en una fuente electrogénica distribuida. Al estar en un medio conductor, dicha fuente genera corrientes eléctricas que atraviesan la piel. La distribución espacial de la densidad de corriente (y por lo tanto de la caída de potencial transcutáneo) depende de las características de la fuente y la

impedancia del medio. Las características de la fuente son constantes para el individuo. La impedancia del medio externo puede no ser homogénea debido a la presencia de objetos. Por lo tanto, el perfil espacial y temporal de las corrientes transcutáneas es modulado por los objetos. A la modulación del perfil de corrientes (o diferencias de potencial) transcutáneas generada por un objeto se lo denomina “imagen eléctrica”.

3.1.2 Imagen eléctrica

Para el sentido eléctrico activo, la percepción se basa en los cambios que induce en el campo eléctrico autogenerado, la presencia de objetos con una conductividad que es diferente de la del agua o con propiedades capacitivas. En analogía con el sistema visual, cuando estos cambios se proyectan sobre la superficie electrosensorial, el resultado se conoce como imagen eléctrica de un objeto. Varios estudios han abordado ciertos aspectos de las imágenes eléctricas y los comportamientos que dependen de su recepción [24,25,26]. Sin embargo, los animales hacen uso de los cambios en su mundo sensorial que por ejemplo se producen cada vez que hay movimiento relativo entre aquellos y los objetos [27,28]. En contraste con el flujo visual, sin embargo, el flujo eléctrico es menos propicio para la orientación en complejos entornos eléctricos debido a que las imágenes eléctricas son imágenes superpuestas [8,9]. Esto significa que las imágenes de distintos objetos eléctricos, que en visión podrían obstruir uno al otro, puede generar una imagen eléctrica combinada sin contornos que indiquen una superposición. Así, varios objetos pueden fundirse en una única imagen eléctrica, lo que dificulta la extracción de contornos y otras características de los objetos individuales [25]. El concepto de imagen esta históricamente relacionado con el concepto de imagen óptica, dado que el aparato óptico del ojo es capaz de formar una imagen real (real en el sentido utilizado en óptica) en una superficie por una regla de proyección de imagen llamada proyección central. La aplicación del término imagen se ha extendido a cualquier sistema sensorial. En un análisis generalizado, válido para todos los sistemas sensoriales, Caputi y Budelli [25] identificaron tres tipos de imágenes:

1. La imagen física: patrón de energía modulado por las estructuras prerreceptorales.
2. La imagen del estímulo o receptorial: la porción de la imagen física que puede ser transducida por el conjunto de células sensoriales

y finalmente,

3. la imagen neural: la excitación de distintas estructuras nerviosas provocada por la presencia estímulo.

Por ejemplo, en el sistema auditivo las imágenes físicas pueden incluir infra y ultrasonidos, a los cuales el sistema no responde, mientras que la imagen receptorial incluye toda la gama de frecuencias a las que las células ciliadas pueden responder. Finalmente las imágenes neurales incluyen a su vez las respuestas de las células ciliadas y las fibras aferentes, y además otras estructuras de la vía auditiva. Las imágenes neurales en general, implican la segregación de la información. En el caso del sistema auditivo, esta segregación consiste en una vía rápida para la determinación de los parámetros espaciales, y una vía más lenta, que preserva la frecuencia y fase del sonido. Las imágenes en la superficie sensorial son modulaciones de la energía portadora. En la electrorrecepción la portadora la constituye el campo eléctrico en ausencia de objetos, que también se puede expresar como densidad de corriente. Hay dos tipos de modulaciones posibles [25]: (1) modulaciones causadas por cambios en las características de la fuente que genera la energía portadora o en la posición relativa en relación con la superficie sensorial, (2) modulaciones causadas por la presencia de objetos que pasivamente modifican el campo causado por la fuente. Cuando un objeto genera la energía portadora, la imagen es el efecto de la portadora en la superficie sensorial. Cuando en cambio, el objeto modifica pasivamente el campo, la diferencia entre el campo con el objeto y el campo sin él, da lugar a un nuevo campo que se ha denominado como "campo perturbante" [6], dado que este campo no existe, se ha llamado "campo virtual" [7]. Este campo puede interpretarse como el que se produciría por una fuente equivalente en el lugar del objeto, y que está directamente relacionado con una característica de los objetos que se ha denominado "imprimancia" [6,7,8].

Los animales pueden modificar la imagen receptorial alterando la recepción de la imagen por medio de acondicionamientos prerreceptorales de la señal, como por ejemplo produciendo movimientos que alteren la posición relativa de la superficie sensorial, fuentes y objetos y en otros sistemas, como la visión, cambiando la curvatura del lente o variando el tamaño de la pupila. En la electrorrecepción pasiva también se pueden distinguir la imagen física, receptorial y neural. El concepto de imagen eléctrica es de suma importancia y será abordado en varias ocasiones a lo largo de esta tesis, tanto su definición así como las formas en que puede determinar.

3.1.3 Modelos en peces eléctricos

Gnathonemus petersii, al tener un OE concentrado en su región caudal, facilitó el desarrollo e interpretación de las simulaciones. Estas han ayudado a comprender la codificación periférica de: impedancia del objeto [24], características geométricas del objeto [24,29,30], y los parámetros susceptibles de ser utilizados por los peces para estimar la distancia del objeto [24,29,31,32,33]. Los Gymnotiformes se caracterizan por tener un OE muy heterogéneo, distribuido a lo largo del cuerpo del pez. Esto hace que la caracterización e interpretación de imágenes sea una tarea más complicada, la integración de DOEs complejas en el modelo ha sido un gran desafío. Los campos eléctricos y las imágenes son el resultado de la acción de varias fuentes situadas en diferentes regiones del EO, cada una de las cuales genera una forma de onda específica.

Dos estrategias principales se han utilizado para modelar la imagen eléctrica producida por peces con OEs complejos. Por un lado, Caputi y Budelli [34] desarrollaron un modelo informático "directo", teniendo en cuenta la estructura y fisiología del OE y la geometría y la conductividad del cuerpo de los peces. Por otro lado, Rasnow, Assad y Macyver [35,36,37,38], y, más recientemente Babineau y col. [39] utilizaron una estrategia más pragmática, la búsqueda de las fuentes internas que reproducen apropiadamente los campos determinados experimentalmente.

Aunque el modelo inicial basado en "elementos finitos" propuestos por Caputi y Budelli [34] predijo con mucha precisión los datos experimentales, su uso en simulaciones de escenas en 3 dimensiones y por lo tanto más realistas, implicaría una gran capacidad computacional, no factibles de alcanzar con el hardware de hoy en día. Por lo tanto, se adaptó el simulador desarrollado para modelar peces eléctricos con OE concentrado [9,40], con el fin de estudiar y entender los campos eléctricos y las imágenes generadas por una especie que tiene un OE extendido y heterogéneo (*Gymnotus omarorum*, [10]). Los resultados obtenidos de este modelo apoyan observaciones previas: los mecanismos prerreceptoriales pueden ser diferentes en la zonas rostrales y corporales [1,41,42].

En este capítulo se presenta una aplicación del simulador para el estudio de las imágenes eléctricas en peces eléctricos con OE extendido y heterogéneo. Aquí se comparará 3 Gymnotiformes con las especies estudiadas previamente *G. omarorum* [10] y *G. petersii* [8,9]. Los peces de América del Sur muestran una gran diversidad de OE y DOE, permitiendo elegir ejemplos con diferente grado de complejidad en relación a las estrategias electromotoras. Se eligió una especie cuya DOE es de tipo onda (*Apteronotus albifrons*) y dos *Gymnotus*: el primero con una organización más simple de su OE (*G. obscurus*) y el

segundo con un OE muy complejo (*G. coropinae*) [43,44,45]. En *A. albifrons* el OE está compuesto por fibras nerviosas y en *G. obscurus* y *G. coropinae* (como en *G. omarorum*) por 8 filas de electrocitos, la mitad de ellos en cada lado del plano sagital, 4 de ellos se extienden a lo largo del OE y los otros desde el extremo rostral del OE hasta el extremo rostral de la aleta anal. En *G. coropinae* el OE presenta una extensión en forma de flecha localizada en la cabeza. En las tres especies de *Gymnotus*, todos los electrocitos están inervados caudalmente, y en *G. omarorum* y *G. coropinae*, hay también una inervación rostral, en ciertas regiones.

3.2 Métodos

3.2.1 Modelado del Órgano eléctrico

Se utilizaron datos obtenidos a través del método de la trampa de aire para *G. omarorum*, *G. coropinae*, *G. obscurus* [44,46] y datos de *A. albifrons* obtenidos de la misma forma. Para evaluar la resistencia de los tejidos internos se utilizaron los datos disponibles para *G. omarorum* y se asumió la misma resistividad específica en el resto de los Gymnotiformes. La resistencia de la piel fue de 0,0001 Ohm.cm²

La diferencia de voltaje, entre planos consecutivos transversales colocados en diferentes sitios del cuerpo del pez, se produce principalmente por las regiones del OE abarcadas por estos planos y, de acuerdo con la ley de Ohm, esta es igual al producto de la corriente (I) que fluye a través los tejidos internos entre cada par de planos consecutivos y la resistencia (R) de cada porción del pez. Entonces, teniendo la resistencia de una porción del pez y el voltaje medido (V), se puede calcular la corriente que causa esa caída de voltaje.

$$V = R \cdot I, \quad (1)$$

Esto se basa en el supuesto de que para una pequeña región longitudinal del OE, la población de electrocitos es homogénea. De acuerdo con el supuesto más simple, los electrocitos están orientados igualmente a lo largo de un segmento corto y disparan casi sincrónicamente. Por lo tanto, la corriente generada por una serie de dipolos idénticos, imitando los electrocitos, dentro de un cuerpo cilíndrico es equivalente a un dipolo. Esto es porque el polo rostral del dipolo se puede sumar al polo caudal del siguiente dipolo caudal: por consiguiente, todos los polos intermedios se cancelan y la serie de dipolos es equivalente a un dipolo único con sus polos colocados en los planos transversales que limitan la porción del pez (esquema de la Figura 1).

La resistencia longitudinal (R) de una porción del pez puede ser calculada a partir de su geometría y resistividad (ρ) como

$$R = \rho \cdot l / S, \quad (2)$$

donde l y S son respectivamente, la distancia entre los planos limitados por los electrodos de registro y el área de la sección media de la porción de cuerpo abarcado

Por lo tanto usando la ecuación 1 y 2:

$$I = (V.S) / (\rho.l), \quad (3)$$

Los polos que se encuentran en el plano de separación de las porciones longitudinales contiguas pueden reducirse a uno por adición, y el OE puede ser representado por un conjunto de polos de igual número como los planos de limitación de las regiones estudiadas experimentalmente de los peces.

En el caso de *G. omarorum*, *G. obscurus* y *A. Albifrons*, el análisis anatómico y electrofisiológico indica que las unidades electrogénicas están orientadas longitudinalmente y por lo tanto, este análisis es suficiente para la representación del OE. En el caso de *G. coropinae* [45], existe una variación brusca del dipolo generado por los electrocitos rostrales en relación al resto y el OE no se encuentra a lo largo de una línea. La parte del OE que se encuentra en la cabeza del pez está conformado por la unión de cuatro columnas lineales (dos laterales y dos centrales) dispuestas en forma de punta de flecha [45]. Para modelar entonces esta región compleja del OE se usaron 3 disposiciones: (1) 3 dipolos con un polo común rostral. Los otros tres polos se ubicaron 2 detrás de los opérculos y el ultimo en la pared abdominal. (2) 2 dipolos con un polo común rostral y los otros polos ubicados detrás de los opérculos y (3) un dipolo central. Este ultimo enfoque produjo resultados similares a la simulación obtenida usando las anteriores disposiciones (Material suplementario 1). De esta forma para los resultados obtenidos en este trabajo, el OE de *G. coropinae* está distribuido a lo largo del eje longitudinal del pez como en el resto de los Gymnotiformes.

3.2.2 Modelado de la Imagen eléctrica

El modelado de la imagen eléctrica se realizó usando un software desarrollado por Diego Rother [40]. Este modelo tiene dos partes, una reconstrucción geométrica del cuerpo del pez y un cálculo de las corrientes transcutáneas. Posteriormente se introdujeron algunas mejoras en los códigos de MatLab para la reconstrucción geométrica del cuerpo de los peces y la presentación de los datos.

El modelo fue construido bajo las siguientes suposiciones de acuerdo con Rother [40].

- 1) Todos los medios del modelo verifican la ley de Ohm (son óhmicos o lineales).

$$J(x) = \sigma(x) \cdot E(x), \quad \sigma(x) > 0, \quad (4)$$

Para estos materiales la densidad de corriente en el punto x , $J(x)$, es directamente proporcional al campo eléctrico en ese punto $E(x)$, y por ende colineal con él. La constante de proporcionalidad entre estas dos magnitudes es un escalar que se denomina "conductividad" y se simboliza $\sigma(x)$. Esta no depende de la magnitud del campo eléctrico. La conductividad no puede anularse, si lo hiciera la ecuación (4) no aportaría información alguna sobre la dependencia entre J y E ; dicho de otro modo el modelo pierde validez cuando hay presentes materiales completamente aislantes. Se desprecian los efectos capacitivos, es decir, no hay acumulación de carga en ningún punto del espacio. Esta es una suposición usual general para tejidos internos. Expresado matemáticamente:

$$\delta\rho(x)/\delta t=0 \quad (5)$$

2) Se aproxima el problema a uno electrostático [47]. Es válido hacer esto dado que el tiempo de relajación dieléctrica de los medios involucrados es mucho menor que los tiempos característicos de la descarga del pez, llegando el sistema muy rápidamente al equilibrio.

3) Los peces y otros objetos se sumergen en un medio infinito. La forma del cuerpo del pez y de los objetos son aproximadas por una superficie externa compuesta por triángulos, lo que permite una aproximación tan detallada como se desee de los objetos, limitado sólo por la potencia de cálculo disponible. Cada objeto puede estar cubierto por una fina capa resistiva (la piel en el caso de los peces), cuya resistencia puede variar en diferentes áreas, dependiendo del caso.

El modelo se basa directamente en la ecuación de densidad de carga que, bajo estas suposiciones, implica que la carga generada por las fuentes ($f(x)$) es igual a la difusión de la carga ($\nabla \cdot J(x)$):

$$f(x)=\nabla \cdot J(x) \quad (6)$$

y por lo tanto

$$\sigma \nabla^2 \varphi(x)=\sigma \Delta \varphi(x)=f(x), \quad (7)$$

donde $\varphi(x)$ es el potencial local en el punto x .

Esta ecuación diferencial, denominada ecuación de Poisson, se puede resolver en el contorno del pez, utilizando el Método de Elementos de Contorno (en inglés Boundary Element Method: BEM), aplicado para los peces de onda por Assad [48]. Este método determina la distribución de corriente eléctrica en el

contorno con una resolución dada a partir de un sistema lineal de ecuaciones $M \times N$ para los N nodos y las M fuentes, donde las variables desconocidas son las densidades de corriente transepiteliales y los potenciales que corresponden a cada nodo [49]. Las variables conocidas son la ubicación de los nodos, la localización y la magnitud de las fuentes que representan el OE dentro del pez, la conductancia de los tejidos internos, la piel y el agua. En principio las densidades de corriente y potencial transeptelial se calculan solo en los nodos "de la piel" y luego son linealmente interpolados en los triángulos definidos por los nodos, a continuación, se pueden calcular el potencial en el espacio circundante. Es importante señalar que, a diferencia del método de Assad, una innovación importante del modelo fue la inserción de fuentes equivalentes, que representaban al OE, obtenidas mediante la medición experimental utilizando el método de la trampa de aire.

3.2.3 Presentación de los resultados

A partir de los datos de corriente transcutánea y potencial en la piel del pez, se puede calcular los potenciales en puntos exteriores al pez. Para esto se utilizó diversas subrutinas de MatLab. Los puntos externos se calcularon en una matriz de 2500 puntos (50×50) a una distancia de 1 cm entre puntos sucesivos. Posteriormente se grafica usando la función "contourb" que permite una mejor visualización dado que interpola los datos y rellena toda el área. Esta estrategia es utilizada también para presentar datos de corriente transcutáneas y potenciales en la piel del pez, en función de la DOE y en imágenes eléctricas en diferentes instantes (Capítulo 2).

3.3 Resultados

3.3.1 Desde los registros en la trampa de aire a la distribución de las fuentes

La DOE es generada por una serie de fuentes (producidas por los electrocitos o las fibras nerviosas) a lo largo del OE. Estas fuentes se pueden determinar experimentalmente mediante la medición de la diferencia de voltaje entre los electrodos mientras que los peces están en el aire [50]. Estos voltajes se generan por la porción abarcada entre planos transversales consecutivos determinados por la posición de los electrodos.

G. petersii tiene un OE corto situado en la cola, que descarga de forma sincronizada, por lo que el modelo utiliza un único dipolo para simular los campos y las imágenes [8,9]. La magnitud del dipolo y el curso temporal se calculó usando datos cedidos por el Dr. Bell (la forma de onda es la misma que la registrada en el agua).

La Figura 1A muestra los registros de voltaje (o FEM), obtenidos de 7 porciones, para los tres peces aquí presentados comparándolos con *G. omarrorum*. Suponiendo que el voltaje registrado en cada sección es producido por dos polos de corriente de polaridad opuesta (dipolos) situado en los límites de cada porción (fuente y sumidero), la corriente eléctrica se puede calcular como V/R ; donde V es el voltaje registrado y R es la resistencia longitudinal de la porción del pez (ver los métodos de este capítulo). El curso temporal de las corrientes longitudinales procedentes de los 7 polos rostrales se presentan en la Figura 1B. Dado que las porciones contiguas de los peces están limitadas por un plano común, la corriente suministrada por los polos están en el mismo plano, por lo cual se puede reducir a uno solo por simple adición de sus magnitudes, y el OE puede ser representado por un conjunto de 8 polos (Fig. 1C).

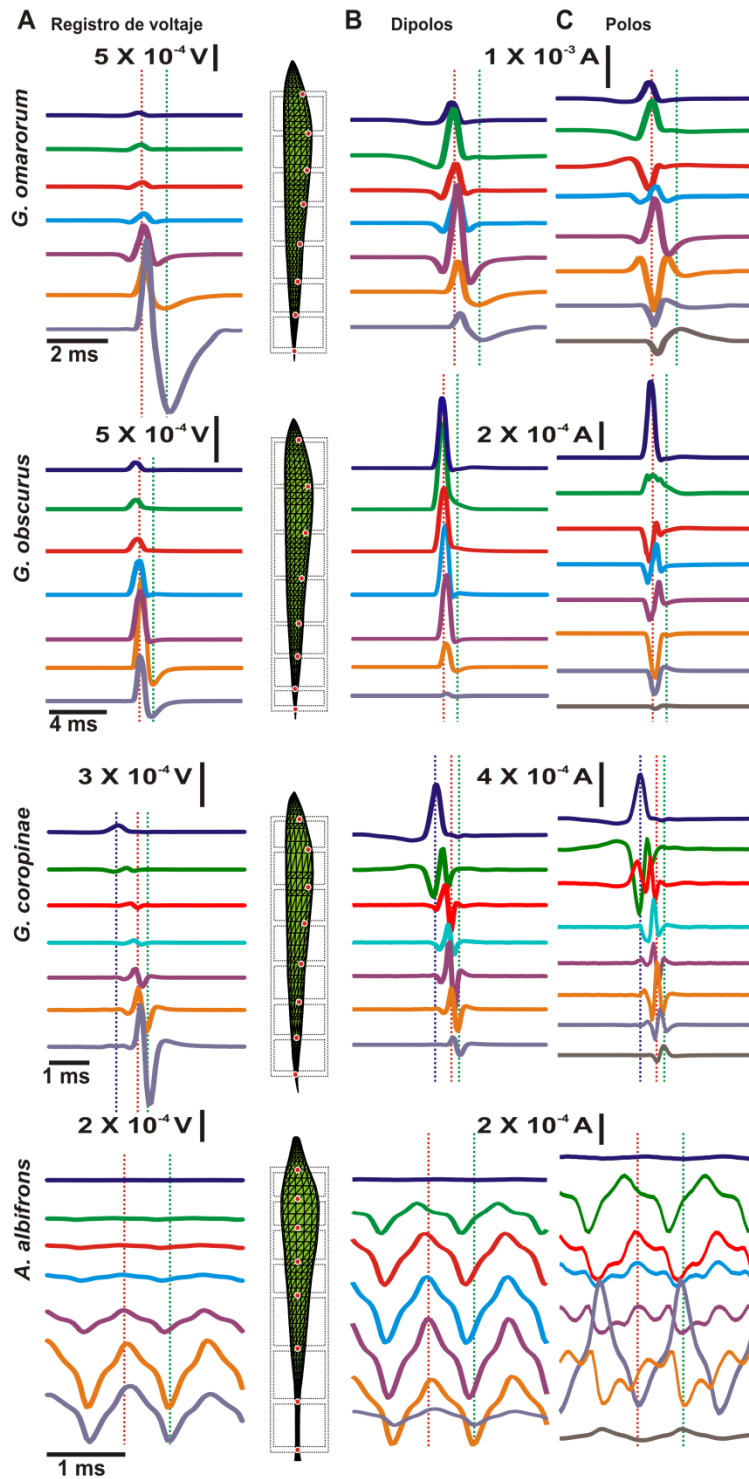


Figura 1. Voltajes, dipolos y polos en función del tiempo para los Gymnotiformes estudiados. (A) Diferencia de potencial registrada mediante la trampa de aire. (B) Polos rostrales pertenecientes a los dipolos calculados a partir de los registros de potenciales, la resistividad del pez y su morfología. El esquema entre A y B representa al pez en la trampa de aire. Los puntos rojos representan la localización de las fuentes en el modelo. (C) Polos calculados a partir de los dipolos. Las líneas verticales punteadas de color rojo, verde y azul, representan a los picos positivos, negativos y positivos rostrales (en *G. coropinae*) de la DOE cabeza-cola.

En *G. omarorum*, el voltaje aumenta rápidamente hacia la cola. Las formas de ondas son características de cada fragmento. Las líneas verticales punteadas rojas y verdes (que indican el primer pico positivo y el primer negativo, respectivamente) permiten detectar el retraso entre los picos de las gráficas correspondientes a diferentes regiones. Esto se debe a que los mecanismos de coordinación neural no

logran un sincronismo perfecto entre regiones del OE [51,52,53,54]. La amplitud de las corrientes es máxima en las regiones centrales y caudales. El aumento en el número de electrocitos por unidad de longitud resulta en un aumento del voltaje a través cada fragmento. El voltaje registrado es pequeño en la región rostral, pero dado que la resistencia interna es más baja aun, la amplitud de los dipolos es grande en esas regiones. En la cola, la relación V/R se reduce lo que a su vez provoca una disminución en las amplitudes del dipolo. En consecuencia, los polos invierten su polaridad en los límites de la región central de los peces, donde también se encuentran los valores máximos absolutos (Fig. 1C trazos violeta y naranja).

G. obscurus es el caso más simple. Los voltajes consisten en un componente positivo principal creciente y que se retrasa en la dirección rostro-caudal (Figura 1 y [46]) y una región caudal en donde hay un pequeño componente negativo. Los dipolos disminuyen en amplitud de la cabeza a la cola y los polos muestran polaridades opuestas en la región rostral y caudal, mientras que en el centro son bifásicos. Esto se debe al cambio progresivo del inicio del pico positivo desde la cabeza a la cola.

Debido a la presencia de una extensión del OE en la cabeza, el registro de voltaje en *G. coropinae* tiene un máximo relativo en la primera sección, disminuyendo en la segunda (trazos verdes), para aumentar caudalmente [45]. En consecuencia, en el instante que está indicado por la línea vertical azul (que corresponde al pico positivo rostral de la DOE cabeza-cola), sólo los dos primeros polos ubicados en la zona rostral se diferencian claramente de cero. Esto es así, debido la diferencia en la activación de las diferentes partes del OE, lo que genera picos en la región rostral con prácticamente ninguna superposición con los situados más caudalmente. En el límite caudal de la cabeza hay un punto de inversión: esto se debe probablemente a las diferentes inervaciones de las regiones rostrales y del resto del OE. La reversión casi sincrónica de polaridad de los componentes generados en la cabeza induce grandes sumideros y fuentes en la cabeza del pez. En las regiones centrales y caudales, el retardo diferencial entre picos similares en regiones vecinas y la menor duración de cada componente de la DOE tienden a producir formas de onda más pequeñas en amplitud y de mayor complejidad. Al igual que en *G. omarorum*, dipolos y polos tienen una amplitud máxima en el límite entre las regiones del centro y de la cola debido a que esta última se afina en dirección caudal.

En *A. albifrons*, las magnitudes de los polos alcanzan sus máximos en la segunda y séptima región, debido a la descarga de alta sincronía del OE neural. Los dipolos mas rostrales y caudales son

insignificantes. Las corrientes de los polos 3 a 6 son intermedias, pero no insignificante; si lo fueran, se podría simular el campo generado por la DOE con dos dipolos, situados cerca de los extremos del OE.

En la comparación entre las diferentes especies se debe destacar que mientras que la heterogeneidad juega un papel muy importante en la transición entre la cabeza y las regiones centrales, la relación entre el número de electrocitos y la resistencia interna juegan un papel importante en la transición entre las

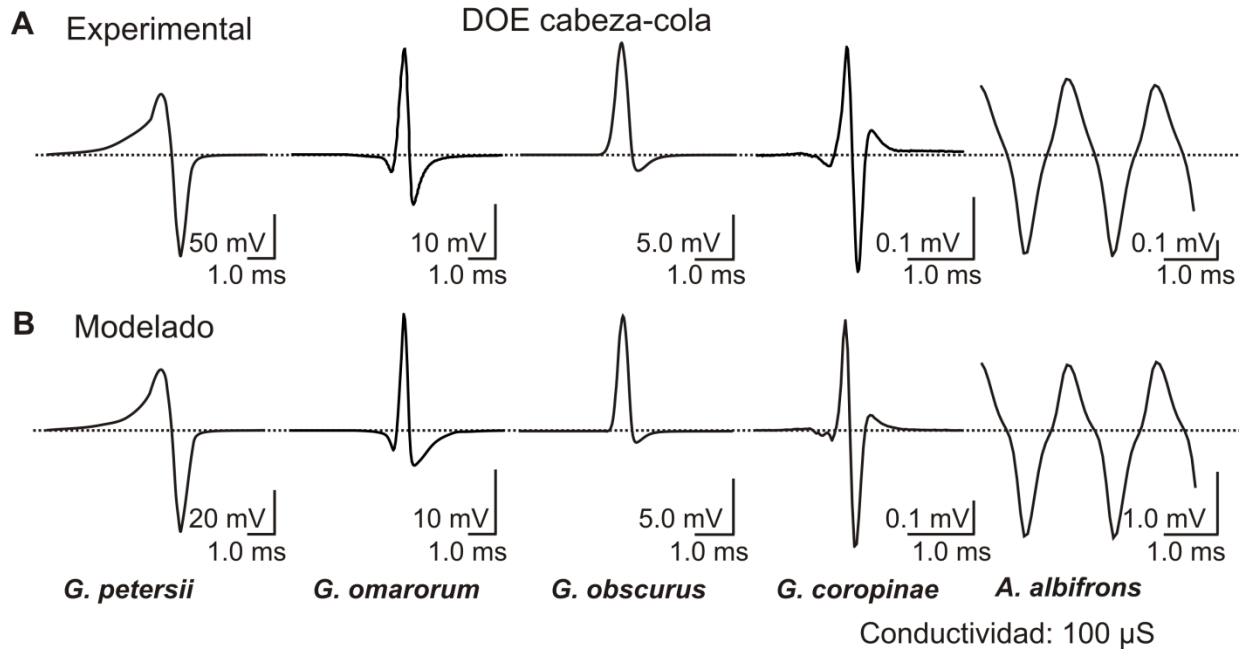


Figura 2. Forma de onda de la DOE cabeza-cola. (A) Datos adquiridos experimentalmente para todas las especies. (B) Datos calculados a partir del BEM para todas las especies.

regiones centrales y caudales. En *A. albifrons*, la similitud de la descarga entre las regiones y el alto grado de sincronismo provocan principalmente la generación de dos polos ubicados en la transición entre la cabeza y el centro del pez y en la transición entre el centro y la cola [55].

3.3.2 Desde la distribución de las fuentes al campo eléctrico

Utilizando el BEM se calcularon los mapas de los potenciales eléctricos inducidos en el agua para cada especie. El primer objetivo fue comprobar la exactitud del modelo para reproducir el campo lejano y el registro cabeza-cola que se utiliza en los estudios de taxonómica y de evolución [46]. La Figura 2 muestra las DOEs cabeza-cola (DOEc-c) experimentales y modeladas bajo el agua; que son similares a las registradas en el aire y también en el ambiente natural del pez [43,44,56]. El segundo objetivo fue explorar los potenciales externos en las transiciones entre los principales componentes de la DOE en el

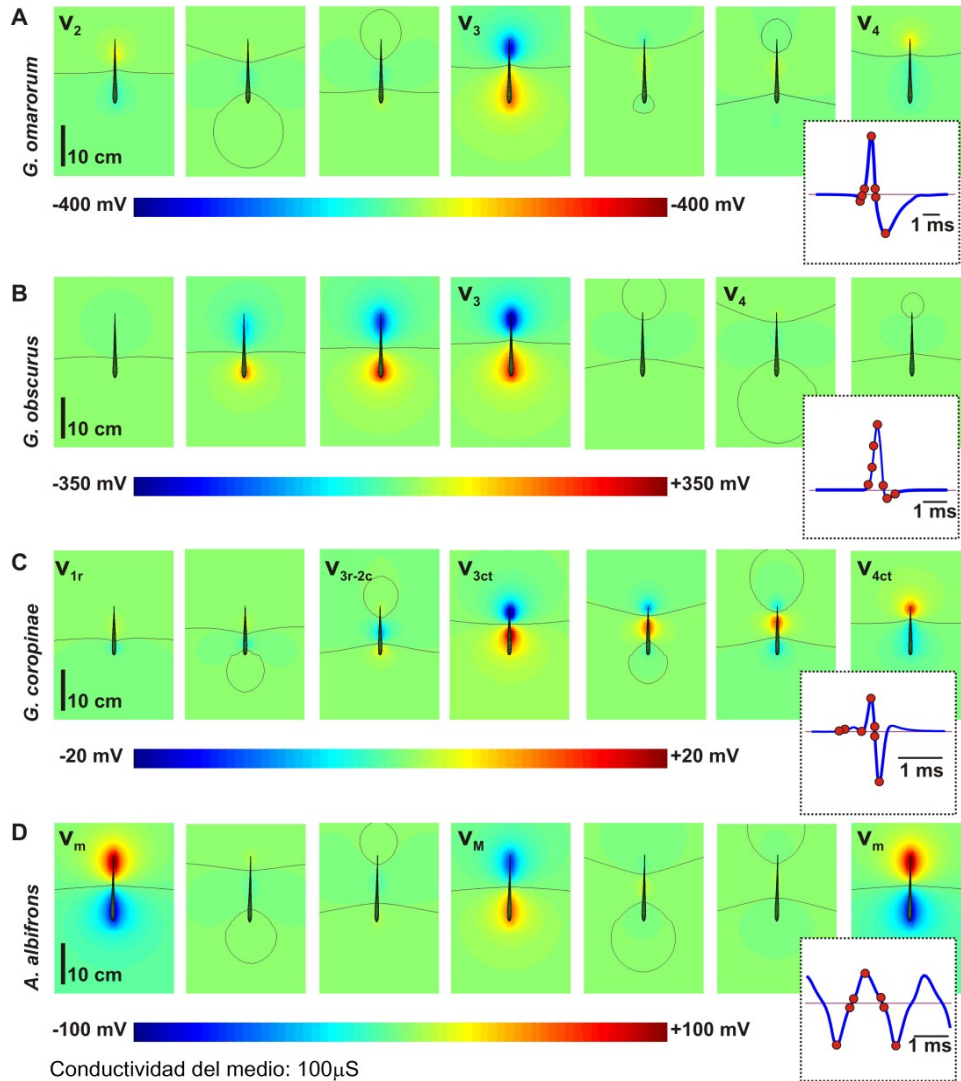


Figura 3. Potenciales eléctricos externos generados por la DOEs en un plano horizontal. (A) Mapa de potenciales externos en 3 picos (negativo, positivo y negativo) correspondientes a *G. omarorum* e instantes intermedios a estos. (B) Mapa de potenciales externos en 2 picos (positivo y negativo) correspondientes a *G. obscurus* e instantes intermedios a estos. (C) Mapa de potenciales externos en 3 picos (positivo rostral, positivo centro-caudal y negativo) correspondientes a *G. coropinae* e instantes intermedios a estos. (D) Mapa de potenciales externos en 2 picos (negativo y positivo) correspondientes a *A. albifrons* e instantes intermedios a estos. Las líneas negras indican los puntos donde el potencial es cero. Las inserciones muestran la forma de onda de la DOEc-c con los instantes seleccionados (puntos rojos).

campo cercano (Fig. 3; potenciales positivos en rojo y negativos en color azul, las regiones de signo opuesto están separadas por una línea negra que marca el potencial cero). Para *G. omarorum* (Fig. 3A) se muestran los componentes principales de la DOE y los cruces por cero en las transiciones entre estos

componentes. El panel de la izquierda corresponde al primer pico negativo de la DOEc-c, donde los potenciales negativos están en las regiones rostrales y los positivos en los caudales. Durante la transición negativo-positiva (segundo y tercer panel) la región negativa del campo se mueve hacia atrás, "empujando" los potenciales positivos a la cola, mientras que una segunda región de potenciales positivos aparece alrededor de las regiones rostrales del cuerpo. Estos cambios implican un desplazamiento hacia atrás de la línea de potencial cero y la aparición de otra línea de potencial cero mas rostral y cerrada, como se muestra en el segundo panel. El tamaño de la región encerrada aumenta con el tiempo hasta que se abre, como se muestra en el tercer panel. Simultáneamente, la línea abierta que separa las regiones centrales y caudales de polaridad opuesta se cierra alrededor de la cola. Por lo tanto, en una vista tridimensional, la cabeza está encerrada por una región positiva ovoidal, que está a su vez rodeada por una región negativa. El panel central y el último corresponden al pico positivo y al último pico negativo. La transición entre ellos (paneles 5 y 6) muestra imágenes semejantes a la de los paneles 2 y 3, pero con polaridades opuestas. La Figura 3B muestra los mapas de potenciales generados por *G. obscurus* cuya DOE carece de componentes negativos tempranos. Como en otros Gymnotiformes de pulso (*G. omarorum*), el pico principal de *G. obscurus* muestra una clara transición negativa positiva desde la zona rostral a la caudal, pero la aparición de un dipolo opuesto en la cola, provoca inicialmente un mapa con una línea de potencial cero cerrada alrededor de la cola (quinto panel). A continuación, esta línea se abre mientras que la línea cero rostral se cierra alrededor de la cabeza (sexto panel). Como el pequeño dipolo caudal tiene una menor duración que el componente principal, la línea caudal cero se cierra de nuevo alrededor de la cola, mientras que la rostral se abre nuevamente (séptimo panel). La Figura 3C muestra la secuencia de los mapas de potenciales para *G. coropinae*. Esta especie presenta varios componentes tempranos complejos. El primer panel corresponde a un instante temprano de la DOE, correspondiente a la activación de la parte cefálica del OE. Se observan potenciales negativos en las regiones rostrales y positivos en las regiones caudales, como para el componente negativo en *G. omarorum*. En esta especie la porción cefálica del OE genera un campo potencial positivo en la cabeza que comienza antes que el pico principal se origine en las regiones caudales. Simultáneamente, las regiones centrales generan un campo de polaridad opuesta. El segundo y tercer panel corresponden a momentos en los que estos dos componentes de polaridad opuesta co-ocurren. Debido a la progresión rostral-caudal de la activación del OE, los mapas 2, 3, 5 y 6 son similares a los observados en *G. omarorum*. En la Figura 3D se muestra la secuencia de mapas de potenciales para *A. albifrons*. Las transiciones observadas son cualitativamente idénticas a las observadas en los Gymnotiformes de pulso: las regiones ovoides aparecen alrededor de la cabeza y se cierran alrededor de la cola debido a la

evolución temporal de la DOE. Esto muestra uno de los puntos en común en el campo generado por las especies estudiadas: tanto en las especies de pulso como en las de onda, la complejidad observada en el campo cercano decae con la distancia, por lo tanto a suficiente distancia el pez se comporta como un dipolo que cambia de amplitud con el tiempo.

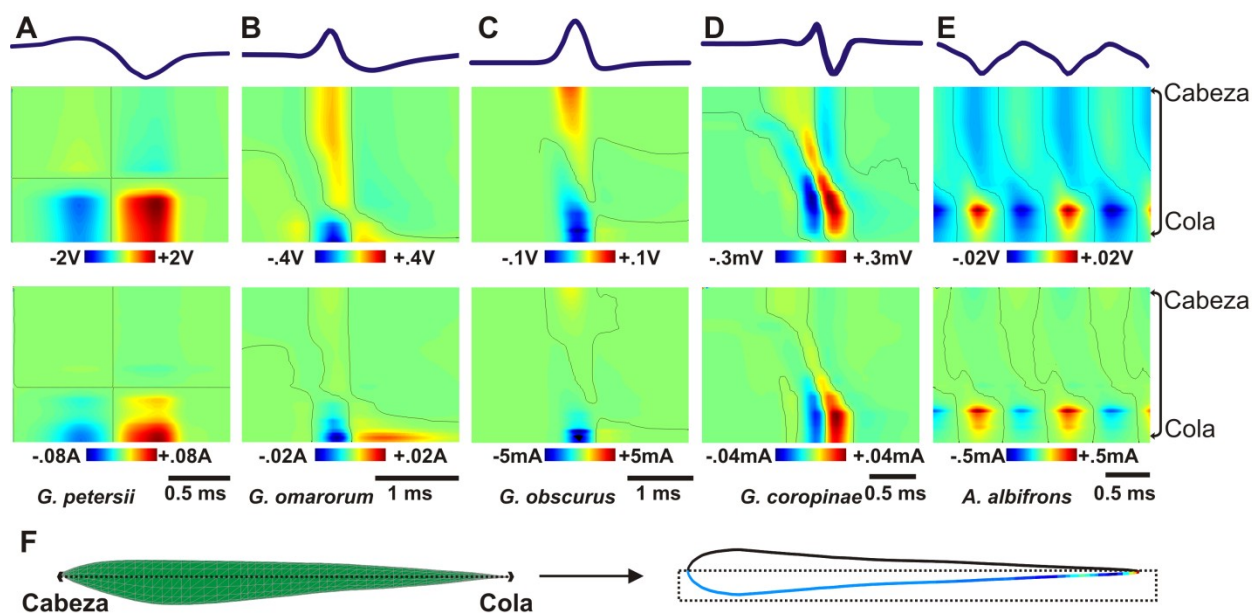


Figura 4. Potenciales y corrientes transcutáneas a lo largo de una línea horizontal. (A) *G. petersii*. (B) *G. omarorum*, (C) *G. obscurus* (D) *G. coropinae* (E) *A. albifrons*. La fila superior muestra las formas de onda de la DOE-c registradas en el aire como referencia. La segunda fila muestra el potencial a lo largo de una línea horizontal en la piel como un mapa de colores: el eje X representa el tiempo a lo largo de la DOE y el eje Y representa la posición en la piel. Los puntos de reversión se indican en negro. La tercera fila muestra las corrientes transcutáneas utilizando una representación similar. (F) Se muestra la representación esquemática de la localización de la sección de la piel en una vista lateral (izquierda) y visto desde arriba (derecha). Se utilizaron los perfiles del cuerpo de *G. omarorum*, pero es similar en los otros peces.

Para entender con mayor profundidad la complejidad del campo eléctrico cercano, se estudiaron las corrientes en la piel del pez calculadas usando el modelo en ausencia de objetos. Esto permitió representar el movimiento de los puntos de inversión del campo con mayor precisión en la proximidad del pez. En todas las especies estudiadas se calculó el voltaje (Fig. 4, fila del medio) y la corriente transcutánea (Fig. 4, fila inferior) en función del tiempo a lo largo de una línea horizontal sobre la piel del pez. Estos mapas indican la presencia de regiones contiguas de diferente polaridad (segunda línea) o corrientes salientes y entrantes (tercera línea) separadas por líneas en donde se observa la inversión de

polaridad o sentido (líneas negras). En *G. petersii*, sólo hay una línea de ceros que se mantiene fija en el mismo punto. En general, en los Gymnotiformes las líneas de potencial cero se mueven de las regiones rostrales a las caudales a medida que avanza la DOE, como es de esperar por la activación progresiva del OE [52,54]. El caso más sencillo es el de *G. obscurus* dado que presenta una evolución temporal que mantiene, en general un polo positivo rostral y uno negativo caudal, presentando al final de la DOE un largo periodo donde corrientes (o fuentes) negativas son flanqueadas por fuentes positivas en la cabeza y en la cola (lo que puede observarse también en la Figura 3). El caso más complejo es el de *G. coropinae* presentando al comienzo de la DOE un periodo relativamente largo con dos puntos de potencial cero, separando una región de fuentes y voltajes negativos flanqueados por positivos. Esto es reflejo de los múltiples generadores que tienen una evolución témporo-espacial compleja. *A. albifrons* y *G. omarorum* son casos intermedios. Durante la mayor parte de la DOE hay un solo punto de potencial cero, pero en las transiciones se pueden observar dos puntos cero (durante intervalos muy breves).

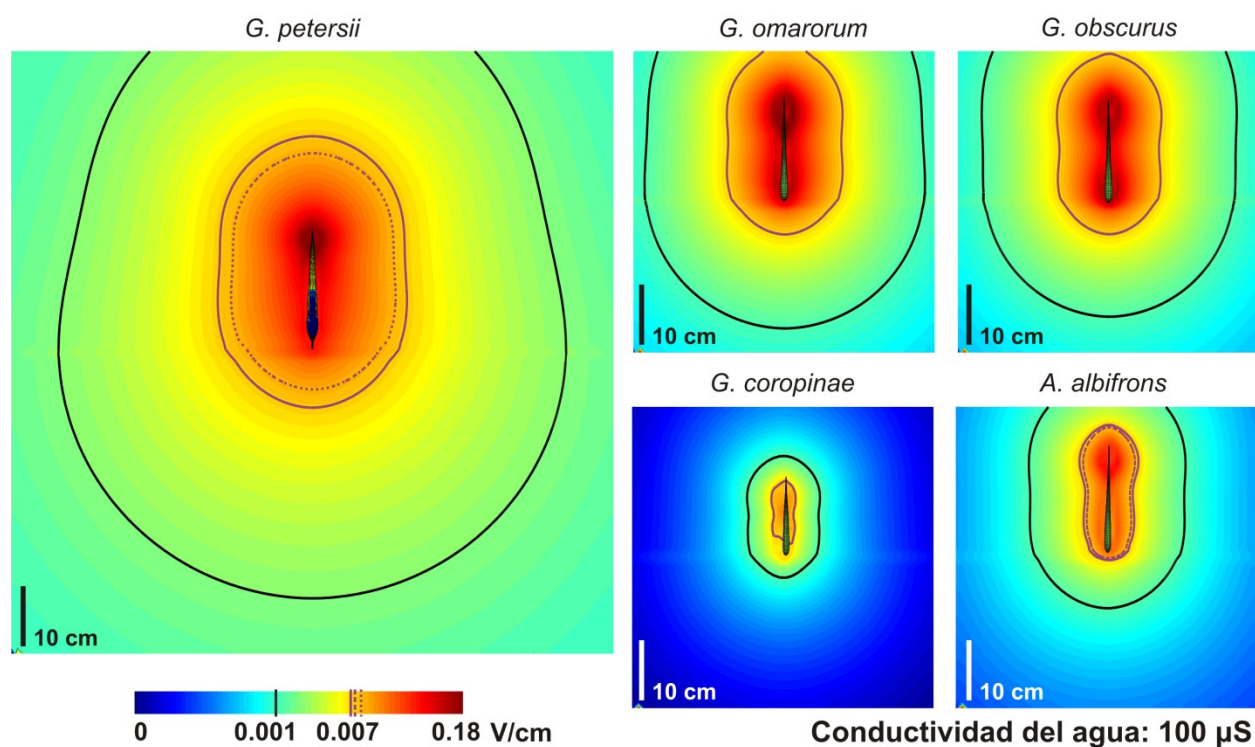


Figura 5. Comparación de los campos máximos a lo largo de la DOE. Los mapas de colores representan el valor máximo absoluto del campo en cada punto del espacio calculado para todo el curso temporal de la DOE. Las líneas moradas muestran los umbrales obtenidos experimentalmente para la electrolocalización activa en *G. omarorum* (línea continua); *G. petersii* (línea punteada) y *A. albifrons* (línea discontinua) y la líneas continuas negras muestran los umbrales para la electrolocalización pasiva en *G. omarorum*. En aras de la comparación se reproducen las líneas continuas en todos los peces.

Finalmente se comparó la magnitud de los campos cercanos y lejanos de los peces. En la Figura 5 se muestran los máximos valores absolutos del campo en cada punto del entorno del pez, en escala logarítmica. Los rangos para electrolocalización activa (línea morada) y pasiva (línea negra), correspondientes a los datos experimentales descritos para *G. omarorum* (línea sólida) [2], *G. petersii* (línea punteada) y *A. albifrons* (línea discontinua), [26,57,58,59] fueron representados en los mapas de estas especies. Con el fin de comparar entre especies, las líneas correspondientes a los mismos valores absolutos del campo de *G. omarorum* se dibujaron sobre los mapas de las demás especies. Este análisis comparativo permitió evidenciar diferencias llamativas entre especies: el rango para la electrolocalización pasiva de *G. petersii* fue de por lo menos dos veces la longitud del cuerpo, mientras que en *G. coropinae* una tercera parte de la longitud del cuerpo. Las otras tres especies presentaron rangos para la electrorecepción pasiva de distancia intermedia, no superando la longitud del cuerpo. Esto sugiere que la magnitud para la detección de un campo producido por un conspecífico de tamaño similar sería significativamente menor en Gymnotiformes, alcanzando el rango más bajo en la especie con el OE más complejo (*G. coropinae*).

3.3.3 De los campos a las imágenes: mecanismos de formación de imágenes estudiadas con pequeñas esferas metálicas

La clave para entender la imagen eléctrica es comprender que la polarización de un objeto localizado en la cercanía de un pez eléctrico, es la fuente de señales electrosensoriales. Dicha señal se traduce a partir del cambio en el campo eléctrico determinado por la presencia del objeto. Las esferas se utilizan como objetos paradigmáticos en el estudio de la electrolocalización ya que basta conocer la posición del centro y el radio para definirlos, y son simétricas con respecto a cualquier plano que contenga su centro. Además, las esferas en un campo uniforme producen un campo virtual que es igual al producido por un dipolo colocado en su centro.

Dependiendo de la localización de los objetos y la especie del pez, la evolución temporal de los campos virtual y estimulante pueden ser iguales o no. La Figura 6 compara el campo basal, el campo estimulante y su diferencia (imagen eléctrica) entre ambos, en dos sitios de la piel del pez (rostral y lateral) para un objeto que se coloca en 2 posiciones (rostral y lateral). En todos los casos el curso temporal del campo virtual en frente del objeto fue igual pero de polaridad opuesta con respecto al curso temporal del campo virtual calculado en zonas de la piel alejadas al objeto. Esta diferencia en la polaridad del campo virtual es debido a que el flujo de corriente es en sentido opuesto entre el centro y la periferia de la imagen (sombrero mexicano [29]). En los Mormíridos no hay diferencias entre el curso temporal del campo estimulante y el del campo virtual, pero en los Gymnotiformes a menudo son diferentes. Esto implica que para un objeto resistivo puro, la posición del objeto se puede codificar no sólo por el patrón espacial, sino también por el patrón de la forma de onda en diferentes localizaciones espaciales. Es claro a partir de la Figura 6 que en todos los Gymnotiformes hay poca diferencia en el curso temporal de la forma de onda cuando se coloca un objeto en frente de la cabeza (Figura 6B). En contraste, hay diferencias importantes al costado de los peces para un objeto situado en la zona rostral (Figura 6C) o en cualquier lugar cuando el objeto está al costado (Figura 6E y F). Para estudiar este fenómeno en detalle, se compararon las imágenes generadas por objetos cerca de la cabeza y en la zona lateral del cuerpo de los peces.

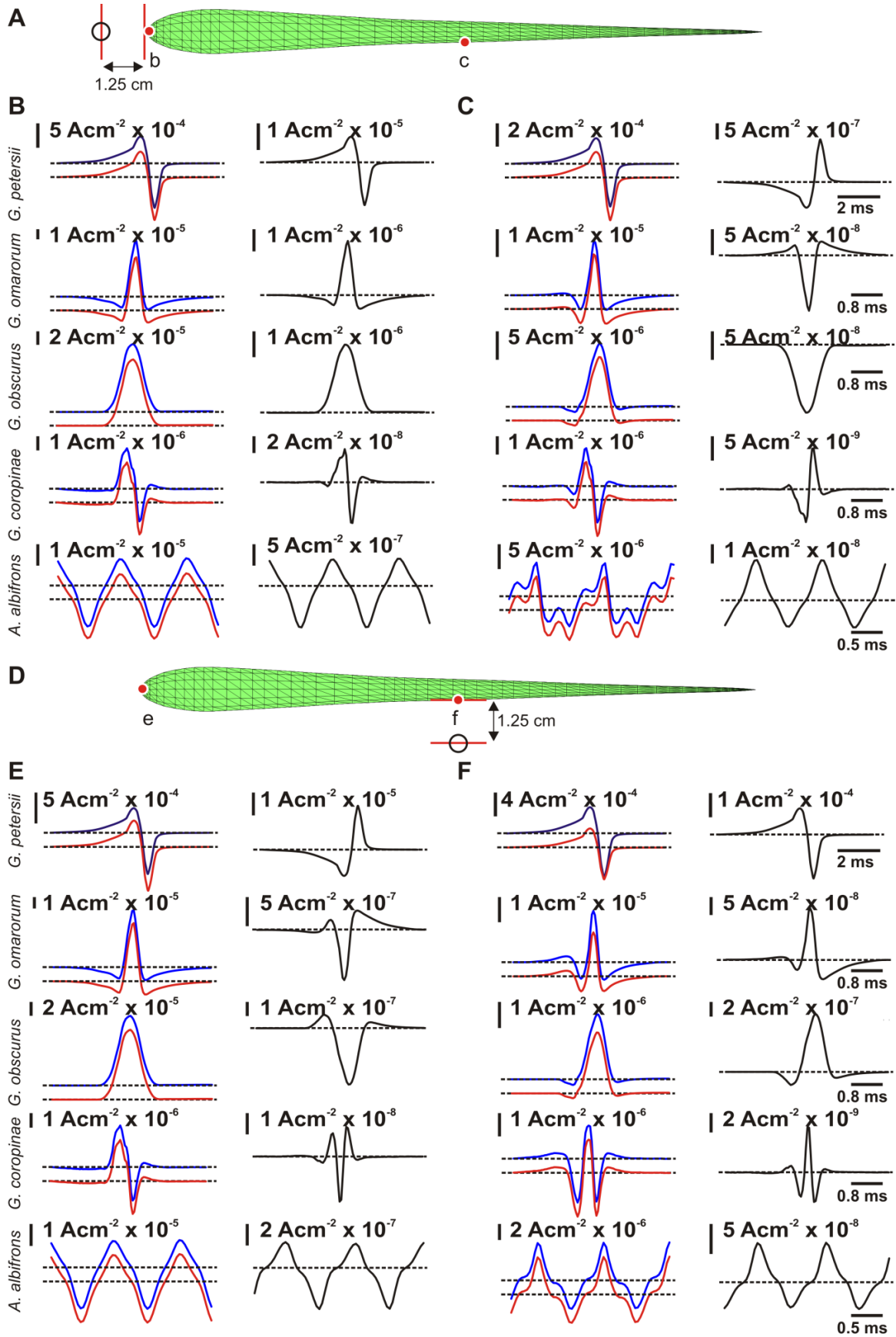


Figura 6. Curso temporal de la imagen cuando el objeto se coloca en la fóvea o al costado. Los círculos negros indican la posición de un objeto de mayor conductividad que el medio. (A) Esquema de la escena. Los puntos rojos marcados como b y c corresponden a los lugares donde se calcularon los trazos en B y C, respectivamente. (B) Cursos temporales en la fóvea. Columna izquierda: Curso temporal de la corriente transcutánea en ausencia (rojo), y en presencia (azul) de un objeto enfrentado a la fóvea. Columna derecha: la imagen se calcula como la diferencia entre los trazos de la izquierda (negro). (C) Cursos temporales al costado: el mismo código. (D) Esquemas de la escena. Los puntos rojos marcados como e y f corresponden a los lugares donde se calcularon los trazos mostrados en E y F. (E) Cursos temporales en la fóvea. Columna izquierda: Curso temporal de la corriente transcutánea en ausencia (rojo), y en presencia (azul) de un objeto en la zona lateral. Columna derecha: la imagen se calcula como la diferencia entre los trazos de la izquierda (negro). (F) Cursos temporales al costado: el mismo código.

Objetos enfrentados a la zona rostral

La Figura 7 (y el material suplementario 2) muestran, para la misma escena de la Figura 6A, una serie temporal de perfiles de imágenes eléctricas. Cada perfil corresponde a las corrientes transcutáneas normalizadas por su máximo valor absoluto que ocurren en un instante dado de la DOE, en función de la distancia medida a lo largo de la piel desde el sitio de la proyección del objeto. En todos los peces, la imagen tiene un perfil centro-periferia opuesto y simétrico. Cuando una esfera de 0,25 cm de radio se coloca a 1 cm de distancia, el perfil de la imagen es casi constante a lo largo de la DOE, cambiando prácticamente sólo en amplitud. Por lo tanto, existe una superposición casi perfecta de los perfiles de la imagen normalizada (Figura 7A y material suplementario 2). Cabe notar que: (a) la amplitud de la imagen en los Gymnotiformes es al menos un orden de magnitud menor que en *G. petersii* y (b) en *G. coropinae* los perfiles de las imágenes son 2 órdenes de magnitud menor que en las otras especies estudiadas (Figura 6, 7 y material suplementario 2). Estas imágenes contrastan con las observadas para un objeto más grande (1 cm de radio) o para un objeto de tamaño similar situado a una distancia del pez menor (0,5 cm). Para la esfera más grande, los anchos de los perfiles de las imágenes fueron similares a los calculados para la esfera pequeña, a la misma distancia. La superposición de los perfiles de las imágenes son muy similares excepto en *G. coropinae*, en el que la discrepancia indica que los perfiles espaciales cambian a lo largo de la DOE (Figura 7B y material suplementario 2). Para la esfera pequeña situada más cerca, se observa una disminución del ancho del perfil de las imágenes y la superposición es menos perfecta en todos los peces (Figura 7C y material suplementario 2).

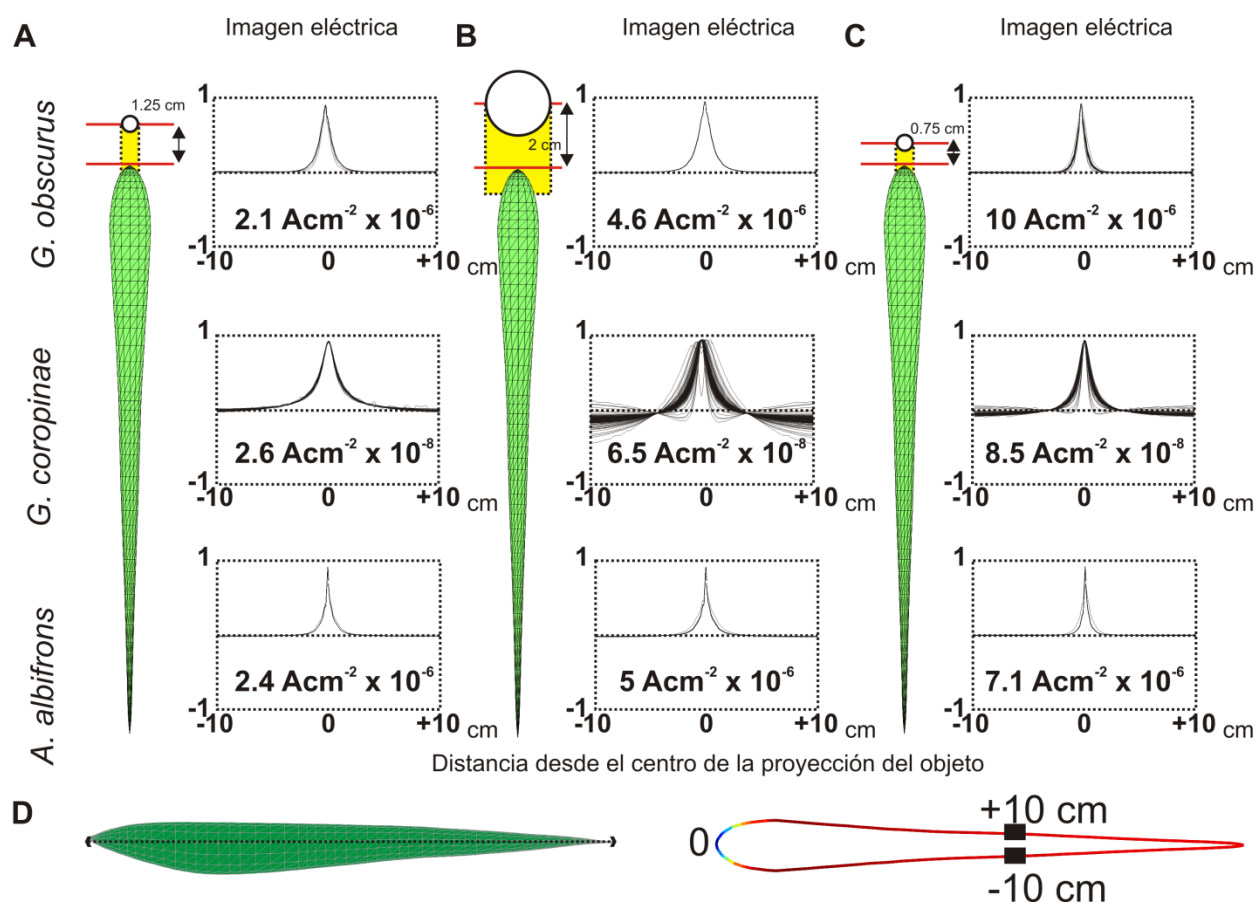


Figura 7. Perfiles de las imágenes para esferas de diferente tamaño que se enfrentan a la fovea. Amplitud de los perfiles de las imágenes para *G. obscurus*, *G. coropinae* y *A. albifrons* cuando una esfera pequeña (A) o una grande (B) se enfrentan a la fovea a la 1 cm, y cuando la esfera pequeña se enfrente a la fovea a una distancia de 0.5cm (C). El gráfico muestra el perfil para todas las DOE normalizadas por el máximo absoluto de cada una. El área amarilla indica la proyección del objeto sobre la piel. Nótese las diferencias encontradas en los perfiles calculados para *G. coropinae*. (D) Representación esquemática de la localización de la sección de la piel en una vista lateral (izquierda) y la sección obtenida vista de arriba (derecha), para *G. obscurus*. Ver material suplementario 2 para ver la imagen completa en todas las especies.

Objetos enfrentados a la zona lateral

Los perfiles de las imágenes de una esfera metálica de radio 1 cm, colocada a 2 y 6 cm de la línea media del pez, para los principales picos de la DOEc-c en las cinco especies estudiadas se muestran en la figura 8. Mientras que en *G. petersii* y *A. albifrons* los perfiles de los principales picos fueron coincidentes, en los Gymnotiformes de pulso se produjo un desplazamiento espacial (Figura 8B y 8D). Además, en todos los Gymnotiformes, las transiciones entre los picos principales se caracterizaron por ser claramente

diferentes mostrando un perfil bifásico, aunque el desfase entre los perfiles, lleva a sobreestimar la cantidad de componentes (Figura 8C y 8E). Esto indica cambios en la dirección del campo transcutáneo. Cuando el objeto se localizó lejos del cuerpo del pez, los perfiles de las imágenes aumentaron en anchura y disminuyeron en amplitud. Además los cambios en los perfiles a lo largo de la DOE se atenuaron (Figura 8D y 8E). Las diferencias entre los perfiles aumentan desde la zona rostro-lateral hasta los 3/4 de la longitud del cuerpo del pez medido desde el rostro (material suplementario 3-7).

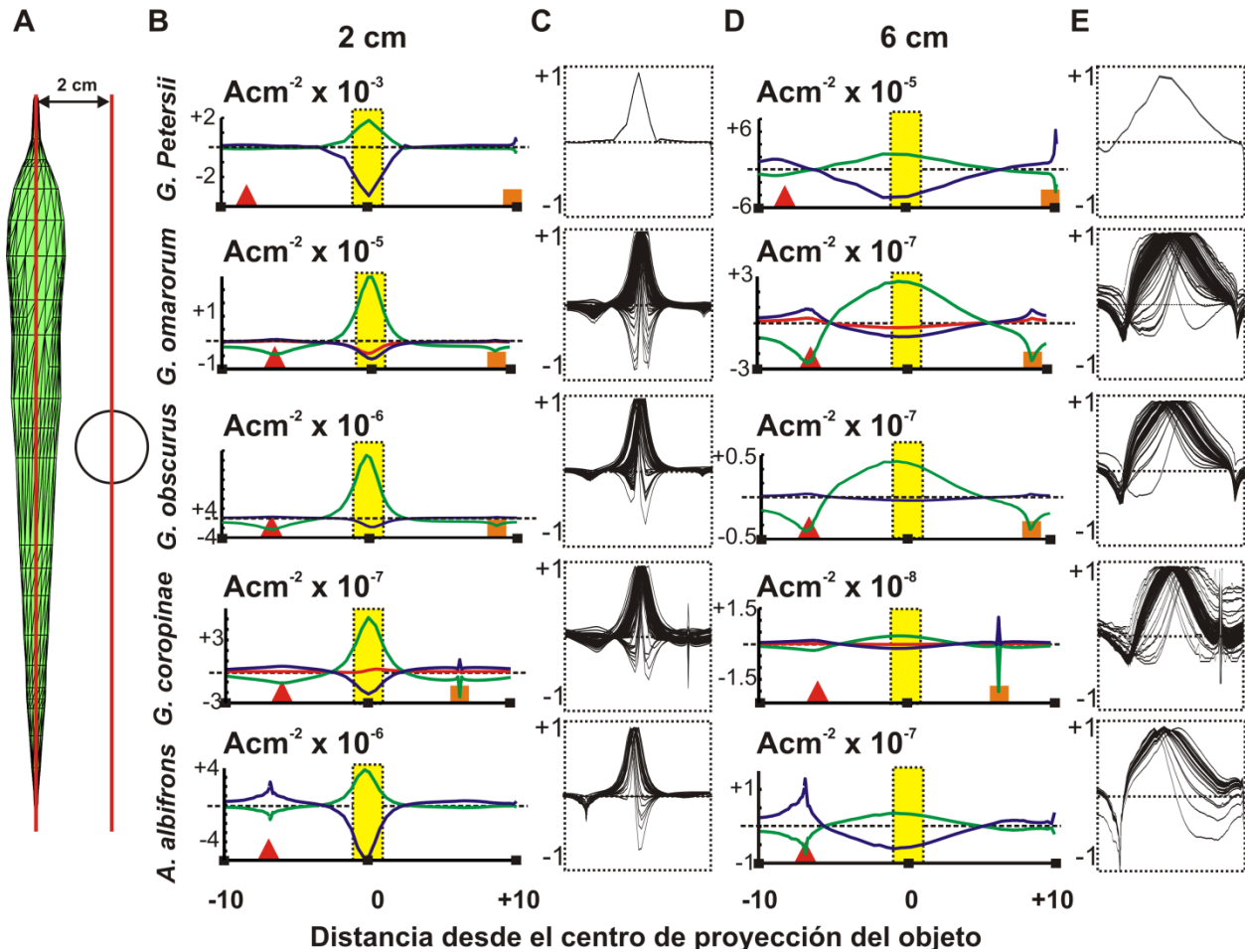


Figura 8. Imágenes de una esfera al costado y hacia la parte media del cuerpo de los peces. (A) Esquema que muestra la posición relativa de la esfera cuando la distancia al eje longitudinal del pez es de 2 cm. (B) y (C) Cada fila muestra los perfiles de las imágenes de una esfera a 2 y a 6 cm del plano sagital de las especies estudiadas respectivamente. Los gráficos muestran los perfiles en los picos de la onda correspondiente a la DOE-c: pico positivo (verde) y el pico negativo (azul). En *G. coropinae*, también se muestra el pico positivo rostral (rojo) y en *G. omarrorum*, el primer pico negativo (rojo). Las inserciones a la derecha de cada perfil muestran las superposiciones de los perfiles en todos los instantes de la DOE normalizados por su valor máximo. Los triángulos y cuadrados indican la punta de la cabeza y la punta de la cola respectivamente, el área amarilla indica la proyección del objeto en la piel.

3.4 Discusión

Los peces eléctricos utilizan la DOE como portadora de señales para la exploración de objetos y la comunicación. El patrón electromotor varía entre las especies, lo que implica diferentes estrategias de generación de imágenes, que a su vez puede implicar diferencias en la organización del sistema electrosensorial tanto en los componentes periféricos como en los centrales. En este capítulo se combina el modelado y análisis comparativo para explorar cómo los aspectos comunes y las diferencias específicas en las imágenes eléctricas de las especies estudiadas, pueden depender de la organización del sistema electromotor.

3.4.1 El papel de la estrategia electromotora en la generación de imágenes sensoriales

En la electrolocalización activa, los campos eléctricos autogenerados tienen una doble función. En primer lugar, generan la estimulación basal del mosaico sensorial. En segundo lugar, son los campos que polarizan los objetos, lo cual genera un campo virtual que corresponde a la perturbación producida por el objeto en el campo basal. Por lo tanto, en la presencia de un objeto, el estímulo del mosaico sensorial es el campo estimulante: la suma del basal más el campo virtual [25,60]. En este capítulo se ha demostrado que el curso temporal del campo de polarización del objeto es específico de la especie, y que también depende de la ubicación del objeto con respecto al cuerpo del pez. El caso más simple de formación de imágenes está representado por los Mormíridos de pulso. Estos peces tienen un OE localizado en el pedúnculo caudal, que se activa de forma sincrónica generando una DOE muy breve. Aquí se confirmaron los datos experimentales y de modelado publicados anteriormente que indican que el campo basal y el campo virtual, tienen el mismo curso temporal cuando la escena presenta únicamente objetos resistivos [8,9,24,29,40,61,62]. Por el contrario, en los Gymnotiformes el OE es distribuido y por lo tanto la evolución temporal de las fuentes electromotoras regionales: (a) se desplazan en el tiempo (como es el caso de *A. albifrons* y *G. obscurus*) y/o (b) muestran una forma de onda característica que difiere en las distintas regiones (como es el caso de *G. omarorum* y *G. coropinae*). Bajo el supuesto de linealidad se extendió el modelo inicial (basado en un OE localizado [40]), mediante el cálculo de la polarización producida por distintos objetos y de los campos basales, como la suma de los efectos de ocho polos equivalentes que cambian en magnitud a lo largo del tiempo. Para el cálculo de polos se partió de voltajes experimentales registrados con el pez en el aire, y el perfil geométrico de su cuerpo [34]. Dado que la amplitud del voltaje, el curso temporal de la DOE y la forma del cuerpo fueron especie-específicos, el campo resultante de cada polo también fue especie-específico.

Además, dado que la distancia relativa desde el sitio en donde se ubica el objeto hacia cada polo varía con la posición del primero, el campo virtual es específico de la posición para cada especie de Gymnotiformes. Sin embargo en el caso de la electrocomunicación, cuando la distancia entre los peces aumenta, los efectos dependientes de la distancia, en relación a la posición de los polos a lo largo del pez tienden a desaparecer y el campo que en este caso sirve a la comunicación se asemeja al campo de un dipolo que tiene la característica del curso temporal de la especie que se esté estudiando. Los resultados obtenidos a partir de los modelos se adaptan bien a los registros experimentales de los campos cercanos y lejanos para las diferentes especies, lo que confirma su validez. En un primer acercamiento se reprodujo la evolución temporal de la DOEc-c. No obstante, una de las limitaciones del modelo es que las simulaciones no pueden dar cuenta de los distintos tanques usados, y por lo tanto, todos los cálculos se llevaron a cabo en un medio homogéneo infinito.

3.4.2 Elementos comunes en la imagen eléctrica activa.

Este capítulo brinda aportes importantes a favor de la hipótesis general de que la región perioral y el resto del cuerpo juegan papeles sensoriales diferentes [63]. Mientras que la "fóvea electrosensorial" se utiliza para explorar los detalles de los objetos, el resto del cuerpo es utilizado como una "retina periférica" para detectar la presencia y el movimiento de objetos en el entorno. Estos resultados generalizan las observaciones experimentales previas sobre las imágenes de objetos en la fóvea de *G. omarorum* [63,64]. En la fóvea, sólo pequeños detalles de objetos cercanos están representados en los perfiles de la imagen. De hecho, como se muestra en la Figura 7, una esfera pequeña y una de mayor tamaño muestran casi la misma forma y extensión de la imagen, difiriendo solo en su amplitud. Esto se observó en todos los peces estudiados con la excepción de *G. coropinae*. Y podría deberse a la forma curvada región perioral [61,63,64]. Esta característica general determina una región del espacio donde la presencia de un objeto genera un perfil similar a lo largo de la DOE. Cuando los bordes del objeto superan esta región (la esfera más grande o la más pequeña cerca de la zona rostral, en la Figura 7B y C) los perfiles varían. *G. coropinae* tiene un cuerpo delgado, por lo tanto, en esta especie, la región en donde los perfiles se mantienen coherente es más estrecha.

Un segundo aspecto en común es la capacidad de la discriminación de "qualias", ya demostrado en peces eléctricos de África (*G. petersii* [65,66]) y de América (*G. omarorum* [67]). Los peces eléctricos son capaces de discriminar cambios en la forma de onda local causadas por la presencia de objetos capacitivos. La constancia de la evolución temporal de la DOE en la región perioral y la presencia de una mayor variedad de receptores en la misma región, facilita la identificación de cambios en la forma de

onda y por lo tanto de cambios en la capacitancia de los objetos. Para discriminar una "qualia" (como el color en la visión), es necesario tener al menos dos tipos de receptores, cada uno de los cuales responde de manera diferente a los estímulos que alcanzan la superficie sensorial. En visión, la luz está compuesta por fotones de diferentes frecuencias que estimulan diferencialmente los tres tipos de conos. Cada una de las imágenes generadas por la activación de cada uno de estos conos se caracteriza por presentar un patrón espacial y temporal de estimulación. En la electrorrecepción, "qualia" se refiere a la respuesta diferencial de los electrorreceptores ante la forma de onda de la DOE local. Los electrorreceptores tuberosos se pueden clasificar en varios subtipos dependiendo de la especie. *G. petersii* tiene dos subtipos [68,69], en el género *Gymnotus* hay cuatro [70,71,72] y en otros Gymnotiformes hay al menos dos [73,74]. Esto ha llevado a la idea de "color eléctrico" en los peces de pulso [24,65,75]. Esta característica común en especies de peces que evolucionaron convergentemente, puede sugerir el uso de algoritmos similares para decodificar la impedancia de distintos objetos. Más interesante es la posibilidad de la codificación del "color eléctrico" por peces de onda. En este caso, el cerebro debe calcular la imagen como cambios espaciales en la amplitud y fase de una onda sinusoidal como estímulo [74].

Al igual que en otras modalidades sensoriales, el tronco del pez puede actuar como una "retina" electrosensorial periférica donde la mayoría de la información codificada se refiere a la presencia, la ubicación o el movimiento de objetos. En consonancia con una resolución espacial menor, las imágenes de objetos proyectadas en el tronco son menos marcadas que en la región perioral (presentaron menor amplitud y mayor extensión) y pueden tener más de un pico. Por otra parte, la presencia de un objeto cerca del costado del pez puede ser detectado tanto en esa región como también en la región perioral (Fig. 10-13 filas 2 y 3). Esta estimulación de la fovea por objetos colocados al costado del pez también se observó experimentalmente en *G. petersi* [76] y *G. omarorum* [2]. Sin embargo, para los objetos que se encuentran lejos del pez, la intensidad de la imagen en la zona lateral es relativamente más grande, abriendo la posibilidad de decodificar la posición aproximada del objeto mediante el análisis de la forma de onda, seguido por despliegues conductuales como son las respuestas de seguimiento o evitación del objeto, para inspeccionar más o para escapar del mismo[57].

3.4.3 Ventajas y desventajas de tener un OE complejo

Los campos eléctricos autogenerados deben tener una magnitud suficiente para garantizar la estimulación, a través de la corriente transcutánea de los electrorreceptores tanto del emisor como un conspecífico en su cercanía. Se postula que para ello en los peces africanos y americanos han

evolucionado dos estrategias diferentes: (a) en los peces africanos existe un aumento en la potencia de su DOE, producto del gran número de electrocitos planos en su apéndice caudal que forman un OE concentrado en un volumen pequeño. Estos electrocitos están orientados en paralelo con una gran superficie perpendicular al eje principal del cuerpo y son activados casi sincrónicamente por el sistema nervioso central. Además, la gran sección del cuerpo, que presenta alta conductancia, facilita la circulación de corriente en sentido rostral, aumentando el dipolo equivalente, como se ha observado a cierta distancia del cuerpo [8]. Esto puede facilitar la comunicación a larga distancia entre congéneres. El curso temporal del campo se mantiene constante en todas partes, lo que asegura que las variaciones de los estímulos locales generados por un objeto capacitivo caigan dentro de una familia de formas de onda que dependen sólo de la impedancia del objeto, lo que sugiere la percepción de "color eléctrico" [24,65]. (b) Los peces americanos por su parte han desarrollado OEs compuestos por numerosos electrocitos, grandes y relativamente separados que se extienden a lo largo del cuerpo del pez. El caso más simple es el representado en este trabajo por *G. obscurus*, el cual genera una descarga que tiene casi el mismo curso temporal a lo largo del OE. En la fóvea, que está suficientemente lejos del OE, el mecanismo de formación de imágenes es en general similar a *G. petersii*. Sin embargo, al costado del pez el retardo en el tiempo de activación entre las diferentes regiones conduce a las diferencias descritas entre las imágenes del mismo objeto cuando se coloca en diferentes sitios. El panorama es similar para *A. albifrons*. *G. omarorum* añade diferentes formas de onda regionales que tienen un solapamiento en algunos instantes, en donde se oponen distintas fuentes de corrientes, lo que hace que los campos laterales sean aún más complejos. Finalmente, *G. coropinae* muestra una complejidad aún mayor. En esta especie la duración de los diferentes componentes es más corta que el retardo entre la activación de las distintas regiones, facilitando la superposición entre generadores opuestos [44,77]. Como consecuencia de la separación entre electrocitos, las corrientes locales internas reducen el alcance externo de la DOE. Como consecuencia de la complejidad del OE, se generan campos sincrónicos pero opuestos en diferentes regiones del pez, cancelándose relativamente cerca del cuerpo del mismo. Dado que estas dos características parecen ser desventajas para la electrolocalización y la electrocomunicación, ¿cuál sería entonces la ventaja de esta estrategia evolutiva?

Una consecuencia funcional de la complejidad del OE es la capacidad de generar señales sitio-específicas en el campo cercano, mientras que se mantiene un único curso temporal de la DOE, que es específico de la especie, en el campo lejano. Esto permitiría a los peces identificar la posición del objeto mediante el análisis de la forma de onda local. Además, el campo cercano podría ser indicativo del género de la

especie. Sin embargo otras características de la DOE pueden ser utilizadas para la comunicación entre miembros de la misma especie. En el pez que presenta un DOE cabeza cola bifásica, *Brachyhypopomus gauderio*, tres patrones temporo-fásicos de la DOE se puede utilizar como señales de comunicación durante los despliegues típicos de cortejo [78,79]. Estos patrones están modulados por el núcleo electromotor bulbar (o núcleo marcapaso) encargado de producir la señal que produce la DOE.

Finalmente, un campo mucho más pequeño generado por componentes de alta frecuencia se puede utilizar como una estrategia de cifrado para evitar depredadores [80]. *G. coropinae* y otros miembros del clado 1 del género *Gymnotus* [44,56,77] muestran una multiplicidad de fuentes asincrónicas produciendo un campo cercano muy complejo. Además a partir de los datos presentados en esta tesis se evidencio que el alcance del campo lejano de esta especie es menor que en otros Gymnotiformes (Fig. 5). Por lo tanto, *G. coropinae* puede utilizar su descarga compleja principalmente para la electrolocalización activa mientras que esa misma complejidad, reduce los potenciales de campo lejano, lo que permite que este pez se pueda ocultar crípticamente de los depredadores. Como característica complementaria para asegurar la electrolocalización activa, este y otros miembros del clado (por ejemplo, *G. Javari*) habrían generado una extensión del OE en la zona rostral, que produce fuentes adicionales de gran intensidad [44]. Esta extensión rostral del OE permite a los peces generar corrientes de gran amplitud que pasan a través de la fóvea, pero con un alcance reducido [44,45,46]. Este diseño reduce la región en la que el mosaico electrosensorial es estimulado de manera optima. Coincidentemente esa región presenta una recepción optima.

CAPITULO 2

Peleas eléctricas: electrorrecepción durante encuentros agonísticos en

Gymnotus omarorum

4.1 Introducción

4.1.1 Conducta agonística

Los comportamientos sociales abarcan las interacciones entre individuos de la misma especie en las que uno o más obtienen beneficios, y pueden ser agonísticos, afiliativos o sexuales. Los comportamientos agonísticos son definidos como aquellas acciones que generan situaciones de conflicto entre congéneres y han sido claves para dar forma a la sociabilidad en el contexto evolutivo [81,82]. Los conflictos surgen porque los animales compiten por recursos diferentes (territorio, comida, pareja, sitios de reproducción, etc) y se resuelven cuando un individuo mantiene el recurso en la lucha (dominante) y el otro lo pierde (subordinado). Aunque los recursos por los cuales los individuos compiten pueden ser diferentes y los patrones de comportamiento involucrados pueden ser muy diversos, los encuentros agonísticos siempre siguen las mismas fases (evaluación, conflicto y resolución post-conflicto; [83]). Los conflictos pueden ser resueltos sin enfrentamientos físicos directos, pero en general los animales tienden a luchar para aclarar cual se convertirá en el ganador o el perdedor. Por lo tanto, la agresión, definida como un comportamiento abierto que lleva a desplazar, dominando o dañando a otro individuo [84], forma parte de la fase de conflicto de los encuentros agonísticos. En contexto agonístico, dependiendo de los recursos por los cuales los individuos compiten y la motivación hacia el combate, se pueden observar al menos tres tipos de agresión: territorial, relacionada a la reproducción y relacionada a la definición del rango [85].

4.1.2 *Gymnotus omarorum* como modelo de conducta agonística

Los teleósteos ofrecen modelos experimentales ventajosos para el estudio de la agresión y sus mecanismos neurales, dado que poseen una red de toma de decisiones más sencilla y accesible a la exploración experimental directa, que en otras especies de vertebrados. En particular, el uso de Gymnotiformes presenta ventajas para el estudio de las bases neurales de los comportamientos sociales, ya que todo comportamiento en peces eléctricos incluye despliegues locomotores y eléctricos. Las modulaciones transitorias de la frecuencia de la DOE sirven de señales eléctricas sociales distintivas y conspicuas, fáciles de registrar, caracterizar y cuantificar.

Gymnotus omarorum [11], pez eléctrico autóctono, solitario y territorial, ha sido presentado recientemente como el único modelo en teleósteos de agresión exclusivamente territorial independiente de la actividad reproductiva y del sexo de los contendientes [12,86]. Fuera del período

reproductivo, *G. omarorum* despliega agresión territorial intra e intersexual, estableciendo una dominancia que está directamente correlacionada con la asimetría en el peso de los contendientes [12].

4.1.3 Respuestas de acercamiento ante campos eléctricos simulados

Dado que algunos peces eléctricos de descarga débil defienden vigorosamente su territorio contra intrusos congéneres, es posible provocar que un pez eléctrico se acerque y ataque un electrodo que este simulando la DOE de la especie [4]. Esto se puede realizar en condiciones controladas de laboratorio en donde el comportamiento de los peces puede ser monitoreado con precisión. Schluger y Hopkins [87] se preguntaron primero si el pez mormirido africano, *Brienomyrus brachyistius* es capaz de determinar la distancia y la dirección hacia la fuente que produce un estímulo eléctrico. Para esto usaron un gran tanque circular de poca profundidad, en donde se obtuvieron registros de vídeo, del patrón de la respuesta de acercamiento frente a una variedad de estímulos presentados mediante electrodos bipolares en diferentes configuraciones espaciales. Schluger y Hopkins [87] encontraron que estos peces tienden a acercarse a los electrodos con el eje mayor de su cuerpo alineado en paralelo a las líneas de corrientes. Estudios similares se llevaron a cabo con resultados similares en *Gymnotus carapo* [88,89] y *Brachyhypopomus diazi* [89]. Como *Brienomyrus*, *Gymnotus* y *Brachyhypopomus* alinean su cuerpo en paralelo con el vector del campo eléctrico, mientras se acercan al electrodo a lo largo de las líneas del campo eléctrico. En todos estos experimentos, los estímulos fueron ondas sinusoidales de un solo período ajustadas para que coincidan con la duración de las DOEs de los peces residentes. Los autores encontraron una ligera preferencia de acercamiento hacia el electrodo positivo (equivalente a la cabeza de un pez) incluso cuando la vía para llegar al polo positivo era más larga que la del polo negativo. La preferencia por esa zona se ha observado en otro estudio comportamental [90].

La electrorecepción pasiva y las imágenes eléctricas generadas utilizando esta submodalidad no ha sido estudiada utilizando modelos computacionales hasta el momento. En este capítulo, se pretende generar un marco práctico en la utilización de modelos informáticos para estudiar las propiedades de la imagen eléctrica, producida por la estimulación del mapa sensorial por parte de fuentes externas al pez que la recibe. De aquí en mas se denominara imagen eléctrica pasiva. Se utilizará el programa desarrollado previamente basado en el BEM para el cálculo de las corrientes transcutáneas así como los mapas de potenciales y el campo eléctrico para un solo pez, para modelar dos peces con su respectiva DOE en la misma escena.

4.2 Métodos

4.2.1 Protocolo conductual

Se realizaron registros conductuales de enfrentamientos agonísticos en diadas de *G. omarorum* en período no reproductivo utilizando el protocolo de compuerta [12,79,86,91]. Este procedimiento asume que el territorio es el único recurso por el cual los individuos compiten y provee a ambos contendientes de simetría en cuanto al recurso y a su valor: arena no enriquecida, territorio de igual tamaño, igual tiempo de residencia y experiencia previa. Se utilizaron 14 peces adultos, los cuales fueron agrupados en diadas, en donde se mantuvo una diferencia de peso de entre el 10% y el 20% entre los contrincantes. Diez minutos luego del apagado de la luz se levantó la compuerta, y los peces se separaron 10 min después de la resolución del conflicto.

Para determinar las trayectorias de acercamiento de los peces y evaluar las claves que estos utilizan para tomar la decisión de atacar o no, se realizaron registros en una pecera cuyas dimensiones (160-L, 110 cm x 80 cm x 25 cm), permiten una mejor caracterización de las mismas. Además se realizaron registros de diadas en peceras de menor tamaño (40-L, 55 cm x 40 cm x 25 cm, cada una), para los mismos peces, pero agrupados en diadas diferentes a la del primer grupo experimental. Que no presentaron diferencias significativas con los datos publicados [12,86].

En la arena chica se utilizó una sola compuerta colocada en el medio de la pecera (Figura 9A) para aislar física y eléctricamente a los peces. Para la pecera grande en cambio, fue necesario tres compuertas que aseguren el aislamiento eléctrico previo al inicio del experimento: una compuerta central que dividía la pecera en dos mitades iguales (similar a la pecera chica) y dos compuertas, cada una formada por tres paredes, en donde fueron colocados los peces, permitiendo un mayor aislamiento de los mismos (Figura B). Este aislamiento mayor fue comprobado previo al inicio de la fase experimental, colocando un solo pez en cada compartimiento y registrando con electrodos la presencia o ausencia de la señal de la DOE en los otros compartimientos (datos no presentados).

4.2.2 Registros conductuales

Los registros conductuales fueron realizados en un sistema experimental que permite grabaciones simultáneas de vídeo y de señales eléctricas [79]. Las peceras se equiparon con dos pares de electrodos ortogonales fijados a cada pared. Los peces fueron mantenidos en el depósito de grabación a temperatura constante (20-22 ° C) durante 2 horas antes del inicio del experimento. Los experimentos

fueron realizados en la noche en total oscuridad; la estación fue iluminada por una serie de LEDs infrarrojos (L-53F3BT, Fablet y Bertoni Electrónica) situados por encima de los tanques. Dos cámaras de vídeo sensibles a luz infrarroja (SONY CCD-Iris) se centraron en la parte inferior de la estación, enfocadas cada una a las cuatro peceras pequeñas, o a la única pecera grande según el caso. Las DOEs se adquirieron por dos pares de electrodos fijos, conectados a dos amplificadores de alta impedancia de entrada-(FLA-01, Cygnus Technologies, Inc.). Las imágenes y señales eléctricas fueron capturadas por una tarjeta de vídeo (Pinnacle Systems, PCTV-HD Pro Stick) , almacenadas en una computadora y posteriormente analizadas para evidenciar la presencia de varios patrones de comportamiento electromotor y motor previamente descritos [12].

Los registros conductuales de enfrentamientos agonísticos en díadas de *G. omarorum* fueron realizados en la Unidad Bases Neurales de la Conducta (UBNC), en el Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable en colaboración con Rossana Perrone y bajo la supervisión de Ana Silva.

4.2.3 Despliegues motores y eléctricos

Se identificaron las mismas fases en encuentros agonísticos en ambas especies: a) evaluación o pre-conflicto: desde el tiempo 0 a la aparición del primer ataque; b) contienda: desde la aparición del primer ataque a la resolución del conflicto (tiempo de resolución); c) fase de post-resolución: 10 min. La resolución del conflicto se estableció como el momento en que se observan 3 alejamientos consecutivos sin ataques por parte del subordinado. Este criterio define la resolución del conflicto de manera no-ambigua ya que los peces que realizan los 3 alejamientos nunca cambiaron su estatus de subordinados en los 10 min. posteriores de interacción. La tasa de ataques se calculó dividiendo el número de ataques) por la duración del conflicto en segundos.

Mediante el sistema de adquisición simultánea de señales eléctricas y de despliegues locomotores es posible distinguir cual DOE es emitida por cada individuo de la díada. Las señales eléctricas adquiridas fueron analizadas determinando amplitud e intervalo entre DOEs con Clampfit (Molecular Devices Corporation). Se calculó la latencia de aparición del primer apagado y la del primer chirp como el tiempo al primer apagado o chirp dividido la latencia al primer ataque. La frecuencia de apagados y frecuencia de chirps se calculó por separado para la fase de contienda y la post-resolución dividiendo el número de apagados o chirps dividido la duración de la fase en segundos. Se midió el tiempo total interrumpido durante la contienda y post-resolución como el porcentaje de tiempo apagado por duración de la fase.

4.2.4 Modelado de escenas y órganos eléctricos.

Para modelar uno o más peces, así como distintos objetos, hay que considerar dos aspectos. El primero está relacionado con la distribución espacial de esos objetos/sólidos, y la presencia o no de fuentes eléctricas. Al conjunto de objetos (incluyendo al pez) colocados en una posición dada se le denomina escena [40]. Para modelar un objeto que se acerca a otro objeto, es necesario generar varias escenas. Cada escena por sí sola, permite la posibilidad de calcular los valores de corriente, para cada instante de la DOE de un pez. En este caso se considera que durante la DOE el movimiento del pez es prácticamente despreciable. Además, si dos o más objetos distintos presentan fuentes, la única consideración a tener es que en todos los sólidos de una escena que presenten fuentes, estas deben estar definidas en los mismos instantes.

El siguiente aspecto fundamental es la modelización del OE: la corriente que se asigna a cada fuente para modelarlo varia en relación a la forma y tamaño del pez, no así los voltajes determinados experimentalmente. Para definir las intensidades de corriente que se necesita asignar en cada pez, dos alternativas pueden ser adoptadas.

A) Conociendo la distancia entre los planos limitados por los electrodos de registro (l), el área de la sección media de la porción de cuerpo a modelar (S), y la resistividad del pez (ρ), se puede calcular la intensidad de corriente (I) utilizando la ecuación 3 del capítulo 1, para cada pez a modelar .

$$I = (V.S) / (\rho.l), \quad (1)$$

Esto implicaría que para cada pez es necesario conocer los valores de la superficie y el largo de cada sección.

B) Tomando en cuenta que para generar la geometría de cada pez se parte del modelo creado previamente ([10], donde el ejemplar usado de *G. omarorum* mide 16 cm) y que para ajustarlo a las dimensiones de otro pez se escala proporcionalmente, se puede modelar el OE, conociendo solo el largo final del pez como se muestra a continuación.

Si se despeja V de la ecuación 1, se obtiene

$$V = (J.\rho.l)/S, \quad (2)$$

Donde J es la corriente.

Si se considera dos peces dados, llámeselos pez A y pez B se tiene que:

$$V = (J_A \cdot \rho \cdot l_A) / S_A \quad \text{y} \quad V = (J_B \cdot \rho \cdot l_B) / S_B \quad (3)$$

Si se iguala y se despeja J_B de (3) se obtiene

$$J_B = (S_B / S_A) \cdot (l_A / l_B) \cdot J_A \quad (4)$$

Conociendo el largo de ambos peces y sabiendo que se mantiene la proporcionalidad se puede obtener la relación X entre sus longitudes, y X^2 sería la relación entre las superficies. Simplificando:

$$(S_B / S_A) = (S_A \cdot X^2 / S_A) = X^2 \quad \text{y} \quad (l_A / l_B) = (l_A / l_A \cdot X) = 1/X \quad (5)$$

Uniendo la ecuación en (4) y (5), y dado un valor de corriente conocida para un pez y conociendo el largo de ese pez y del pez que se quiere calcular, se obtiene que:

$$l_B = l_A \cdot X \quad (6)$$

Usando esta ecuación se modelaron los OEs de peces de diferentes tamaños de *G. omarorum*.

4.2.5 Simulaciones computacionales

A partir de los datos obtenidos por los registros de vídeo se calculó la trayectoria de acercamiento de los peces. La cámara de vídeo utilizada registró aproximadamente 30 instantes por segundo. De este conjunto de datos se tomaron 3 instantes (o fotos) por segundo. Para determinar la trayectoria se desarrolló una rutina en MatLab, basada en programas de detección de movimiento, que cuenta con un filtro para señales de fondo que se desvían del tamaño de los peces. Para cada pez se midió su punto medio y la localización de la cabeza. Esto sirvió como información de entrada para modelar las imágenes eléctricas. Se determinaron de esta manera las imágenes de electrorrecepción pasiva y activa, para ambos peces, antes del primer ataque. Se calculó para cada instante seleccionado la imagen física del cuerpo del conspecífico y al patrón de corrientes transcutáneas asociado a la DOE del otro pez. Para ello se realizaron simulaciones utilizando el BEM. Como se describió anteriormente, el modelo usado presenta una gran flexibilidad para simular escenas según las necesidades experimentales, así como para modificar las características geométricas y eléctricas de los objetos implicados. Es un modelo tridimensional lo cual asegura que la caída de corriente se ajusta a la observable experimentalmente. Esto es particularmente relevante para la adecuada determinación del campo generado por el pez en

puntos exteriores, lejanos al mismo y la generación de imágenes eléctricas en zonas de geometría compleja. Los elementos que conforman la geometría del pez pueden incrementarse o disminuirse en cantidad en zonas discretas, por ejemplo en la zona de la piel donde se generará la imagen.

4.2.6 Análisis estadístico

Los datos locomotores y eléctricos fueron analizados con test no-paramétricos: Test de Mann-Whitney U (para variables independientes usando set de datos de 2 peces diferentes), y test de χ^2 (para comparar variables esperables y observadas). En todos los casos se tomó $p=0.05$, para decidir si se aceptaba o no la hipótesis nula.

4.3 Resultados

4.3.1 Dinámica de los encuentros agonísticos

Cuando se sometieron individuos de *G. omarorum* fuera del período reproductivo en diadas inter- e intra-sexuales a un protocolo de compuerta (Figura 9), todas las diadas testeadas ($n = 14$, 7 para la arena grande y chica respectivamente) presentaron comportamiento agonístico, el cual finalizó en una relación de dominancia-subordinación. Todas las interacciones siguieron las mismas fases (Figura 9): a) fase corta de evaluación o pre-conflicto (latencia al primer ataque = 14 ± 7 s para la arena chica y 36 ± 12 para la arena grande), b) fase de contienda (duración del conflicto = 278 ± 100 s y 687 ± 431 s) caracterizada por despliegues de agresión y c) fase de post-resolución registrada arbitrariamente por 600 s en la cual nunca se observó la reversión de la relación de dominancia.

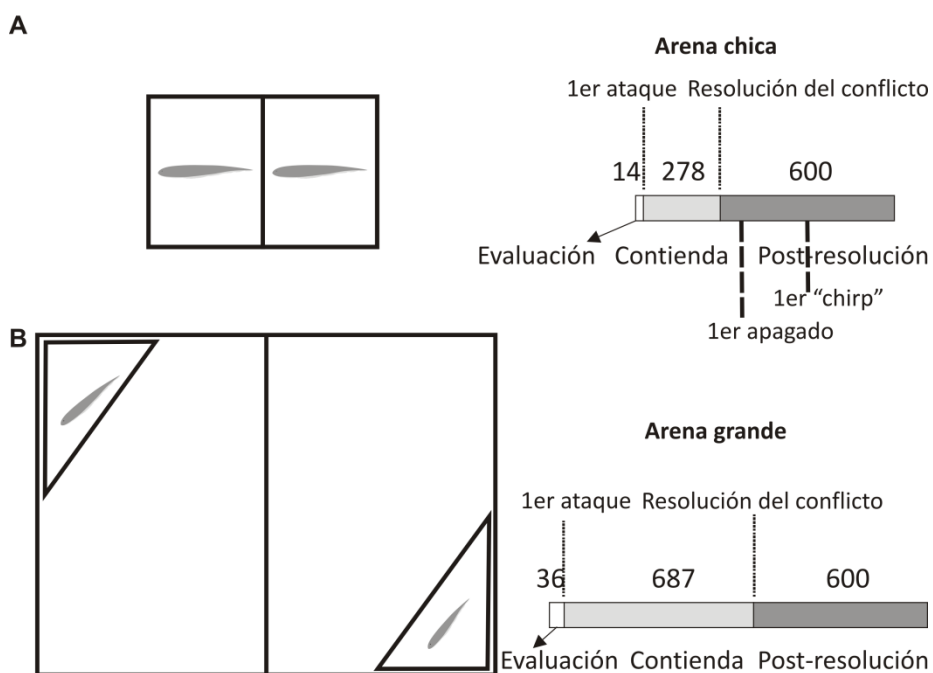


Figura 9. Esquema de los protocolos y estructura temporal de los encuentros agonísticos en *G. omarorum*:

(A) Izquierda: esquema del protocolo de compuerta utilizado en la pecera chica. Derecha: Las medianas de las duraciones de las fases (expresadas en segundos). (B) Igual que (A) para la pecera grande.

Además de encontrarse las mismas fases entre ambos abordajes experimentales, se observó que existe una tendencia al aumento entre las duraciones de la fase de evaluación y la fase de conflicto ($p = 0.09$ para ambas fases) entre los dos tamaños de pecera (Figura 10A y B). La variable "chirps", así como la tasa de ataque del dominante durante y post contienda mostraron diferencias significativas ($p = 0.04$,

0.002 y 0.002 respectivamente), siendo menor, o no existiendo como es el caso de la tasa de "chirps", en la pecera grande (Figura 10C E y F). La tasa de apagados no mostró diferencias (Figura 10D). Esto indicaría que un aumento en el territorio en disputa generaría una disminución en la agresividad de la contienda y una tendencia al aumento en la duración del conflicto.

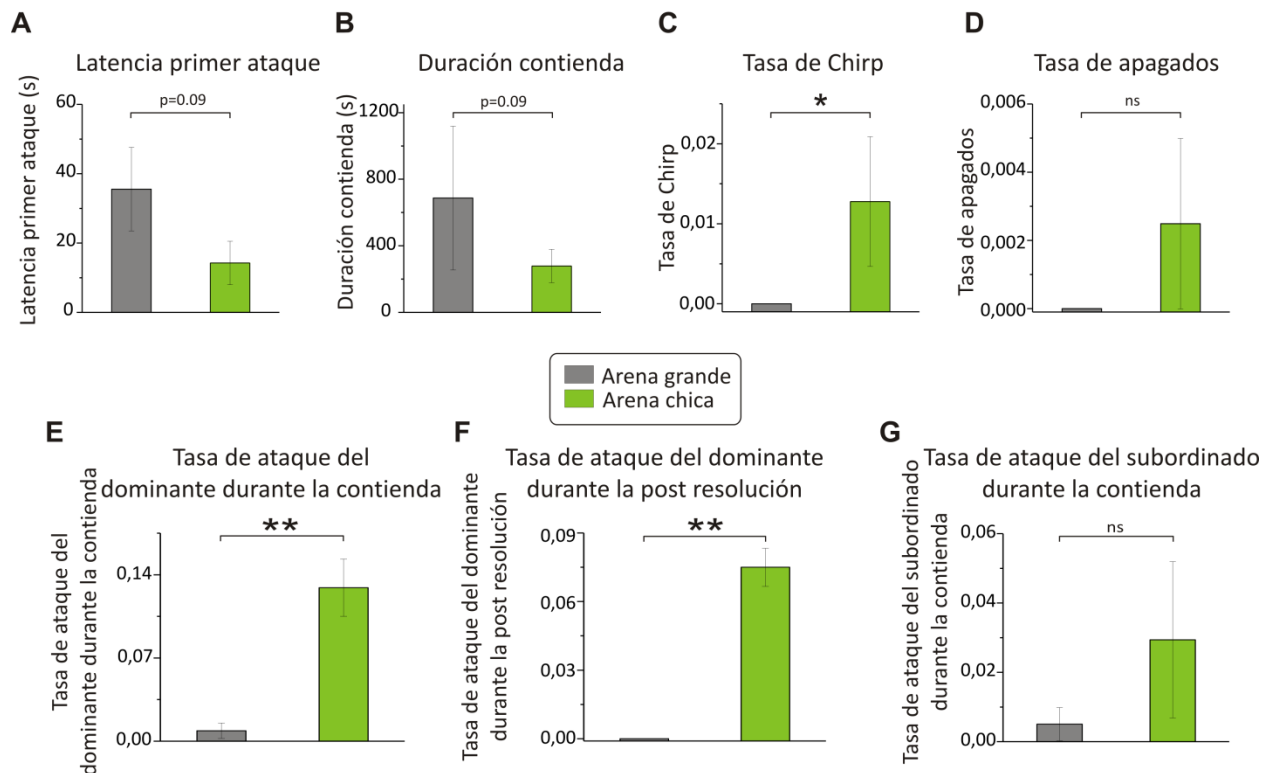


Figura 10. Comparación entre las dinámicas de los encuentros agonísticos en las dos peceras. (A) Latencia al primer ataque. (B) Duración de la fase de contienda. (C) Tasa de "chirps" (D) Tasa de apagados. (E) Tasa de ataque del dominante durante la fase de contienda. (F) Tasa de ataque del dominante durante la fase de post conflicto. (G) Tasa de ataque del subordinado durante la fase de contienda.

En la Figura 11 se compara para los peces de cada día, cuál realizó el primer ataque y cuál fue el ganador. Se puede observar que los comportamientos desplegados en ambos tamaños de peceras presentaron similitudes. En la pecera chica (Figura 3A) en el 51% de los casos el pez grande ataca primero y en un 82% es el pez grande el que gana (para esta parte del estudio se utilizaron además de los datos de los experimentos de esta tesis, datos previos obtenidos por la UBNC). En la pecera grande (Figura 3B) los peces grandes atacaron primero en un 43% y resultaron ganadores en un 85% (n = 7). Al igual que lo observado previamente [12], los resultados obtenidos en ambas arenas, indican que el pez

de mayor tamaño de la diada tiene mayor probabilidad. En relación al primer ataque estos datos arrojan un importante indicio a la capacidad que tienen los peces estimar el tamaño relativo del contendiente.

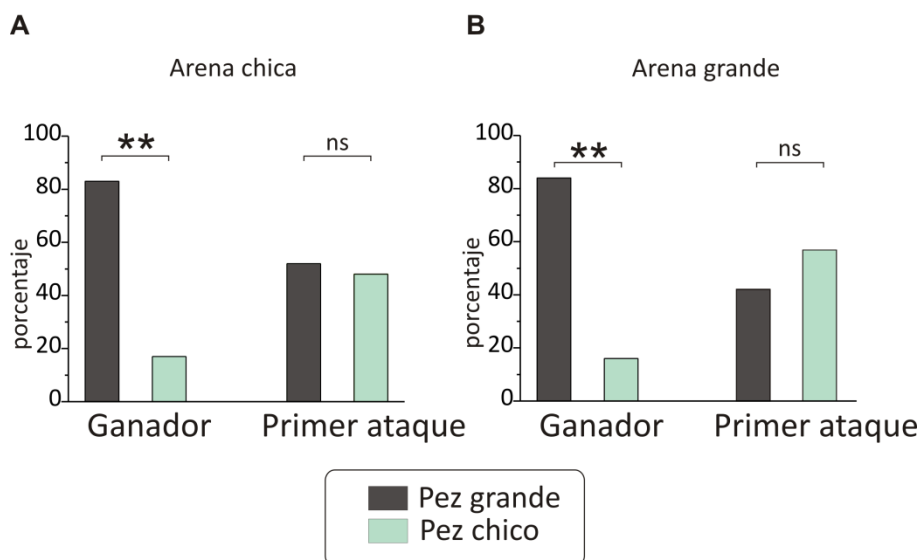


Figura 11. Primer ataque y ganador en ambas peceras. (A) Gráfico que muestra el porcentaje de victorias y del primer ataque realizado por los peces agrupados como peces grandes y chicos en la pecera chica. (B) Gráfico que muestra el porcentaje de victorias y del primer ataque realizado por los peces agrupados como peces grandes y chicos en la pecera grande.

Los datos obtenidos en la arena chica fueron comparados con datos previos obtenidos para el rango de peso utilizado en esta tesis y ya publicados [12]. Al no haber diferencias entre ambos grupos, se utilizó los experimentos realizados en esta tesis. Además, esto permitió una mejor comparación entre los datos obtenidos en ambas peceras.

4.3.2 Trayectoria de acercamiento

La Figura 12A muestra un ejemplo de la trayectoria seguida por los peces hasta encontrarse y realizar el primer ataque. En color azul se ve el fondo y en verde se puede observar la imagen de cada pez en sucesivos instantes. A partir de la posición de cada pez en cada instante se puede armar la trayectoria de aproximación efectuada en cada diada (Figura 12B). Se puede observar que ninguno de los peces (chico: punto rojo; grande: punto verde), siguen en general una trayecto rectilínea para acercarse.

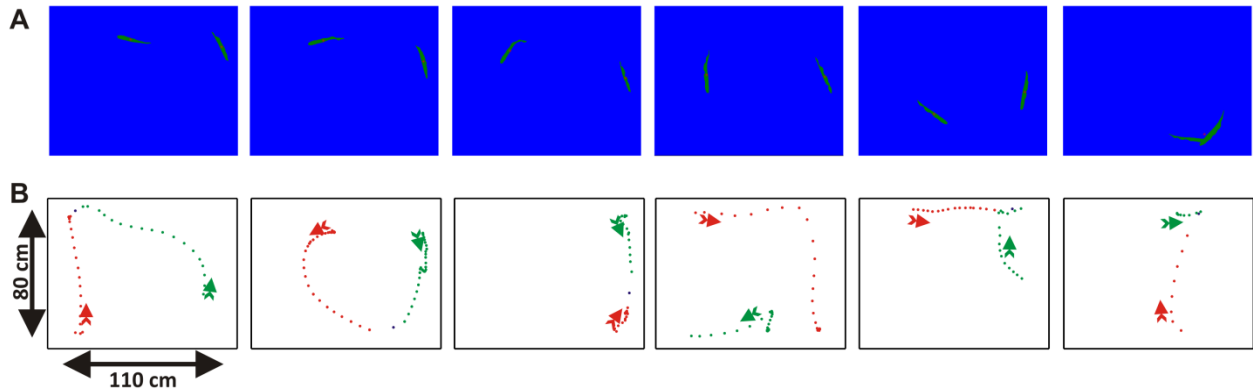


Figura 12. Cálculo de trayectorias de acercamiento. (A) Secuencia temporal de la trayectoria de acercamiento en una diada. (B) Cálculo de la posición de cada pez en cada instante. Los puntos verdes representan el punto medio del pez grande. Los puntos rojos el punto medio del pez chico. El punto azul representa el lugar donde se realizó el primer contacto. Las flechas de colores representan la dirección hacia donde se dirigen los peces.

4.3.3 Imagen eléctrica activa y pasiva

En un primer nivel de análisis se modelaron las imágenes eléctricas en la superficie sensorial del pez que produce la DOE y las corrientes transcutáneas producidas por la DOE de otro pez (en este caso para simplificar se denominaran simplemente "imagen eléctrica activa" e "imagen eléctrica pasiva" respectivamente), en escenas estáticas o cuyo patrón en la trayectoria es regular (Recuadro 2.1). Esta estrategia es importante para comprender la relación entre la posición de cada pez y las imágenes generadas. Sin embargo, no contempla toda la rica complejidad que se puede obtener de situaciones comportamentales reales. Posteriormente y continuando con el estudio de los enfrentamientos agonísticos, se modelaron ambas imágenes (activas y pasivas) a partir de la posición de cada uno de los miembros de la diada. De esta forma se obtuvo la imagen eléctrica activa y pasiva en función del tiempo y la posición.

Perfiles de las imágenes eléctricas activas

El valor de la imagen eléctrica activa en cada punto de la piel del pez, se estimó con el RMS (ver Recuadro 2.1). La Figura 13A muestra la trayectoria hasta el primer ataque de ambos peces. En rojo se observa el pez chico y en verde el pez grande. Las líneas punteadas negras se utilizan como referencias del posible momento en donde los peces percibirían otro objeto, usando el sistema de electrolocación activa, según los umbrales determinados por Pereira et al [2]. La Figura 13B muestra una serie de

A

14.5 17 cm

25 cm 26.8 cm

19.2 21 cm

B

Imagen eléctrica medida como RMS

instantes

0 18

0 40

0 25

Cabeza Cola

Cabeza Cola

Cabeza Cola

Figura 13. RMS de las imágenes activas calculadas en la fase de evaluación. (A) Esquema de la trayectoria. En rojo el pez chico y en verde el pez grande. Medidas de cada pez en la parte inferior. Las líneas punteadas negras indican el posible momento en donde los peces percibirían al otro activamente, según umbrales determinados experimentalmente utilizando objetos, por Pereira et al [2]. (B) Perfiles de la imagen eléctrica medida como el RMS de la corriente transcutánea para dos peces a distintos instantes.

Figura 13. RMS de las imágenes activas calculadas en la fase de evaluación. (A) Esquema de la trayectoria. En rojo el pez chico y en verde el pez grande. Medidas de cada pez en la parte inferior. Las líneas punteadas negras indican el posible momento en donde los peces percibirían al otro activamente, según umbrales determinados experimentalmente utilizando objetos, por Pereira et al [2]. (B) Perfiles de la imagen eléctrica medida como el RMS de la corriente transcutánea para dos peces a distintos instantes.

Perfiles de las imágenes eléctricas pasivas.

El valor de la imagen eléctrica pasiva en cada punto de la piel del pez, se estimo con el RMS al igual que para las imágenes electricas activas (ver Recuadro 2.1). La figura 14 sigue el mismo esquema que la figura 13, mostrando los perfiles de la imagen eléctrica pasiva para ambos peces. En este caso la imagen es la corriente que pasa a través del pez producto de la DOE del congénere. En una situación similar a la anterior, el pez chico sería capaz de detectar la presencia del pez grande antes. A modo de comparacion se colocaron los valores estimados en donde el sentido pasivo se volveria funcional (línea punteada negra, umbrales determinados según Aguilera et al [1]).

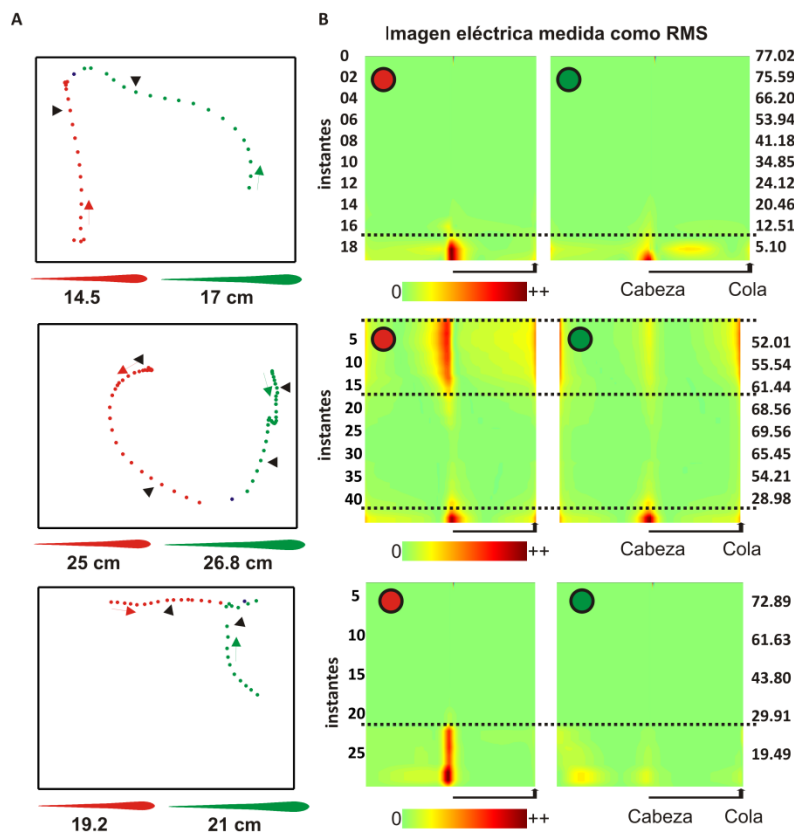


Figura 14. RMS de las imágenes pasivas calculadas en la fase de evaluación. (A) Esquema de la trayectoria. En rojo el pez chico y en verde el pez grande. Medidas de cada pez en la parte inferior. Las líneas punteadas negras indican el posible momento en donde los peces percibirían al otro, según umbrales determinados por Aguilera et. al. [1](B) Perfiles de la imagen eléctrica medida como el RMS de la corriente transcutánea para dos peces a distintos instantes.

RECUADRO 2.1: Imagen activa y pasiva en díadas de *G. omarorum*

La Figura R1, muestra el patrón tanto de las imágenes activas, como de las imágenes pasivas para dos peces en diferentes posiciones relativas. Se seleccionó en este caso las posiciones paralelas y antiparalelas, dado que las mismas son comunes en *G. omarorum* durante los comportamientos agonísticos. En esta figura se graficó la imagen eléctrica para cada punto de la piel definida por el RMS, es decir, la raíz cuadrada de la integral de los cuadrados de la imagen para todos los instantes de la DOE, en función de la posición de los puntos sobre una línea longitudinal sobre la piel del pez. Este procedimiento permite generar un solo gráfico para cada DOE, simplificando ampliamente la interpretación de los datos. En el caso de la imagen activa en la posición antiparalela y paralela (Fig. R1 arriba) la amplitud de la imagen es máxima cerca de la cabeza del otro pez, lo cual es previsible, dado que es la zona del pez de mayor tamaño y de menor resistencia, generando el efecto de canalización [1,42]. En el caso

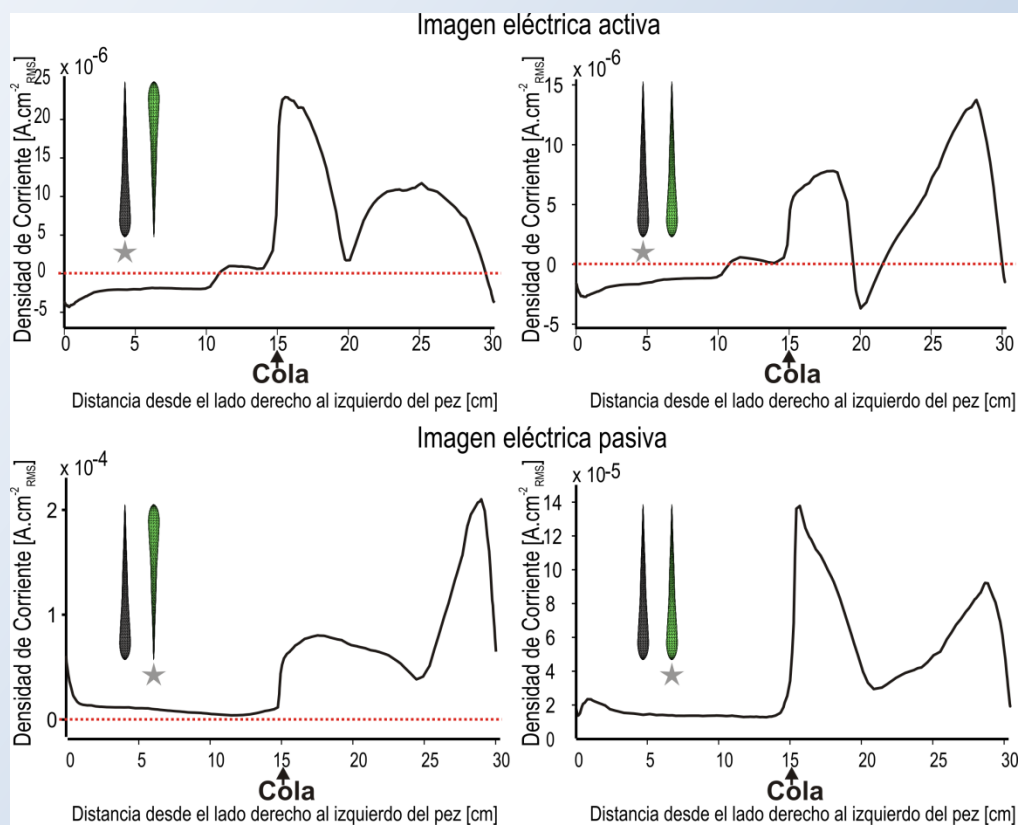


Figura R1. Imagen activa y pasiva de dos peces en diferentes posiciones relativas. Densidad de corriente transcutánea a lo largo de un corte longitudinal de la piel del pez medido con el RMS. Paneles superiores. Izquierda: Imagen eléctrica activa cuando los peces están en posición antiparalela. Derecha: Imagen eléctrica activa cuando los peces están en posición paralela. Paneles inferiores. Izquierda: Imagen eléctrica pasiva cuando los peces están en posición antiparalela. Derecha: Imagen eléctrica pasiva cuando los peces están en posición paralela. El pez en color gris es el que descarga. La estrella indica el pez en donde se midió la corriente transcutánea.

de la posición paralela, también es la zona que presenta la menor distancia entre los peces. La amplitud de la imagen activa disminuye hacia la cola, presentando un segundo pico aunque de menor tamaño. En el caso de la imagen pasiva (Fig. R1 abajo) la mayor amplitud de la imagen se encuentra en la cabeza en la posición antiparalela, y es menor en esa zona cuando se está en posición paralela. Esto podría significar que el pez que recibe pasivamente la señal de un congénere efectivamente dispondría de suficiente información acerca de posición relativa del cuerpo del otro y elegir hacia dónde dirigirse.

Un punto importante y muy discutido es la capacidad de estos peces diferenciar tamaños de objetos utilizando la electrolocación [1,2,62,92,93].

La Figura R2 muestra la secuencia de imágenes eléctricas producidas cuando se acercan dos peces enfrentados y partiendo de distintas distancias relativas. Notar que se utilizaron peces con una diferencia del largo de 25% (16 cm y 20 cm), para maximizar el efecto de las diferencias de tamaño en los resultados. En relación a la electrorecepción activa (Figura R2A, paneles superiores), a igual distancia, el pez más chico (pez indicado con

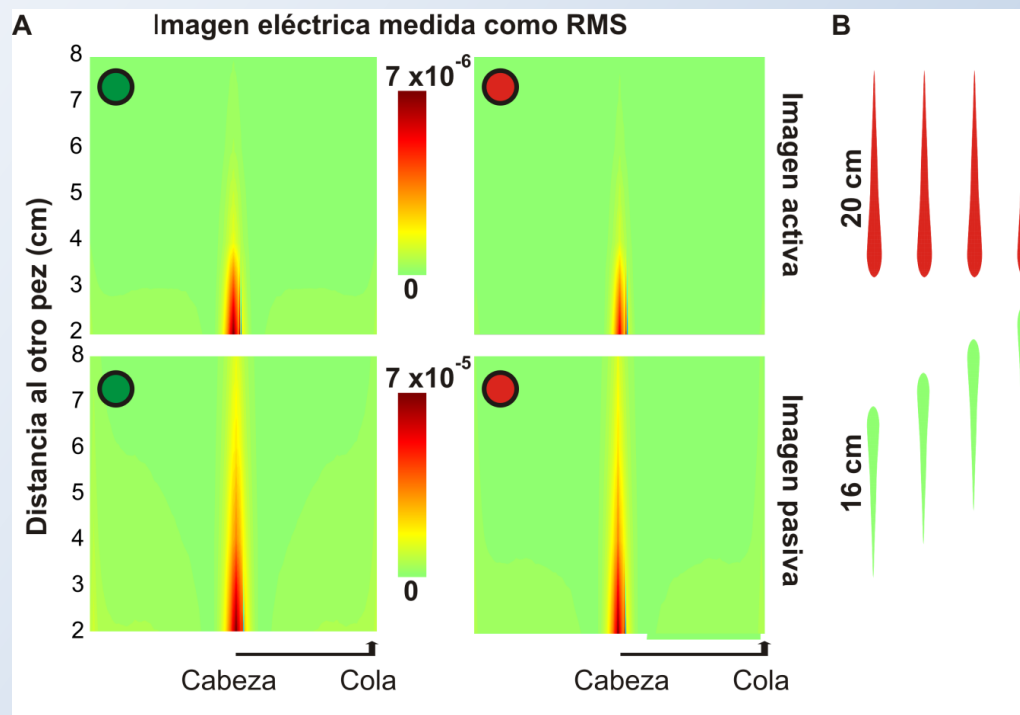
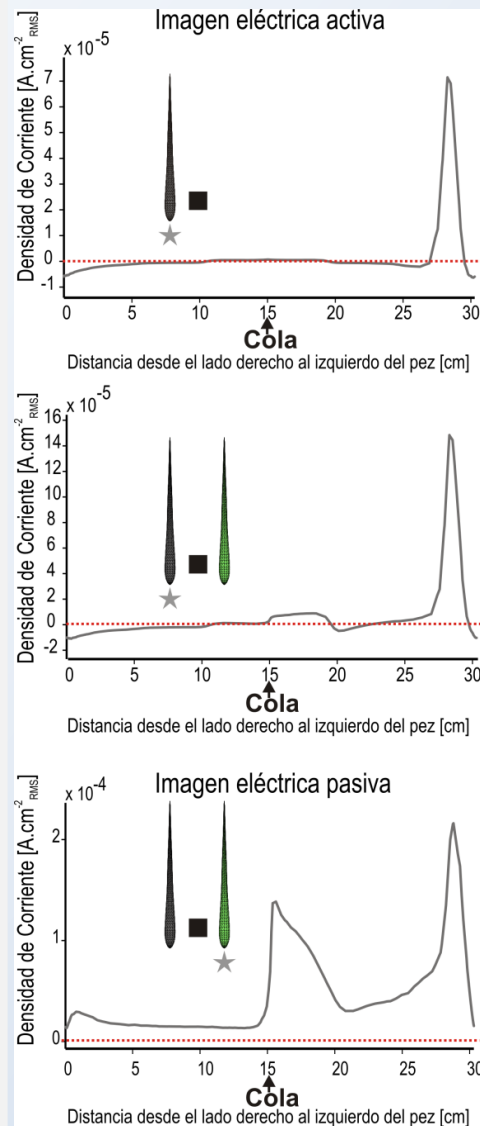


Figura R2. Imagen eléctrica calculada en la trayectoria de un acercamiento frontal entre dos *G. omarrum*. (A) Imagen eléctrica activa (paneles superiores) y pasiva (paneles inferiores) medida con el RMS para dos peces a distintas distancias. (B) Esquema de las escenas calculadas.

círculo verde), presenta valores mayores de la imagen eléctrica del pez grande, que este ultimo del chico (indicado con círculo rojo). Esto implica que un pez de mayor tamaño será percibido con una intensidad más grande. O sea que el pez chico tendría imágenes del pez grande a distancias mayores que le pez grande del chico. Del mismo modo si se observa la imagen pasiva, (Figura R2A paneles inferiores) el pez más chico presenta una imagen

eléctrica cuya intensidad es superior a la del pez grande, ya que la DOE del pez grande debe tener un alcance mayor dado que el voltaje de los polos es igual que el de los peces pequeños y están más separados. Las diferencias de los valores de amplitud de la corriente transcutánea son hasta diez veces mayores en la electrorecepción pasiva. Para visualizar cómo fueron modeladas las escenas, en la Figura R2B se presenta el esquema del acercamiento entre ambos peces.

Objetos interpuestos: Imagen eléctrica pasiva de un cubo metálico



El uso de ambas submodalidades, electrolocalización activa y pasiva, podrían complementarse dando importantes pistas sobre la percepción del mundo en los peces. Un ejemplo podría ser la localización de otros objetos usando la descarga de un congénere además de la propia. La Figura R3 (arriba) muestra la imagen eléctrica activa calculada como el RMS de un cubo de 2cm de lado, a una distancia de 2cm de la piel del pez. Como se puede observar la imagen muestra el típico sombrero mexicano en la zona de proyección del objeto. En contraste si a esta escena se le suma otro objeto, como por ejemplo un pez, que se coloca de forma paralela al otro pez y a 6 cm del mismo (Figura R3, medio), la imagen eléctrica del cubo aumenta más del 100% en la zona enfrentada al cuerpo del pez (comparar con Figura R3, arriba) y un cambio menor en el resto de la imagen. Cuando las imágenes del mismo objeto son generadas usando la DOE del conspecífico como energía portadora (Figura R3, abajo), se puede observar que la imagen eléctrica, aumenta en amplitud en relación a las anteriores. Además aparece otro pico, que puede estar ligado a la DOE del otro pez y que pasa a través del pez que se está observando.

Figura R3. Imagen activa y pasiva de objetos interpuestos. Densidad de corriente transcutánea a lo largo de un corte longitudinal de la piel del pez medido con el RMS. Panel superior: Imagen activa de un cubo a 2 cm al costado del pez. Panel medio: Misma escena que en el panel superior, con el agregado de otro pez que está a 2 cm del objeto y a 6 cm del primer pez. Panel inferior. Imagen generada por la DOE del conespecífico. El pez en color gris es el que descarga. La estrella indica el pez en donde se midió la corriente transcutánea.

4.4 Discusión

Las decisiones se guían no sólo por las expectativas de los beneficios que se derivarán, sino también por las expectativas acerca de los costos. El comportamiento agonístico relacionado con la defensa del territorio es probable que sea costoso en términos de pérdida de energía y de riesgo de lesiones. La importancia de saber la capacidad de lucha del potencial oponente, podría influir en la decisión de proceder o no hacia la fase de contienda, en donde la agresión es en la especie *G. omarorum* necesaria. El uso de la electrorrecepción sería un factor importante para determinar la capacidad de lucha del contrincante. Igualmente, la electrolocalización pasiva serviría para localizar a otro pez.

4.4.1 Ventajas y desventajas en el uso de modelos informáticos

En este capítulo se incluyó, lo que se puede considerar como una introducción al estudio de la imagen pasiva, producto de la descarga de un conoespecífico, con modelos informáticos. En este caso se utilizó una rutina desarrollada en MatLab para analizar la dinámica del encuentro agonístico con gran detalle: las trayectorias (posición, velocidad, aceleración) y las imágenes eléctricas pasivas y activas, en diadas de la especie *G. omarorum*. Cabe destacar que se pueden variar diversos parámetros de los sólidos y las fuentes para modelar a gusto diversas escenas que involucren tanto electrolocación activa como pasiva. Dado que los diferentes tipos receptoriales que son activados en las submodalidades tratadas en este capítulo difieren en su patrón de activación, y en el tipo de respuesta que producen, este trabajo se centró en determinar las imágenes físicas que constituyen el estímulo específico de los mismos. Evidentemente, cálculos posteriores en donde se tomen en cuenta variables más complejas como la distribución de los receptores y el umbral para su activación entre otras, podrían arrojar más pistas del intrincado mundo eléctrico. Hay que resaltar además, que las simulaciones con uno o varios objetos que simulen por ejemplo, una pecera incluyendo la interfaz agua-aire requieren de una carga informática importante y aún no está bien implementado, aunque se trata de un factor importante que altera la imagen eléctrica y por ende la percepción del mundo circundante. Sin embargo esto, no quita trascendencia ni importancia a los trabajos realizados previamente, así como a esta tesis, ya que resultados no reportados muestran que estas interfaces no generan diferencias cualitativas. En estudios previos en *G. petersii* utilizando un solo pez [33,94], se caracterizaba por modelar en cada posición dada, la geometría del pez "de novo" (*G. petersii*, en este caso), incluyendo la curvatura que el pez mostrara sobre su propio eje. Sin embargo, para esta tesis no se tomó en cuenta la curvatura del cuerpo del pez,

ya que los *G. omarorum* mantienen, en general, una posición, casi rectilínea o con una curvatura mínima.

4.4.2 Relación entre territorio y despliegues agresivos

Como se pudo observar en esta tesis, el tamaño de la arena modifica la dinámica de los encuentros agonísticos. Las tasas de ataque de los dominantes, tanto en la contienda como en la fase post-resolución son significativamente más bajas en la arena grande. La duración del conflicto y del primer ataque tienden a ser diferentes aunque no significativamente. La realización de más experimentos con el fin de aumentar el número de diadas podría aumentar la significación de las tendencias halladas. Además, la señal de sumisión "chirp" está ausente en la arena grande, mientras que no hay diferencias significativas en la producción de apagados entre los dos tamaños de arena. Tampoco hay diferencias en la tasa de ataque de los subordinados. El cambio más significativo es la reducción de los ataques en la arena grande, producto quizás, de una disminución de la motivación. Que los peces subordinados no presenten "chirps" en la pecera de mayor tamaño, sugiere que esta señal podría ser utilizada como último recurso, comunicando la sumisión cuando los peces no pueden huir o permanecer a gran distancia del dominante, dato interesante desde el punto de vista de la contienda agonística por el territorio. Un territorio amplio podría generar enfrentamientos menos agresivos dado que el pez ganador ocuparía cierta porción y el pez perdedor se vería relegado a otra zona, posiblemente sin la constante presión ejercida por el dominante. Es de esperar que en su ambiente natural el pez subordinado se retire del territorio, impidiendo que el otro pez pueda detectarlo usando el sistema electrosensorial activo. A esto se suma que también deje de descargar, lo que puede explicarse como una forma extrema de evitar ser detectado, y que conlleva una gran desventaja dado que el pez estaría momentáneamente "ciego".

4.4.3 El mundo electrosensorial y los comportamientos complejos

Al comienzo del encuentro agonístico, la distancia entre los contendientes es lo suficientemente grande como para suponer que las señales sensoriales utilizadas para detectar la presencia de otros peces son: a) el sistema de la línea lateral o b) el sistema electrolocativo, más probablemente electrorrecepción pasiva. Las trayectorias de aproximación no siguen una línea recta lo que sugiere que los peces usan las líneas del campo eléctrico, como directrices [95]. Al comparar las imágenes eléctricas activa y pasiva para ambos peces, en los distintos instantes, los resultados indican que al comienzo del encuentro la información analizada mediante electrolocalización activa es insuficiente para detectar la presencia de otros peces. Sin embargo, este sentido activo gana importancia a corta distancia y puede ayudar a un

pez a determinar la posición exacta de otros peces. Por otro lado, la electrorrecepción pasiva es adecuada para detectar la ubicación de otros peces que están descargando incluso a una distancia mayor. Sin embargo y aunque esta submodalidad tiene un mayor alcance que la submodalidad activa, a distancias mayores tampoco brindaría suficiente información. Por supuesto, ésta no sería la única herramienta que utiliza el pez. Los órganos mecanosensoriales superficiales (neuromastos) que están en la línea lateral, detectan vibraciones de baja frecuencia (~ 50 a 200 Hz) en el medio ambiente circundante [96]. El sistema mecanosensorial media la captura de presas y la evitación de predadores, entre otros. Esta modalidad (aunque su rango no está determinado en *G. omarrorum*) podría estar actuando a distancias mayores, mientras que a distancias intermedias, la electrolocalización pasiva se tornaría importante. Debido a que la electrorrecepción pasiva se basa en la detección de fuentes de campo primario generado por un agente externo, la atenuación de la señal con la distancia es mucho menor que con la electrolocalización activa, donde se produce una atenuación con la distancia en ambas direcciones, ya que el campo debe difundir desde el pez generador al objeto dado y desde ese objeto al pez. De esta manera la electrolocalización activa solo serviría para sensar a distancias muy cortas, como un sistema háptico [60,63]. Esto estaría en concordancia con la existencia de una "burbuja de electrolocalización" en donde cada submodalidad funcionaría en un rango dado [2,60,63]. En todo caso, la pregunta fundamental sería: ¿es suficiente la información proveniente de estos sistemas para conocer el tamaño de un contendiente de la misma especie que intenta acceder al mismo territorio?

En ambos escenarios (arena grande o chica), cual pez ataca primero no está correlacionado con la diferencia de peso, siendo cualquiera de ellos, el pez grande o el chico, el que realiza esta primera acción, lo que marca el punto de partida de la fase de contienda. Es interesante dado que la diferencia de peso presenta se correlaciona directamente con cual es el ganador siendo que en el 80% de las contiendas, gana el pez grande. Cuando se considera la latencia al primer ataque en la pecera chica para dos grupos de diadas en donde las diferencias de peso fueron de 0 a 5% y de 20 a 40% (datos cedidos por la UBNC), se observó que a diferencias de peso mas chicas, la latencia al primer ataque tiende a ser menor que a diferencias de pesos mayores (35.8 ± 16.58 s y 58.4 ± 17.58 s respectivamente). Esta aproximación sugiere que si los peces pueden adquirir información acerca de la capacidad de lucha de su oponente, peces de tamaños semejantes tendrían que desplegar agresión física, en cambio peces con una gran diferencia de peso podrían evitar tal despliegue conductual. En conjunto estos resultados permiten al menos tres posibles explicaciones: a) que no se está realizando la evaluación pre-contienda, ni siquiera a corta distancia, cuando la electrolocalización activa es completamente funcional, b) que

esta especie es sumamente agresiva, no importándole el tamaño del contrincante en relación al suyo propio para atacar, o c) que aunque se da la evaluación y cada uno sabe la relación entre su peso y el del contrincante, el ataque se vuelva inevitable debido a que la distancia que los separa es muy corta aun en las condiciones de la arena grande. Discernir entre estas posibilidades es complejo. Los resultados obtenidos reflejan que hay diferencias entre las imágenes eléctricas pasivas a distancias intermedias. Sin embargo esta submodalidad sensorial no es muy apta para reconocer objetos a distancia, aunque sirve para orientar el nado a lo largo de las líneas de campo [95]. A distancias muy cortas (menores a 5 cm), el sentido eléctrico activo gana jerarquía y las imágenes son diferentes en ambos peces. Sin embargo la distancia a la cual este sentido es capaz de informar acerca del tamaño del otro pez y por consiguiente de su capacidad de lucha, es tan cercana que, sumándole el nivel de agresividad que despliega esta especie, harían que la evaluación previa sea inútil.

Conclusiones generales

El trabajo realizado en esta tesis, utilizando un abordaje informático para estudiar la electrorrecepción, pretendió dar una descripción general de las imágenes en una variedad de especies. La comprensión de cómo el OE interactúa con el cuerpo del pez, el medio y otros objetos, para generar el campo eléctrico, es un conocimiento básico importante para la comprensión de la electrorrecepción. Enmarcado en este principio, el trabajo aquí presentado abordó un punto importante: el modelado de los peces como objeto y como fuente de energía portadoras de señales electrosensoriales y el modelado de imágenes eléctricas, de especies que difieren en morfología y en organización estructural y funcional del sistema electromotor, mediante el uso del BEM. Se ha buscado, de esta forma, establecer cómo la complejidad de la DOE determina las características del campo eléctrico y cómo el campo basal determina las características de las imágenes eléctricas. De esta forma se puede confirmar que en los Gymnotiformes y Mormyriiformes, grupos que han evolucionado de manera convergente la electrorrecepción activa y la electrocomunicación, el campo basal en la región rostral es "colimado" todo a lo largo del curso temporal de la DOE, o sea el campo generado presenta en esa región, igual dirección, pudiendo variar en amplitud y también es coherente, presentando un campo con igual dirección y forma de onda en la región perioral en la mayoría de las especies estudiadas. Estas similitudes pueden tener como consecuencia la simplicidad en la codificación de las imágenes eléctricas. Esto, además de la expresión de múltiples tipos de electroreceptores que codifican de manera diferente el curso temporal de la señal de estímulo que presentan una mayor densidad, aumentaría la capacidad del canal electrosensorial aferente [42]. Las principales diferencias entre los peces eléctricos africanos y americanos se derivan de la extensión y la complejidad de sus OEs. Esto podría abrir la posibilidad de que los peces americanos puedan detectar y estimar la localización del objeto (además de por el perfil de la imagen) a través del análisis de la forma de onda. La simplicidad ofrece a los Mormyridos africanos un alcance de comunicación de largo rango, mientras que OEs más complejos pueden proporcionar a los peces americanos con la posibilidad de emitir señales específicas de sitio para ser detectados en el corto rango y la posibilidad de desarrollar estrategias para evitar predadores.

Se realizó un abordaje novedoso en el estudio del comportamiento agonístico de la especie *G. omarorum*. Se realizaron registros en peceras de distintos tamaños observándose importantes

diferencias en las características de la contienda. El tamaño de la pecera es un factor clave que modula la agresividad desplegada por los integrantes de la diada.

También se estudio la características de la información que los peces obtienen utilizando la electrorecepción y que pueden brindarles pistas acerca del otro pez. La capacidad de evaluar y tomar del otro los datos necesarios para decidir entre una u otra acción es un tema de investigación importante en Neurociencias, cuya interpretación se basa en la teoría de juegos y de toma de decisión inicialmente concebidas para temáticas muy alejadas [97,98]. Para esto, se aplicó la herramienta informática previamente presentada. Se modelaron las imágenes eléctricas de ambos peces, preguntándose si estos tienen la capacidad de evaluar la capacidad de lucha de su adversario. Este abordaje mostro que efectivamente hay diferencias en las imágenes eléctricas de ambos peces enmarcado en contexto agonístico. Sin embargo la utilización o no de esa información dependiente de la distancia y de la posición de ambos peces, sigue siendo una interrogante.

Contribuciones

6.1.1 Artículos aceptados y en preparación

1- En el capítulo 1 se comparó el campo eléctrico generado por dos Gymnotiformes de pulsos y uno de onda, cuyas DOEs tienen diferentes grado de complejidad, con los peces previamente estudiados *G. petersii* y *G. omarorum*. Este capítulo generó un manuscrito aceptado en PloS Computational Biology.

Electric imaging across evolution, a modeling study of commonalities and differences.

Federico Pedraja, Pedro Aguilera, Angel A. Caputi y Ruben Budelli

2- En el capítulo 2 se aplicó el modelo informático para evaluar la conducta agonística de la especie *G. omarorum*.

Resultados de este capítulo y del capítulo 1 componen una propuesta de artículo de revisión enviada a los editores del número especial del Journal of Physiology - Paris que se publicará con motivo de la reunión científica “Neuroetología y Neurobiología de la Memoria en el cono sur” Un homenaje a Héctor Maldonado, Córdoba, 2013.

Computational modeling of electric imaging in weakly electric fish: insights for physiology behavior and evolution.

Leonel Gómez-Sena, **Federico Pedraja***, Juan I. Sanguinetti-Sheck* y Ruben Budelli

Perspectivas

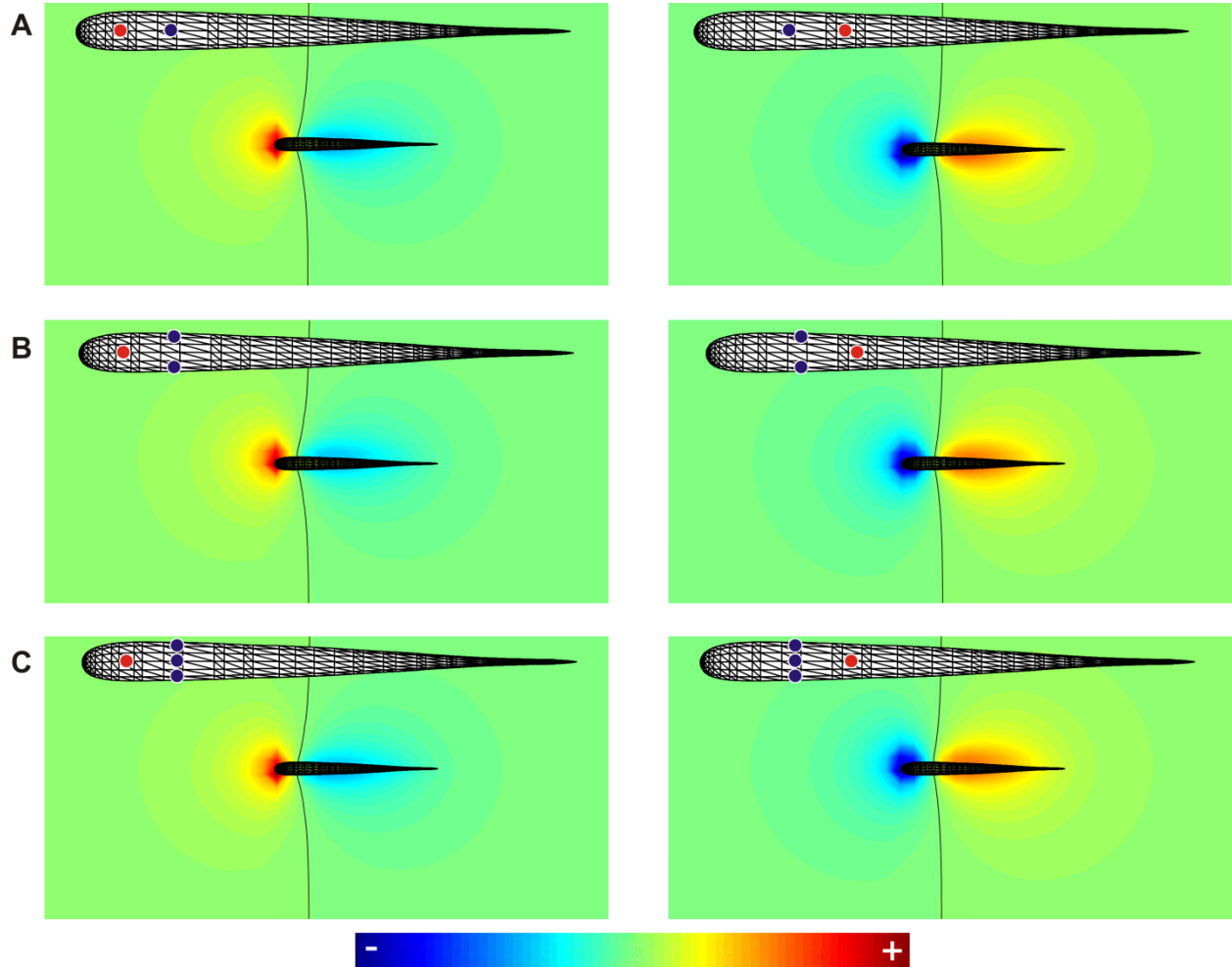
La investigación realizada hasta ahora, usando modelos en electrorrecepción, está cerca de dar una descripción general de las imágenes en una variedad de especies. La comprensión de cómo el OE interactúa con el cuerpo del pez, el medio y otros objetos, para generar el campo eléctrico, es un conocimiento básico importante para la comprensión de la electrorrecepción activa y pasiva. Sin embargo, ya que ambas están codificadas por diferentes electrorreceptores y son procesadas por diferentes vías neurales, las leyes para la extracción de los parámetros de las imágenes pueden ser muy diferentes, sobre todo teniendo en cuenta que las fibras aferentes primarias de la electrorrecepción activa codifican la imagen utilizando un código de latencia y las de la electrorrecepción pasiva utilizan un código de frecuencia.

Utilizando los métodos revisados aquí se puede tratar de entender el papel de la electrorrecepción activa y pasiva en diferentes situaciones: contiendas agonísticas, exhibición en el cortejo, la exploración de objetos y la determinación de diferentes parámetros perceptuales. Sin embargo varias de estas situaciones han sido muy estudiadas solo en la electrorrecepción activa. Para lograr resultados similares con la electrorrecepción pasiva sería necesario estudiar más a fondo la generación de imágenes en esta submodalidad sensorial, en otras palabras, es necesario ampliar el conocimiento sobre los fundamentos de la generación de imágenes con esta submodalidad.

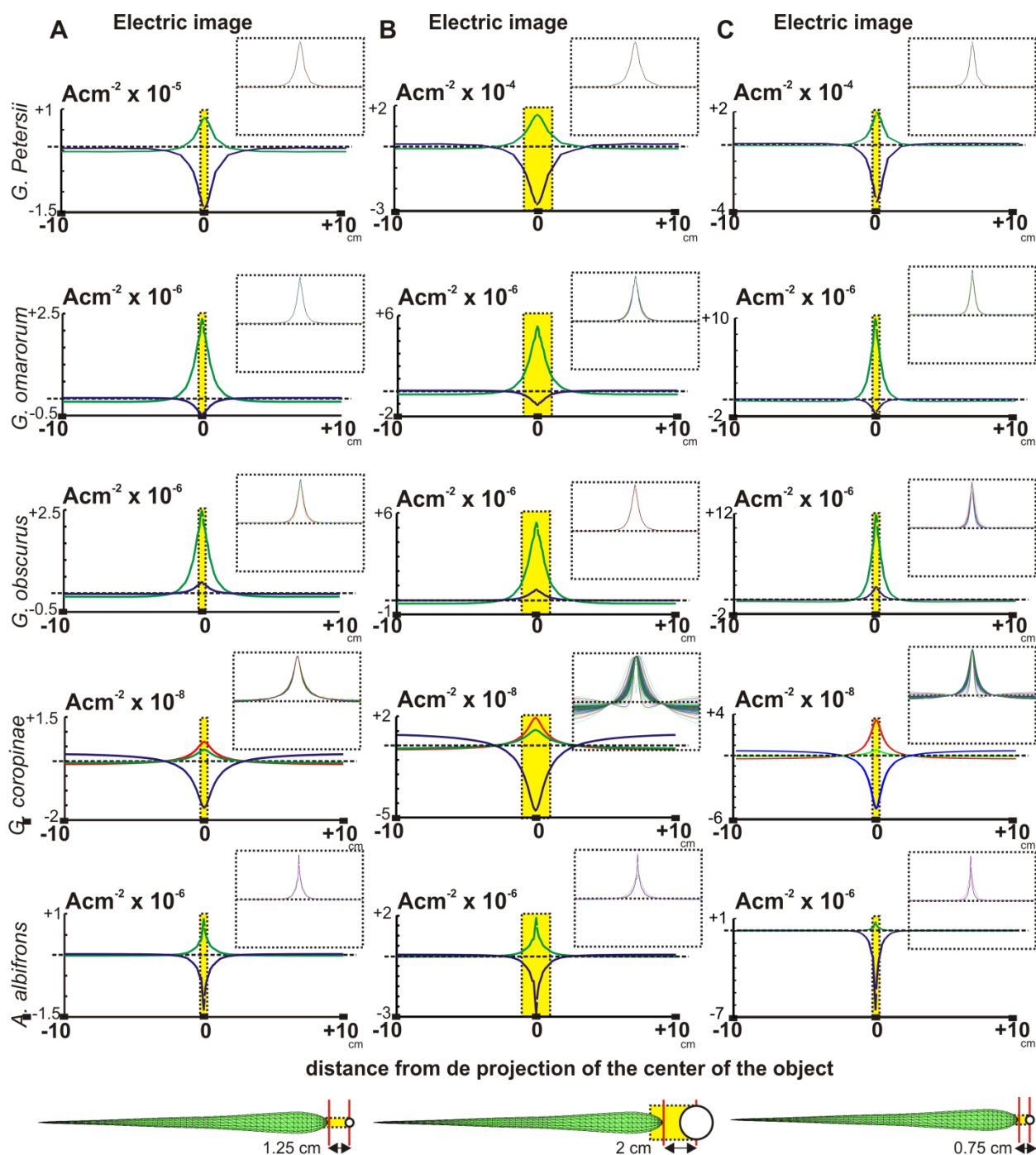
Para ahondar más en la comprensión relacionado con complejidad del sistema, es necesario integrar los estudios físicos o electrofisiológicos y de comportamiento: sólo a través del complemento de estas técnicas sería posible avanzar en la resolución de este tipo de problemas .

Por último, el desarrollo de diferentes estudios sobre la electrorrecepción activa es una entrada importante para el diseño de robots que utilizando la electrorrecepción activa, pueden explorar un ambiente turbio bajo el agua. Constituyendo un claro ejemplo del desarrollo de sistemas artificiales inspirados en modelos biológicos (ingeniería reversa). Para ello es importante complementar el profundo conocimiento que los biólogos tienen sobre la electrorrecepción con la experiencia en el desarrollo de herramientas de análisis, los diseños mecánicos y dispositivos de control que los ingenieros y los físicos tratan.

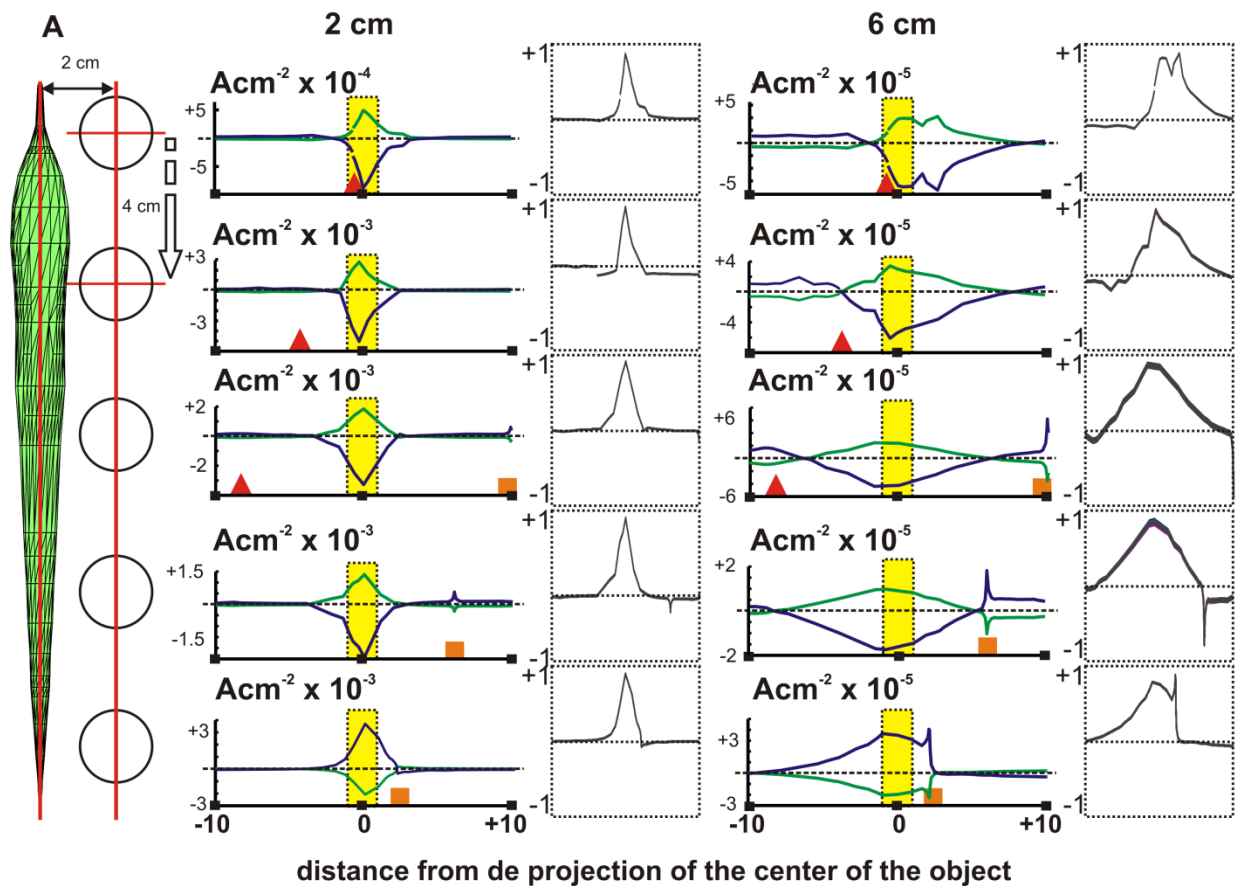
Material suplementario



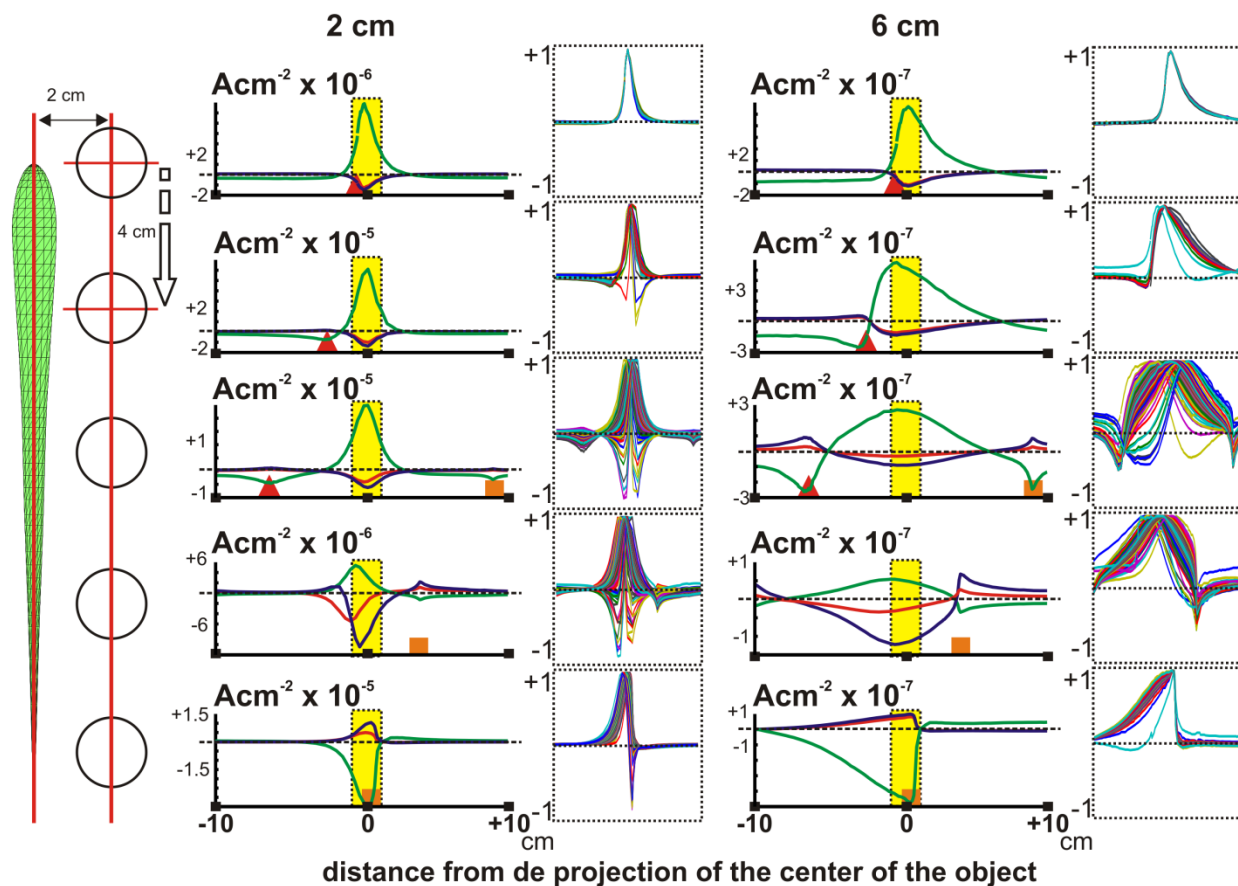
Material Suplementario 1. Comparación de los diferentes modelos de OEs en *G. coropinae*. Los mapas de colores muestran los potenciales externos calculados usando un solo dipolo (A), dos dipolos simétricos (B) y tres dipolos simétricos (C).



Material Suplementario 2. Perfiles de imagen para esferas de diferentes tamaños enfrentas a la fovea. Perfiles de la imagen para todas las especies cuando una esfera pequeña (A) y una grande (B) se enfrentan a la fovea a la misma distancia y cuando la pequeña esfera se coloca a una distancia más corta (C). El gráfico muestra el perfil de los principales componentes de la DOE. El área amarilla indica la proyección del objeto sobre la piel. El recuadro muestra los perfiles para toda la DOE, normalizados por el máximo absoluto de cada pico. Código de colores de las trazas: *G. petersii*: pico negativo (verde), pico positivo (azul); *G. amarorum*: primer pico negativo (rojo), pico positivo (verde), último pico negativo (azul); *G. coropinae*: primer pico negativo (rojo), pico positivo (verde), último pico negativo (azul), *G. obscurus*: pico positivo (verde), pico negativo (azul); *A. albifrons*: pico positivo (verde), pico negativo (azul).

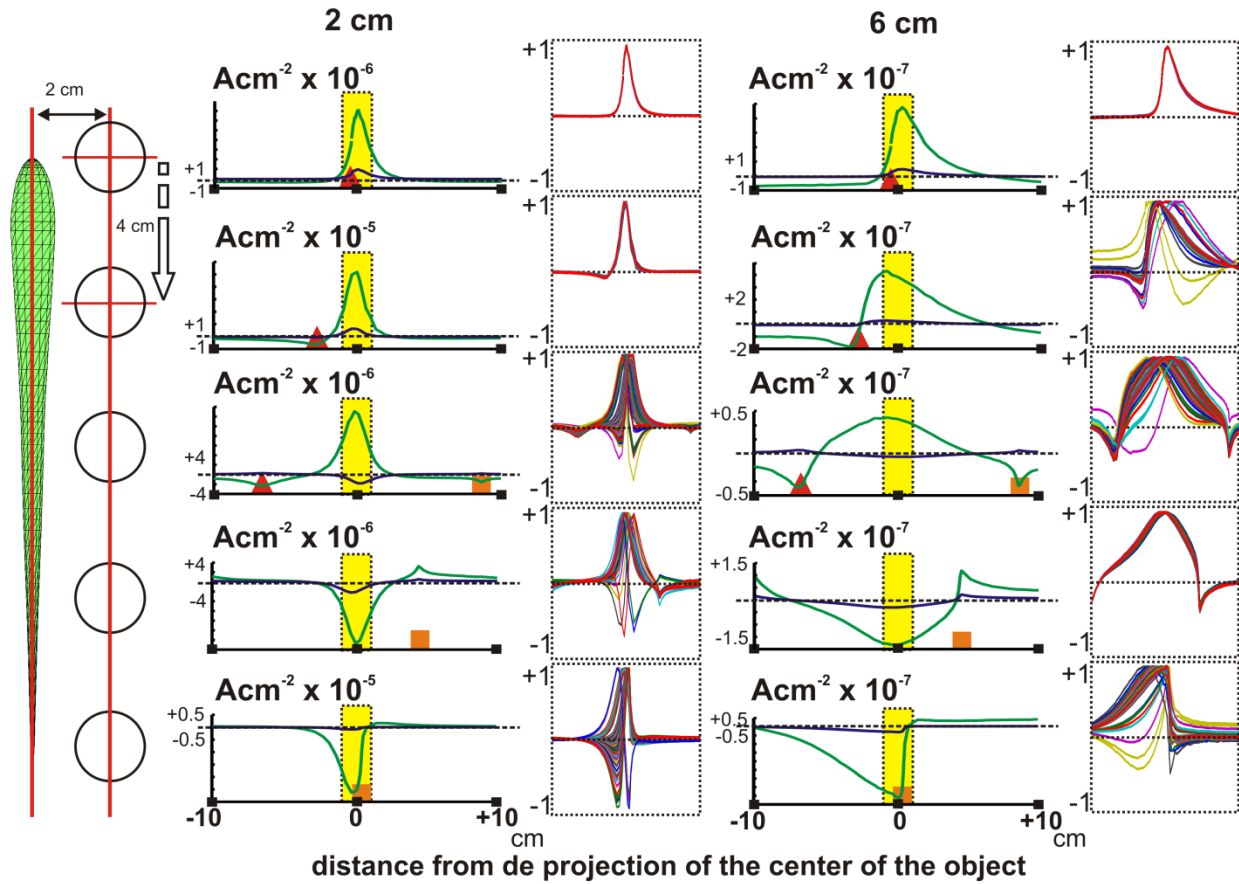


Material Suplementario 3. Imágenes de una esfera en 5 puntos laterales de *G. petersii*. (A) El esquema muestra la posición relativa de la esfera para cada fila, cuando la distancia al eje longitudinal es de 2 cm. Cada fila muestra los perfiles de imagen de una esfera a 2 y 6 cm de distancia desde el plano sagital y en una posición a lo largo del eje longitudinal. Los gráficos muestran los perfiles de los picos de las ondas de la DOEc-c, pico positivo (verde) y pico negativo (azul). El recuadro muestra la superposición de los perfiles normalizados (dividido por su valor máximo absoluto a lo largo de la DOE). Los triángulos y cuadrados indican la fovea y la punta de la cola respectivamente, el área amarilla indica la proyección de los objetos en la piel. (B) Representación esquemática de la localización de la sección de la piel en una vista lateral y vista desde arriba, de una esfera colocada cerca de la región rostral.



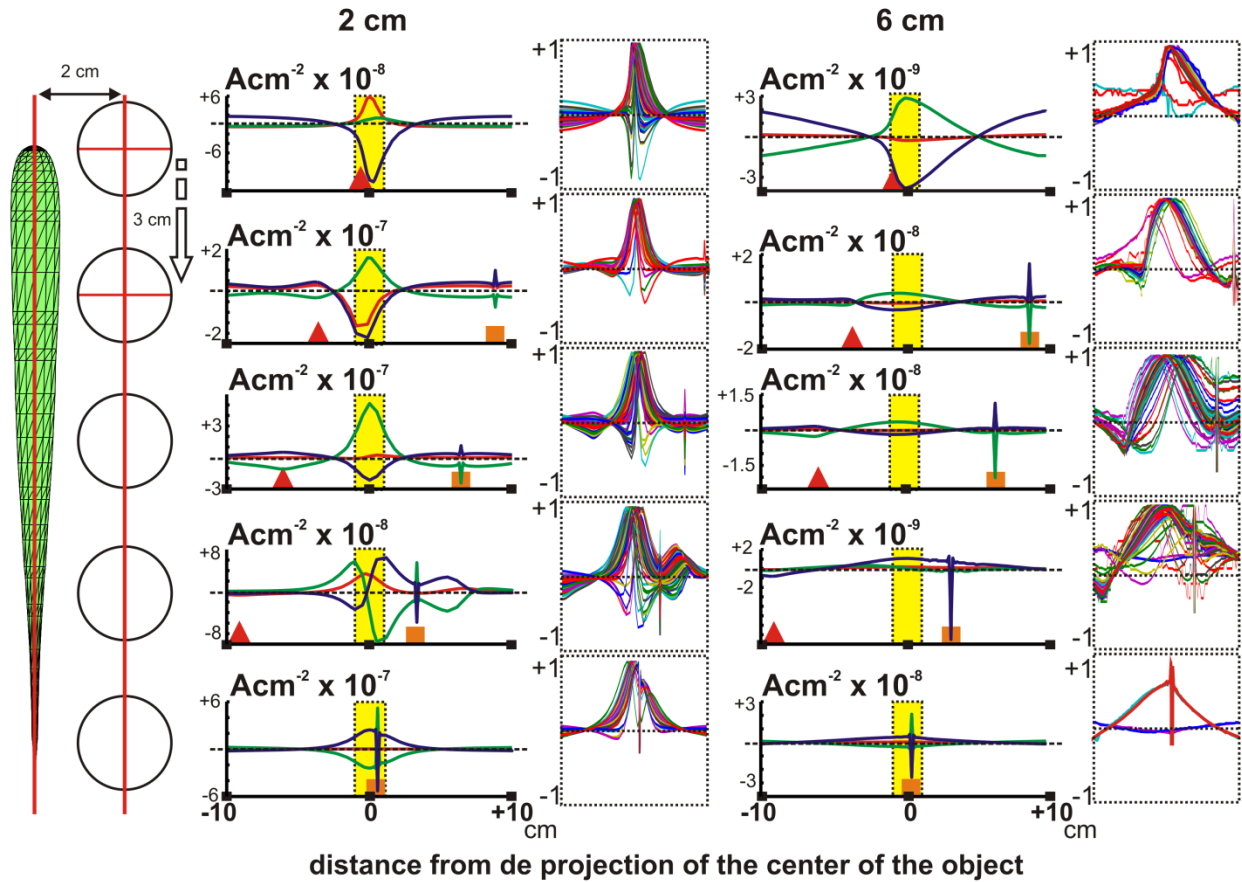
Material Suplementario 4. Imágenes de una esfera en 5 puntos laterales de *G. omarorum*.

Esquemas y perfiles como en Material Suplementario 3. Los gráficos muestran los perfiles de los picos de las ondas de la DOEc-c, primer pico negativo (rojo), pico positivo (verde), último pico negativo (azul). El recuadro muestra la superposición de los perfiles normalizados (dividido por su valor máximo absoluto a lo largo de la DOE). Los triángulos y cuadrados indican la fovea y la punta de la cola respectivamente, el área amarilla indica la proyección de los objetos en la piel.



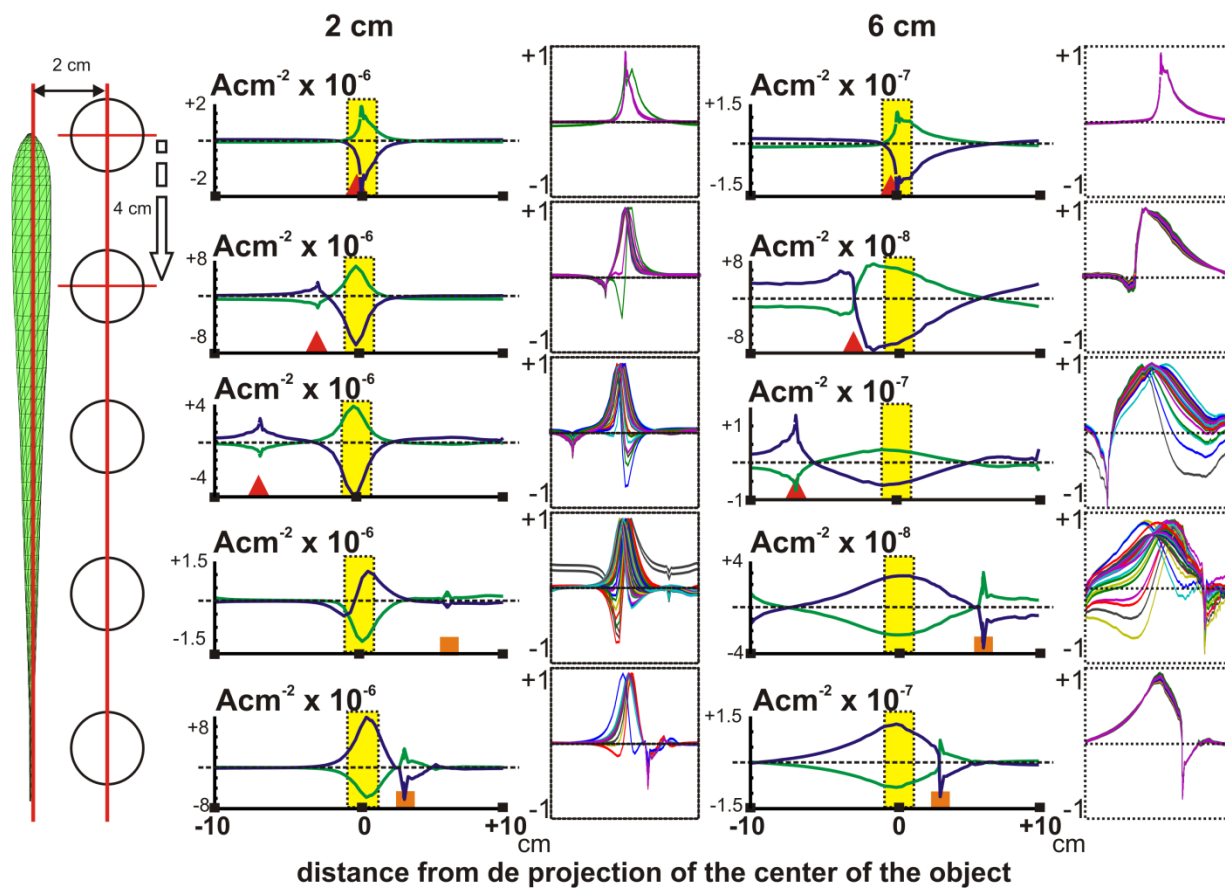
Material Suplementario 5. Imágenes de una esfera en 5 puntos laterales de *G. obscurus*.

Esquemas y perfiles como en Material Suplementario 3. Los gráficos muestran los perfiles de los picos de las ondas de la DOEc-c, pico positivo (verde), pico negativo (azul). El recuadro muestra la superposición de los perfiles normalizados (dividido por su valor máximo absoluto a lo largo de la DOE). Los triángulos y cuadrados indican la fovea y la punta de la cola respectivamente, el área amarilla indica la proyección de los objetos en la piel.



Material Suplementario 6. Imágenes de una esfera en 5 puntos laterales de *G. coropinae*.

Esquemas y perfiles como en Material Suplementario 3. Los gráficos muestran los perfiles de los picos de las ondas de la DOEc-c, primer pico negativo (rojo), pico positivo (verde), último pico negativo (azul). El recuadro muestra la superposición de los perfiles normalizados (dividido por su valor máximo absoluto a lo largo de la DOE). Los triángulos y cuadrados indican la fóvea y la punta de la cola respectivamente, el área amarilla indica la proyección de los objetos en la piel.



Material Suplementario 7. Imágenes de una esfera en 5 puntos laterales de *A. albifrons*.

Esquemas y perfiles como en Material Suplementario 3. Los gráficos muestran los perfiles de los picos de las ondas de la DOEc-c, pico positivo (verde), pico negativo (azul). El recuadro muestra la superposición de los perfiles normalizados (dividido por su valor máximo absoluto a lo largo de la DOE). Los triángulos y cuadrados indican la fóvea y la punta de la cola respectivamente, el área amarilla indica la proyección de los objetos en la piel.

Referencias

1. Aguilera PA, Castello ME, Caputi AA (2001) Electroreception in *Gymnotus carapo*: differences between self-generated and conspecific-generated signal carriers. *J Exp Biol* 204: 185-198.
2. Pereira AC, Aguilera P, Caputi AA (2012) The active electrosensory range of *Gymnotus omarorum*. *J Exp Biol* 215: 3266-3280.
3. Kalmijn AJ (1974) The detection of electric fields from inanimate and animate sources other than electric organs. *Electroreceptors and Other Specialized Receptors in Lower Vertebrates*: Springer. pp. 147-200.
4. Lissman HW (1951) Continuous electrical signals from the tail of a fish, *Gymnarchus niloticus*. *Cuv Nature* 167: 201-202.
5. Lissmann HW (1958) On the function and evolution of electric organs in fish. *J Exp Biol* 35: 156-191.
6. Lissmann HW, Machin KE (1958) The mechanisms of object location in *Gymnarchus Niloticus* and similar fish. *J Exp Biol* 35: 457-486.
7. Migliaro A (2006) Generación de la imagen eléctrica en peces eléctricos de descarga debil [Maestria]. Montevideo: UdelaR.
8. Migliaro A, Caputi AA, Budelli R (2005) Theoretical analysis of pre-receptor image conditioning in weakly electric fish. *PLoS Comput Biol* 1: 123-131.
9. Rother D, Migliaro A, Canetti R, Gomez L, Caputi A, et al. (2003) Electric images of two low resistance objects in weakly electric fish. *Biosystems* 71: 169-177.
10. Sanguinetti-Scheck JI, Pedraja EF, Cilleruelo E, Migliaro A, Aguilera P, et al. (2011) Fish geometry and electric organ discharge determine functional organization of the electrosensory epithelium. *PLoS One* 6: e27470.
11. Richer-de-Forges M. M., Crampton W. G. R., S. AJ (2009) A new species of *Gymnotus* (Gymnotiformes, Gymnotidae) from Uruguay: Description of a model species in neurophysiological research. *Copeia* 3.
12. Batista G, Zubizarreta L, Perrone R, Silva A (2012) Non-sex-biased Dominance in a Sexually Monomorphic Electric Fish: Fight Structure and Submissive Electric Signalling. *Ethology* 118.
13. Marr D (1982) *Vision*. NY: Freeman.
14. von Holst E, Mittelstead H (1950) Das Reafferenzprinzip Wechselwirkungen zwischen Zentralnervensystem und Peripherie. *Naturwissenschaften* 37: 464-476.

15. Scheich H, Langner G, Tidemann C, Coles RB, Guppy A (1986) Electoreception and electrolocation in platypus. *Nature* 319: 401-402.
16. Greggers U, Koch G, Schmidt V, Durr A, Floriou-Servou A, et al. (2013) Reception and learning of electric fields in bees. *Proc Biol Sci* 280: 20130528.
17. Caputi AA (2004) Contributions of electric fish to the understanding of sensory processing by reafferent systems. *J Physiol Paris* 98: 81-97.
18. Bennett MV, Sandri C, Akert K (1989) Fine structure of the tuberous electoreceptor of the high-frequency electric fish, *Sternarchus albifrons* (gymnotiformes). *J Neurocytol* 18: 265-283.
19. Bennett M. Electoreceptors in mormyrids; 1965. Cold Spring Harbor Laboratory Press. pp. 245-262.
20. Hopkins CD (1988) Neuroethology of electric communication. *Annu Rev Neurosci* 11: 497-535.
21. Hopkins CD (1999) Design features for electric communication. *J Exp Biol* 202: 1217-1228.
22. Hopkins CD (1972) Sex differences in electric signaling in an electric fish. *Science* 176: 1035-1037.
23. Perrone R, Macadar O, Silva A (2009) Social electric signals in freely moving dyads of *Brachyhypopomus pinnicaudatus*. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 195: 501-514.
24. Budelli R, Caputi AA (2000) The electric image in weakly electric fish: perception of objects of complex impedance. *J Exp Biol* 203 Pt 3: 481-492.
25. Caputi AA, Budelli R (2006) Peripheral electrosensory imaging by weakly electric fish. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 192: 587-600.
26. von der Emde G, Schwarz S (2002) Imaging of objects through active electrolocation in *Gnathonemus petersii*. *J Physiol Paris* 96: 431-444.
27. Egelhaaf M, Boddeker N, Kern R, Kretzberg J, Lindemann JP, et al. (2003) Visually guided orientation in flies: case studies in computational neuroethology. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 189: 401-409.
28. Karmeier K, Krapp HG, Egelhaaf M (2003) Robustness of the tuning of fly visual interneurons to rotatory optic flow. *J Neurophysiol* 90: 1626-1634.
29. Caputi A, Budelli R, Grant K, Bell C (1998) The electric image in weakly electric fish: II. Physical images of resistive objects in *Gnathonemus petersii*. *J Exp Biol* 201: 2115-2128.
30. Budelli R, Caputi. AA (1999) The electric image in weakly electric fish. Physical images of capacitive objects in *Gnathonemus petersii*. *J Exp Biol*.
31. von der Emde G, Schwarz S, Gomez L, Budelli R, Grant K (1998) Electric fish measure distance in the dark. *Nature* 395: 890-894.

32. Budelli R, Caputi A, Gomez L, Rother D, Grant K (2002) The electric image in *Gnathonemus petersii*. *J Physiol Paris* 96: 421-429.
33. Hofmann V, Sanguinetti-Scheck JI, Gomez-Sena L, Engelmann J (2012) From static electric images to electric flow: Towards dynamic perceptual cues in active electroreception. *J Physiol Paris*.
34. Caputi A, Budelli R (1995) The electric image in weakly electric fish: I. A data-based model of waveform generation in *Gymnotus carapo*. *J Comput Neurosci* 2: 131-147.
35. MacIver MA, Sharabash NM, Nelson ME (1999) Prey-capture behavior in gymnotid electric fish: motion analysis and effects of water conductivity. *J Exp Biol* 204: 543-557.
36. Rasnow B, Bower JM. Imaging with electricity: How weakly electric fish might perceive objects.; 1997; New York. Plenum press, London.
37. Assad C, Rasnow B, Stoddard PK (1999) Electric organ discharges and electric images during electrolocation. *J Exp Biol* 202: 1185-1193.
38. Rasnow B (1996) The effects of simple objects on the electric field of *Apteronotus leptorhynchus*. *J Comp Physiol A* 178: 397-411.
39. Babineau D, Lewis JE, Longtin A (2007) Spatial acuity and prey detection in weakly electric fish. *PLoS Comput Biol* 3: e38.
40. Rother D (2003) Simulation of the Electric Image in Weakly Electric Fish. Montevideo: Universidad de la Republica
41. Castello ME, Caputi A, Trujillo-Cenoz O (1998) Structural and functional aspects of the fast electrosensory pathway in the electrosensory lateral line lobe of the pulse fish *Gymnotus carapo*. *J Comp Neurol* 401: 549-563.
42. Castello ME, Aguilera PA, Trujillo-Cenoz O, Caputi AA (2000) Electroreception in *Gymnotus carapo*: pre-receptor processing and the distribution of electroreceptor types. *J Exp Biol* 203 Pt 21: 3279-3287.
43. Crampton WGR, Albert JS (2006) Evolution of electric signal diversity in gymnotiform fishes. I. Phylogenetic systematics, ecology and biogeography. *Communication in Fishes*: 647-696 and 718-731.
44. Rodriguez-Cattaneo A, Aguilera P, Cilleruelo E, Crampton WG, Caputi AA (2013) Electric organ discharge diversity in the genus *Gymnotus*: anatomo-functional groups and electrogenic mechanisms. *J Exp Biol* 216: 1501-1515.

45. Castello ME, Rodriguez-Cattaneo A, Aguilera PA, Iribarne L, Pereira AC, et al. (2009) Waveform generation in the weakly electric fish *Gymnotus coropinae* (Hoedeman): the electric organ and the electric organ discharge. *J Exp Biol* 212: 1351-1364.
46. Rodriguez-Cattaneo A, Pereira AC, Aguilera PA, Crampton WG, Caputi AA (2008) Species-specific diversity of a fixed motor pattern: the electric organ discharge of *Gymnotus*. *PLoS One* 3: e2038.
47. Bacher M (1983) A new method for the simulation of electric fields, generated by electric fish, and their distortions by objects. *Biol Cybern* 47: 51-58.
48. Assad C (1997) Electric field maps and boundary element simulations of electrolocation in weakly electric fish. Pasadena, California: California Institute of Technology.
49. Hunter P, Pullan A (2002) FEM/BEM NOTES. lola.unimo.it/~fonda/DISPENSA_Tb_html/Programma/Prog_TB_4/Dipolo/fembemnotes.pdf.
50. Caputi A, Macadar O, Trujillo-Cenóz O (1989) Waveform generation in *Gymnotus carapo*. III. Analysis of the fish body as an electric source. *J Comp Physiol A* 165: 361–370.
51. Caputi A, Macadar O, Trujillo-Cenóz O (1989) Waveform generation of the electric organ discharge in *Gymnotus carapo*. *J Comp Physiol A* 165: 361-370.
52. Lorenzo D, Sierra F, Silva A, Macadar O (1990) Spinal mechanisms of electric organ discharge synchronization in *Gymnotus carapo*. *J Comp Physiol A* 167: 447-452.
53. Lorenzo D, Sierra F, Silva A, Macadar O (1993) Spatial distribution of the medullary command signal within the electric organ of *Gymnotus carapo*. *J Comp Physiol A* 173: 221-226.
54. Caputi A, Aguilera P (1996) A field potential analysis of the electromotor system in *Gymnotus carapo*. *J Comp Physiol A* 179: 827-835.
55. Hoshimiya N, Shogen K, Matsuo T, Chichibu S (1980) The *Apteronotus* EOD field: Waveform and EOD field simulation. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 135: 283-290.
56. Lovejoy NR, Lester K, Crampton WG, Marques FP, Albert JS (2010) Phylogeny, biogeography, and electric signal evolution of Neotropical knifefishes of the genus *Gymnotus* (Osteichthyes: Gymnotidae). *Mol Phylogenet Evol* 54: 278-290.
57. MacIver MA, Sharabash NM, Nelson ME (2001) Prey-capture behavior in gymnotid electric fish: motion analysis and effects of water conductivity. *Journal of experimental biology* 204: 543-557.
58. Toerring M-J, Moller P (1984) Locomotor and electric displays associated with electrolocation during exploratory behavior in mormyrid fish. *Behavioural brain research* 12: 291-306.

59. Toerring M, Belbenoit P (1979) Motor programmes and electroreception in mormyrid fish. *Behav Ecol Sociobiol* 4: 369-379.
60. Pereira AC, Caputi AA (2010) Imaging in electrosensory systems. *Interdiscip Sci* 2: 291-307.
61. Pusch R, von der Emde G, Hollmann M, Bacelo J, Nobel S, et al. (2008) Active sensing in a mormyrid fish: electric images and peripheral modifications of the signal carrier give evidence of dual foveation. *J Exp Biol* 211: 921-934.
62. Engelmann J, Bacelo J, Metzen M, Pusch R, Bouton B, et al. (2008) Electric imaging through active electrolocation: implication for the analysis of complex scenes. *Biol Cybern* 98: 519-539.
63. Caputi AA, Aguilera PA, Carolina Pereira A, Rodriguez-Cattaneo A (2013) On the haptic nature of the active electric sense of fish. *Brain Res.*
64. Caputi AA, Aguilera PA, Pereira AC (2011) Active electric imaging: body-object interplay and object's "electric texture". *PLoS One* 6: e22793.
65. von der Emde G (1990) Discrimination of objects through electrolocation in the weakly electric fish, *Gnathonemus petersii*. *J Comp Physiol A* 167: 413-421.
66. Harlan Meyer J (1982) Behavioral responses of weakly electric fish to complex impedances. *Journal of comparative physiology* 145: 459-470.
67. Aguilera PA, Caputi AA (2003) Electroreception in G carapo: detection of changes in waveform of the electrosensory signals. *J Exp Biol* 206: 989-998.
68. Bell CC (1990) Mormyromast electroreceptor organs and their afferent fibers in mormyrid fish. III. Physiological differences between two morphological types of fibers. *J Neurophysiol* 63: 319-332.
69. von der Emde G, Bell CC (1994) Responses of cells in the mormyrid electrosensory lobe to EODs with distorted waveforms: implications for capacitance detection. *J Comp Physiol A* 175: 83-93.
70. Bastian J (1976) Frequency response characteristics of electroreceptors in weakly electric fish (Gymnotidae) with a pulse discharge. *J Comp Physiol A* 165–180.
71. Watson D, Bastian J (1979) Frequency response characteristics of electroreceptors in the weakly electric fish, *Gymnotus carapo*. *Journal of comparative physiology* 134: 191-202.
72. Cilleruelo ER, Caputi AA (2012) Encoding electric signals by *Gymnotus omarorum*: heuristic modeling of tuberous electroreceptor organs. *Brain Res* 1434: 102-114.
73. Yager DD, Hopkins CD (1993) Directional characteristics of tuberous electroreceptors in the weakly electric fish, *Hypopomus* (Gymnotiformes). *J Comp Physiol A* 173: 401-414.

74. Scheich H, Bullock, T. H. (1974) The Detection of Electric Fields from Electric Organs; Fesand A, editor. Berlin: Springer-Verlag.
75. von der Emde G, Ronacher B (1994) Perception of electric properties of objects in weakly electric fish: two-dimensional similarity scaling reveals a City-Block metric. *J Comp Physiol A* 175: 801-812.
76. Gomez L, Budelli R, Grant K, Caputi AA (2004) Pre-receptor profile of sensory images and primary afferent neuronal representation in the mormyrid electrosensory system. *J Exp Biol* 207: 2443-2453.
77. Crampton WG, Rodríguez-Cattáneo A, Lovejoy NR, Caputi AA (2013) Proximate and ultimate causes of signal diversity in the electric fish *Gymnotus*. *J Exp Biol*: 2523-2541.
78. Caputi AA, Silva AC, Macadar O (1998) The electric organ discharge of *Brachyhypopomus pinnicaudatus*. The effects of environmental variables on waveform generation. *Brain Behav Evol* 52: 148-158.
79. Silva A, Perrone R, Macadar O (2007) Environmental, seasonal, and social modulations of basal activity in a weakly electric fish. *Physiol Behav* 90: 525-536.
80. Stoddard PK (1999) Predation enhances complexity in the evolution of electric fish signals. *Nature* 400: 254-256.
81. Lorenz K, editor (1963) On aggression. New York: Harcourt, Brace and World.
- .
82. King J (1973) The Ecology of Aggressive Behavior. *Annual Review of Ecology and Systematics* 4: 117-138.
83. Summers CH, Winberg S (2006) Interactions between the neural regulation of stress and aggression. *J Exp Biol* 209: 4581-4589.
84. Nelson RJ (2005) *Biology of Aggression*; Nelson RJ, editor. New York: Oxford University Press. 528 p.
85. Wingfield JC, Moore IT, Goymann W, Wacker DW, Sperry T (2006) Contexts and ethology of vertebrate aggression: implications for the evolution of hormone–behavior interactions. *Biology of aggression*: 179-210.
86. Silva AC, Perrone R, Zubizarreta L, Batista G, Stoddard PK (2013) Neuromodulation of the agonistic behavior in two species of weakly electric fish that display different types of aggression. *J Exp Biol* 216: 2412-2420.
87. Schluger JH, Hopkins CD (1987) Electric fish approach stationary signal sources by following electric current lines. *J Exp Biol* 130: 359-367.

88. Davis EA, Hopkins CD (1988) Behavioural analysis of electric signal localization in the electric fish, *Gymnotus carapo* (Gymnotiformes). *Animal Behaviour* 36: 1658-1671.
89. Hopkins CD, Shieh KT, McBride DW, Jr., Winslow M (1997) A quantitative analysis of passive electrolocation behavior in electric fish. *Brain Behav Evol* 50 Suppl 1: 32-59.
90. Westby GM (1974) Assessment of the signal value of certain discharge patterns in the electric fish, *Gymnotus carapo*, by means of playback. *Journal of comparative physiology* 92: 327-341.
91. Zubizarreta L, Perrone R, Stoddard PK, Costa G, Silva AC (2012) Differential serotonergic modulation of two types of aggression in weakly electric fish. *Front Behav Neurosci* 6: 77.
92. Emde vd (1990) Discrimination of objects through electrolocation in the weakly electric fish, *Gnathonemus petersii*. *J Comp Biol A A* 167: 413-421.
93. Fechner K, Holtkamp D, Neusel G, Sanguinetti-Scheck JI, Budelli R, et al. (2012) Mind the gap: the minimal detectable separation distance between two objects during active electrolocation. *J Fish Biol* 81: 2255-2276.
94. Hofmann V, Sanguinetti-Scheck JI, Kunzel S, Geurten B, Gomez-Sena L, et al. (2013) Sensory flow shaped by active sensing: sensorimotor strategies in electric fish. *J Exp Biol* 216: 2487-2500.
95. Hopkins CD (2005) Passive electrolocation and the sensory guidance of oriented behavior. *Electroreception*: Springer. pp. 264-289.
96. Kalmijn AJ (1988) Hydrodynamic and acoustic field detection. *Sensory biology of aquatic animals*: Springer. pp. 83-130.
97. Maynard Smith J, Parker G (1976) The logic of asymmetric contests. *Animal Behaviour* 24: 159-175.
98. Enquist M, Leimar O (1983) Evolution of fighting behaviour, decision rules and assessment of relative strength. *J Theor Biol* 102: 387-410.

Electric Imaging through Evolution, a Modeling Study of Commonalities and Differences

Federico Pedraja¹, Pedro Aguilera², Angel A. Caputi², Ruben Budelli^{1*}

1 Departamento de Biología Celular y Molecular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay, **2** Departamento de Neurociencias Integrativas y Computacionales, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Montevideo, Uruguay



Abstract

Modeling the electric field and images in electric fish contributes to a better understanding of the pre-receptor conditioning of electric images. Although the boundary element method has been very successful for calculating images and fields, complex electric organ discharges pose a challenge for active electroreception modeling. We have previously developed a direct method for calculating electric images which takes into account the structure and physiology of the electric organ as well as the geometry and resistivity of fish tissues. The present article reports a general application of our simulator for studying electric images in electric fish with heterogeneous, extended electric organs. We studied three species of Gymnotiformes, including both wave-type (*Apteronotus albifrons*) and pulse-type (*Gymnotus obscurus* and *Gymnotus coropinae*) fish, with electric organs of different complexity. The results are compared with the African (*Gnathonemus petersii*) and American (*Gymnotus omarorum*) electric fish studied previously. We address the following issues: 1) how to calculate equivalent source distributions based on experimental measurements, 2) how the complexity of the electric organ discharge determines the features of the electric field and 3) how the basal field determines the characteristics of electric images. Our findings allow us to generalize the hypothesis (previously posed for *G. omarorum*) in which the perioral region and the rest of the body play different sensory roles. While the “electrosensory fovea” appears suitable for exploring objects in detail, the rest of the body is likened to a “peripheral retina” for detecting the presence and movement of surrounding objects. We discuss the commonalities and differences between species. Compared to African species, American electric fish show a weaker field. This feature, derived from the complexity of distributed electric organs, may endow Gymnotiformes with the ability to emit site-specific signals to be detected in the short range by a conspecific and the possibility to evolve predator avoidance strategies.

Citation: Pedraja F, Aguilera P, Caputi AA, Budelli R (2014) Electric Imaging through Evolution, a Modeling Study of Commonalities and Differences. PLoS Comput Biol 10(7): e1003722. doi:10.1371/journal.pcbi.1003722

Editor: Matthias Bethge, University of Tübingen and Max Planck Institute for Biological Cybernetics, Germany

Received: September 9, 2013; **Accepted:** May 30, 2014; **Published:** July 10, 2014

Copyright: © 2014 Pedraja et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This work was partially supported by grants from the 7th Frame Program of the European Union (to RB and AAC) as a part of ANGELS project (<http://www.theangelsproject.eu>), CSIC (Universidad de la Republica Oriental del Uruguay, to Ruben Budelli) and PEDECIBA (to Federico Pedraja, as a part of his master studies). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* Email: rbudelli@gmail.com

Introduction

Weakly electric fish show two electrosensory modalities [1,2] supported by the presence of two types of electroreceptors sensitive to transcutaneous electric fields [3]. Passive electroreception, shared with many aquatic animals, allows the perception of electric fields produced by external electric sources, for instance the muscles of prey or predators, or the electric signals of neighboring electric fish. Active electroreception [1,2,3] evolved independently in African and American electric fish and it is based on the selective tuning of electroreceptors to the waveform of the self-emitted electric field generated by the activation of an electric organ (EO). In active electroreception, objects with impedance different from water induce perturbations in the electric field generated by the self-generated electric organ discharge (EOD) [4]. Object-dependent variations of the self-generated field across the skin are considered “electric images”, conveying information that allows the detection, identification, discrimination and recognition of the elements present in the surrounding environment [5,6,7,8,9,10].

Modeling the electric field and images generated by fish contributes to the better understanding of the pre-receptor conditioning of electric images, which in turn is the key to unravel peripheral encoding of electrosensory inputs. Two main strategies have been used to study electric imaging with complex EOs. On the one hand, Caputi and Budelli [6] developed a “direct”, bottom up model taking into account the structure and physiology of the EO and the geometry and conductivity of the fish body. On the other hand, Rasnow, Assad and MacIver [11,12,13,14], and more recently Babineau and col. [15] used a more pragmatic strategy, finding the appropriate internal sources that matched the external field.

The first strategy has the advantage of having solid foundations in experimental measurements of the electrogenic sources and fish body impedance [16]. It has also the advantage of filling the gap between the knowledge of the electrogeneration mechanisms and the generation of electric images [6,17,18,19]. However, calculating the whole field of realistic 4-dimensional scenes (three dimensions of space plus time) with the “finite element” model would imply a very large computational demand. The second

Author Summary

Sensory imaging is a relevant issue in perception studies which is not yet fully understood. A specific sensory carrier's characteristics and how it interacts with pre-receptor structures to shape images are key aspects of all sensory systems. Comparative study leads to general concepts and a specialized jargon. Electric fish are widely used models for imaging studies and have led to important contributions in imaging research. We highlight the diversity of electric organ discharges as a source of different carriers subserving this active electric sense. Site specific differences in the organization of the electric organ of pulse Gymnotiformes results in a multi-directional "illumination" of objects in the surrounding environment. However, in both African and American species, there is a foveal region where the fields and the electric images show coherent waveforms that simplify the neural algorithms required for processing object images with high resolution. In addition, in American species the electric organs generate a complex field near the skin. This complex field tends to a dipolar form as it fades with distance from the electric organ, not very far away from the body. These features may have evolved as a cryptic adaptation of the electromotor system to deal with electroreceptive predators.

strategy, based on the boundary element method (BEM) has the advantage of providing faster and accurate calculation of electric images. Thus, our modeling is optimized by combining both strategies. Instead of calculating the whole field, we approximated the electric image applying the BEM in a new simulator that uses experimentally measured electromotive forces, internal conductivity and the geometry of the fish body (see the thesis by Rother [20] and 'The Model').

A first set of simulations was carried out on the electric sense of *Gnathonemus petersii*, an African Mormyrid fish. These fish have a localized EO situated close to the tail, that is activated synchronously, yielding a very brief EOD which facilitates the analysis of the results [8,16,21]. However the EO of American electric fish is distributed along the fish body, making the characterization and interpretation of images a much more complicated task [13,14,15,22,23]. Thus, more recently we addressed the challenge of modeling the EO and the EOD of *Gymnotus omarorum*, a species where the electrogeneration mechanisms have been extensively studied [23]. These models, together with experimental results, have helped to understand the role of the fish's body on image formation as well as the peripheral encoding of object impedance [24], geometrical characteristics of the object [7,24,25], the object's distance and position [7,8,24,26,27].

Electroreceptor sensitivity and distribution are fundamental in the transformation of the electric image into a "neural image". Strong evidence supports the existence of an "electrosensory fovea". The presence of this region was first proposed based on evidence arising from the modeling of the electrogenic system of *G. omarorum* [6] and experimentally confirmed in *G. omarorum* [28,29,30], *G. petersii* [31,32] and other species [33]. The electrosensory mosaic of the perioral region has the highest density and variety of receptors. This region has a large central representation and is stimulated by a relatively large, coherent and iso-oriented electrosensory carrier [29,30,34], a feature that has been described in those species by our previous modeling studies [16,21,23]. Nonetheless, it still remains unknown how the

spatiotemporal complexity of the field and the electroreceptor type distribution (both characteristic of each species) contribute to the electrosensory encoding of the surrounding scenes. To unveil this issue it is necessary to understand both the common and the diverse mechanisms of electrosensory imaging across species.

In this paper, we explore these aspects through realistic modeling. The extension of our previous studies in *G. omarorum* [23] and *G. petersii* [16,21] to other Gymnotiformes species with different EOD complexity, has allowed us to show the capabilities of the simulator for calculating electric fields and images in all functional types of electric organs and therefore its potential as a tool for exploring active electrolocation and electrocommunication. The chosen species cover almost the whole spectrum of complexity of electric imaging strategies: a) pulse type EOD emitted by a localized EO (represented by *G. petersii*); b) a wave type EOD emitted by a distributed EO (represented by *Apteronotus albifrons*) and c) a wavelet type EOD represented by *G. omarorum* and two other species with different degrees of waveform complexity. *Gymnotus obscurus* shows an almost monophasic EOD, with a very simple spatial organization of the electric organ, while *Gymnotus coropinae* shows a multi-phasic and very complex spatiotemporal organization [35,36,37].

We applied the model to investigate: a) how the electromotor organization influences the range of electroreception and electrolocation in different species and b) the differences in electroreception mechanisms between rostral and other body regions. Our analysis suggests that Gymnotiformes may have a shorter range of electrolocation and electrocommunication than African mormyrid fish. Our study has confirmed the fovea - body differences of the field and images in the new species studied and explains how differences in EO structure and body geometry, together with a certain organization of the sensory mosaic, provide functional advantages for the corresponding electrosensory organization.

Results

In this article, we compare the electric field generated by two pulse type and one wave type Gymnotiform fishes with different EOD complexity, with the previously studied *G. petersii* and *G. omarorum*. We addressed the following points: 1) how to calculate the equivalent source distribution based on experimental measurements, 2) how the complexity of the EOD determines features of the electric field surrounding the fish and 3) how the basal field determines the characteristics of electric images.

From air gap recordings to source distribution

The coordinated activation of electrocytes or nerve fibers generates longitudinal currents that, flowing through the external media, generate the electric field due to the EOD. Although the EOD associated field may change with the sensory scene and particularly with water conductivity, we have shown that in most cases the EOD can be represented by an equivalent source which is characterized by the voltage generated in air and the impedance of contiguous parts of the fish's body [38]. This series of voltage values are a species specific invariant that can be used for calculating external fields [6]. For the localized EO of *G. petersii* we used a single dipole to simulate fields and images [16,21]. However as Gymnotiformes have a distributed EO, discharging different waveform at different regions, a multi-poles approach is required. Then, we experimentally determined the voltages generated by contiguous parts/sections of the fish body by measuring the difference of voltage between electrodes (air gap) while the fish were held in air [38]. These differences are

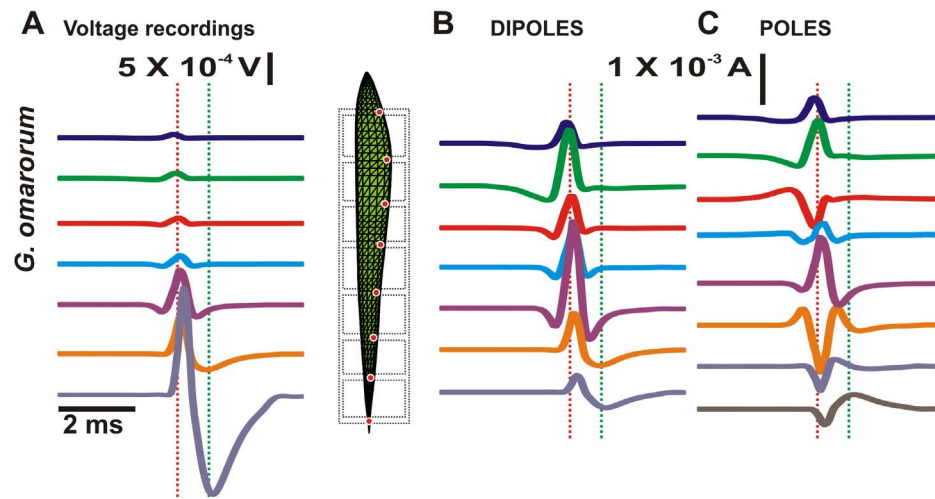


Figure 1. Voltages, dipoles and poles for *G. omarorum*. (A) Recorded potential differences through the air gaps. (B) Rostral poles of the dipoles calculated from the recorded potentials, fish resistivity and fish morphology. The diagram between A and B represents the fish in the multiple air gap. Red dots represent the position of the poles in the model. (C) Poles calculated from the dipoles as a function of time. The red and green dotted vertical lines represent the positive peak of the htEOD and the negative peak respectively.
doi:10.1371/journal.pcbi.1003722.g001

generated across the body region encompassed between the electrodes.

The procedure is exemplified for *G. omarorum* in Figure 1, which shows in A the voltage recordings across the 7 air gaps (see data for the other species in Figure S1). Assuming that the voltage recorded from each air gap is produced by two poles of current sources of opposite polarity (dipoles) situated at either end of the body region (source and sink), the electric current can be calculated as V/R ; where V is the recorded voltage and R is the longitudinal resistance of that part of the fish body (calculated according to tissue impedance and fish body geometry, see The Model). The time courses of longitudinal currents generated by the 7 rostral poles are presented in column B. Since the pieces of the fish body are contiguous and aligned longitudinally and are thus limited by a common plane, the currents supplied by the poles lying on the same plane can be reduced to a single entity by simple addition of their magnitudes, and the EO can be represented by a set of 8 poles (Figure 1C). Note that: a) the voltages increase rapidly towards the tail, b) waveforms are characteristic of each body part, and c) there is a delay between homologous peaks at different regions. This last occurs because the neural coordination mechanisms do not provide a perfect synchronism between EO regions [17,39,40,41]. However, due to impedance matching, the maximal current contribution to the external field is provided by the central and caudal body regions (Figure 1B). In consequence, the poles invert their polarity at the limits of the central region of the fish, where they also show maximal absolute values (Figure 1C violet and orange traces).

Data was obtained for several species using this method, for which *G. obscurus* was the simplest case. For this fish, the voltage signal consists of a main positive component, increasing in amplitude and appearing with increasing delay as EO activation travels rostral-caudally. At the tail region there is a small negative component. Despite this apparent simplicity, the poles show complex waveforms illustrating the effect of the progressive shift of the positive peak onset from head to tail (Figure S1, [36]).

G. coropinae is the most complex case. This fish exhibits a large expansion of the EO at the head. Thus, besides the pattern already described for *G. omarorum*, *G. coropinae* shows a strong source

that generates a different waveform starting significantly earlier than that generated by the rest of the EO (Figure S1, [37]).

A. albifrons is a wave type fish, with a neural EO. The magnitudes of the poles reach their maximum in the second and seventh defined body regions, due to the highly synchronous discharge of the EO. The most rostral and caudal dipoles are negligible. Currents from poles 3 to 6 are mild, but not negligible; if they were so, we would be able to simulate the field generated by the EOD by two distant poles (Figure S1 [42]).

Comparing the different pulse species we should stress that while heterogeneity plays a very important role at the transition between the head and central regions, the relationship between electrocyte number and internal resistance plays a major role at the transition between the central and tail regions [6]. In *A. albifrons*, the similarity and the almost synchronous discharge of different regions of the EO results in two major poles, at the head to central and central to tail transitions.

From sources to electric fields

Using the BEM method (see The Model), we calculated the maps of electric potentials and fields, either in water or across the skin. The modeled field and images are multidimensional, including spatial and time dependent aspects. Thus we represent images as series of images profiles, defined as the transcutaneous voltages along a line on the skin, each element of the series corresponding to a given time. In certain cases images are represented as transcutaneous voltages, as a function of time at a given skin site. The drop of voltage and fields in water are shown in the same way.

Our first aim was to check the accuracy of the model by reproducing the far field and the head to tail recordings as used in taxonomic and evolutionary studies [43]. In a previous paper, we checked that in *G. omarorum*, the simulated field fits the experimentally determined one [23]. Here we compare the simulated and experimental head to tail EOD (htEOD) for the studied species (Figure 2A and B). Since the experimental recordings were obtained by different authors in different tanks [35,36,44] and the simulations were calculated in an infinite medium, we focused only on the reproduction of the waveform,

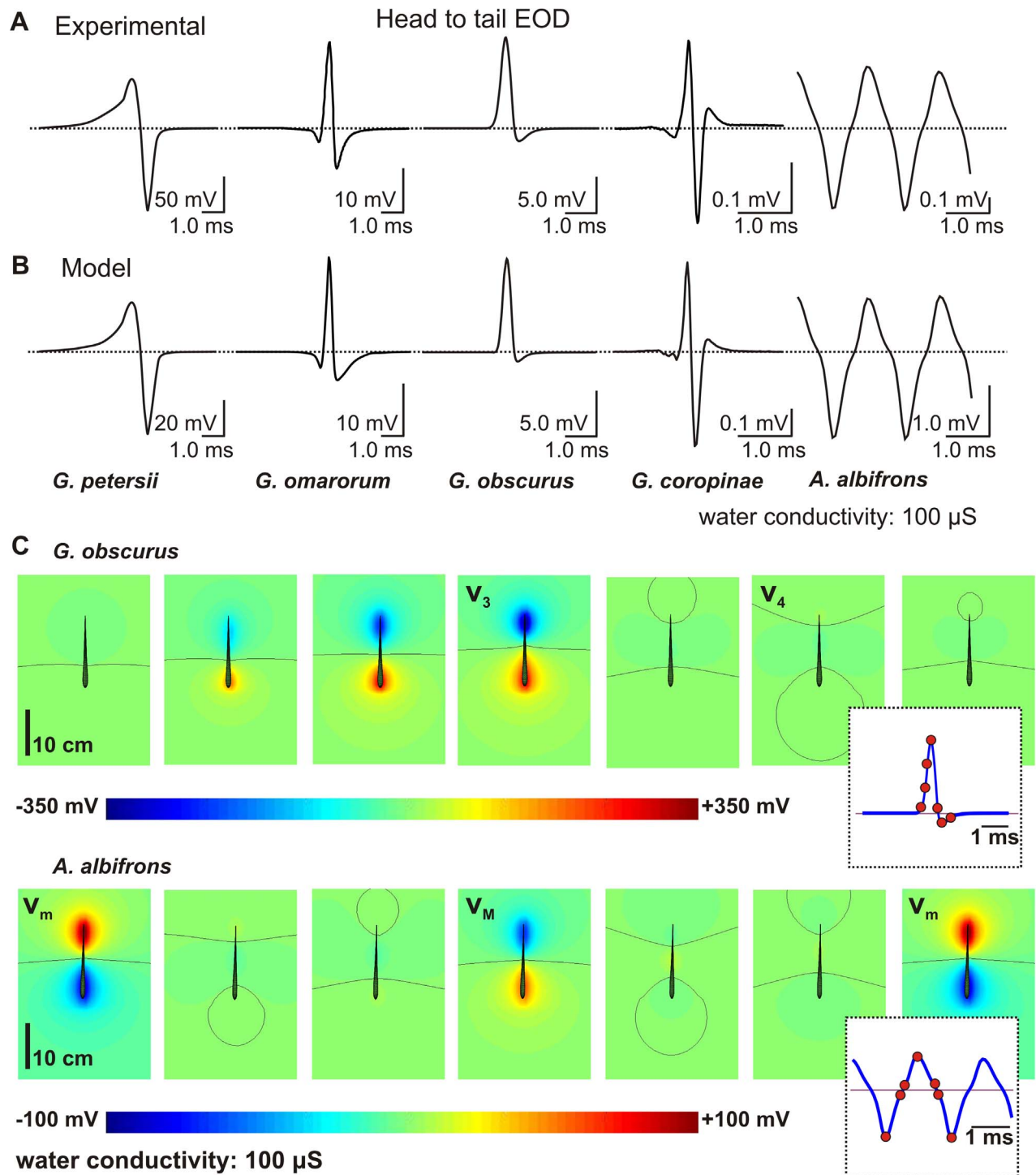


Figure 2. Head to tail EOD waveforms and electric potential in a horizontal plane. (A) The experimental htEOD recording across the species (B). The htEOD recording calculated using the BEM model. Dotted line indicates zero voltage. (C) *G. obscurus*: three instants before the positive peak, the positive peak, an instant between the positive peak and the negative peak, the negative peak and one instant later. *A. albifrons* at the peak of the negative wave of the htEOD, two instants close to the zero crossing between the negative and positive peaks, at the peak of the positive wave, two instants close to the zero crossing between the positive and negative peaks and again at the peak of the negative wave. Black lines indicate the points where the potential is zero. The insets show the htEOD waveform at the selected instants (red dots).
doi:10.1371/journal.pcbi.1003722.g002

which, in fact, is outstandingly accurate. The main difference between *G. petersii* and American fish is that while in mormyrids wave transitions occur synchronously, in all

Gymnotiformes the heterogeneity and asynchrony between the different regions of the EO generate differences between the near and the far field.

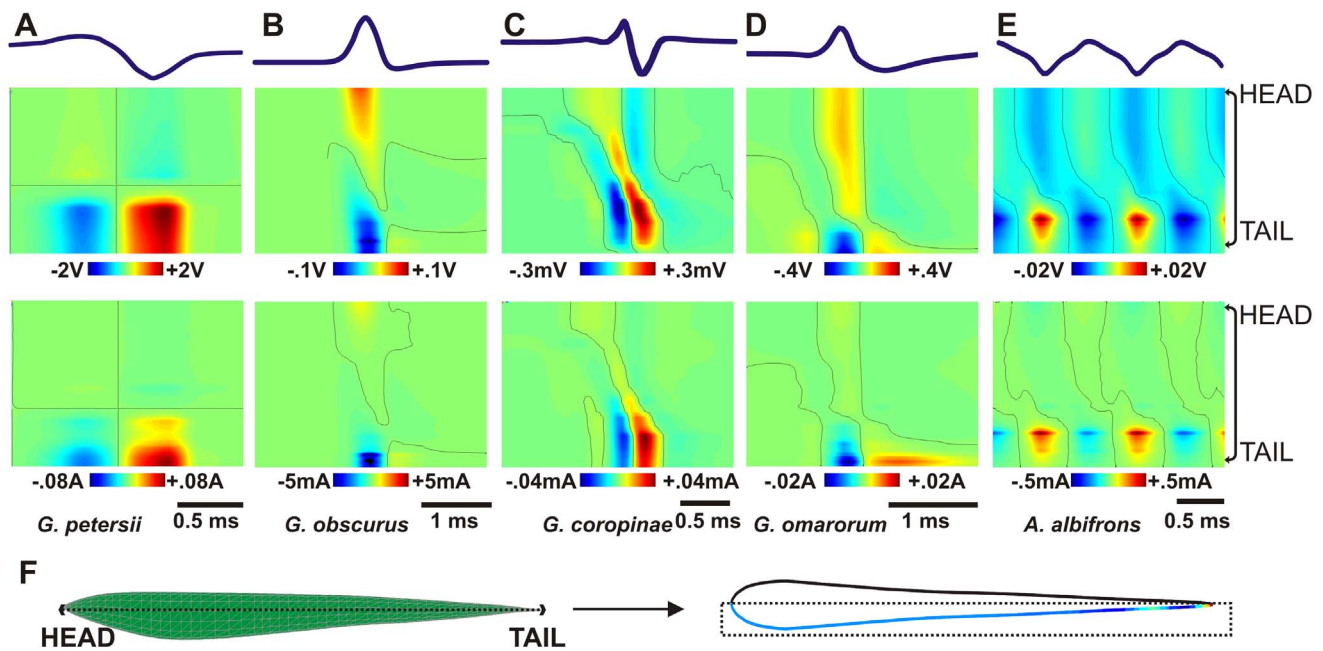


Figure 3. Electric potentials and fields perpendicular to the fish skin on a horizontal plane. (A) *G. petersii* (B) *G. obscurus* (C) *G. coropinae* (D) *G. omarorum* (E) *A. albifrons*. The top row shows the htEOD waveforms recorded in air as a reference. The second row shows the potential along a horizontal line on the skin as a colormap: x axis represents time along the EOD and y axis represents the position on the skin. Reversal points in black. The third row shows the transcutaneous currents using a similar representation. (F) schematic representation of the localization of the skin section in a lateral view (left) and seen from above (right). We have used the body profiles of *G. omarorum* but these are similar in the other fish. doi:10.1371/journal.pcbi.1003722.g003

Furthermore, as explained in the appendix of a previous paper [23], in a three dimensional view, either the head or the tail can be enclosed by an ovoid shaped surface of zero potential, while another zero potential surface tending to infinite crosses the body at an intermediate level (Figure 2, C and Figure S2). This implies that different htEOD waveforms are recorded when the electrodes are either far or close to the body.

A second piece of evidence confirming the accuracy of the model results from the comparison of the modeled sinks and sources on the fish skin with published experimental data [13,43,45]. We calculated the voltage as a function of time, measured along a lateral horizontal line on the fish skin (Figure 3 middle row). These maps indicate the presence of contiguous regions of different polarities, separated by zero lines (black lines). In *G. petersii* (Figure 3A), there is only one zero line that stays fixed in the same point. In Gymnotiformes the zero lines move from rostral to caudal regions as the EOD progresses, as expected by the progressive activation of the EO [39,41]. The simplest case is that of *G. obscurus* (Figure 3B), having an almost monophasic time course. The most complex case is *G. coropinae* (Figure 3C), reflecting the presence of multiple generators with asynchronous evolution of the source (reddish) and sink (bluish) positions along the fish. *G. omarorum* (Figure 3D) and *A. albifrons* (Figure 3E) are intermediate cases. The bottom row of Figure 3 shows the species-specific transcutaneous current profiles, which are proportional to the strength of the field (the voltage gradient) perpendicular to the skin [24].

Finally we compared the strength of the fields close and far from the fish. Figure 4 shows the maps of maximum field at each point, on a logarithmic scale. We marked (in purple) the experimentally obtained thresholds for active electrolocation for *G. omarorum* (continuous line), *G. petersii* (dotted line); and *A. albifrons* (dashed line). For the sake of comparison, we also plot the threshold values

of active (in sky-blue) and passive (in black) electroreception of *G. omarorum*. We found that the strength of polarization of a neighboring object differs among species, the range for *G. petersii* being much larger than the range for the Gymnotiformes species, and that of *G. coropinae* being the smallest of all. This may explain the differences in electrolocation ranges found in the literature [46,47,48,49]. In addition the data also suggest that the distance for detecting a field produced by a conspecific with an EOD of the same amplitude would be significantly smaller in Gymnotiformes, reaching the lowest level in the species with the most complex EO (*G. coropinae*).

From fields to images: Imaging mechanisms studied with small metal spheres

The clue to understand electric imaging is to realize that object polarization is the source of electrosensory signals, resulting from the change in the electric field determined by the presence of an object. This change (perturbing field) is defined as the field resulting from subtracting the electric field in the absence of the object (basal field) from the electric field in its presence (stimulating field) [2].

Depending on the object location and the fish species, the time courses of the object perturbing and stimulating fields may, or may not, be equal. Figure 5 compares the basal and stimulating field and their difference (object perturbing field) at the head and the side of the fish, when an object is placed in front of one of the recording positions. In all cases the time courses of the perturbing field in front of the object are equal but have opposite polarity with respect to the other recording point. This difference in polarity of the object perturbing field is due to the 'Mexican hat' center-surround image profile ([7]): when the image of an object formed at the skin has a given polarity representing the center of the object, the surrounding skin will see an image tending towards the

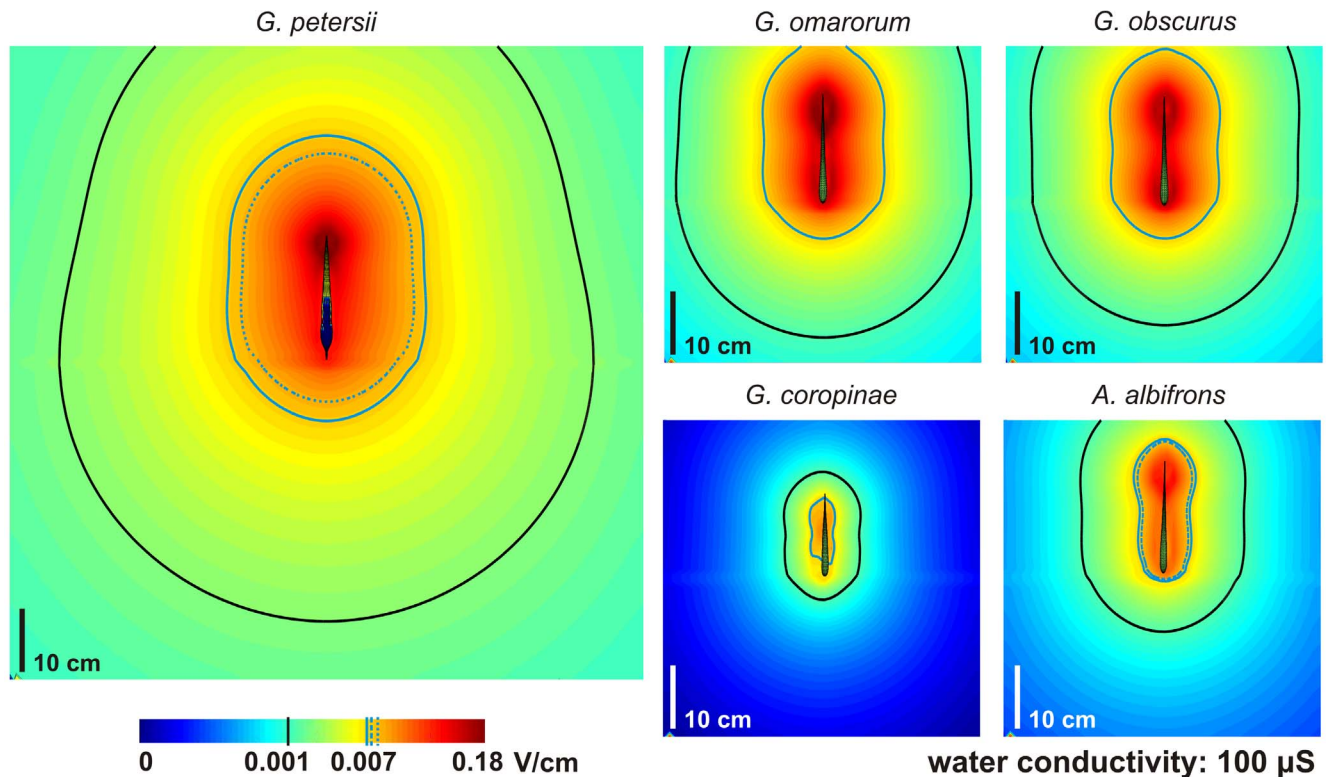


Figure 4. Comparison of maximum fields along the EOD. The color maps represent the maximum absolute value of the field at each point of space computed for the whole time course of the EOD. Purple lines show the experimentally obtained thresholds for active electrolocation for *G. omarorum* (continuous line); *G. petersii* (dotted line); and *A. albifrons* (dashed line). For the sake of comparison, in every fish we plot (continuous lines) the threshold values of active (in sky-blue) and passive (in black) electroreception, corresponding to those experimentally determined for *G. omarorum* (values taken from [46,47,48,49,51]).
doi:10.1371/journal.pcbi.1003722.g004

opposite polarity, corresponding to the ‘brim’ or the trough of the Mexican hat profile.

In mormyrids, the time courses of stimulus and perturbing fields are equal, but in Gymnotiformes they are often different. This implies that for a pure resistive object, the object position may be encoded not only by the spatial pattern but also by the waveform pattern at different spatial locations. It is clear from the Figure 5 that in all Gymnotiformes there is little difference between perturbing and basal field at the head, when an object is facing the recording point (Figure 5B). In contrast, for the same scene, there are important differences when the recording site is on the side of the fish (Figure 5C). When the object faces the side of the fish, perturbing and basal fields are different at both recording sites (Figure 5E and F). To study this phenomenon in detail, we compared the images generated by objects near the head or on the side of the fish.

Spheres facing the rostral zone. Figure 6A (and Figure S3) shows, for the same scene as in Figure 5A, a series of electric images profiles. In all fishes, the image has a symmetrical center-surround opposed profile centered in front of the object. When a sphere of 0.25 cm radius is placed at 1 cm from the skin, the image profile is almost constant, changing only in amplitude. Thus, there is an almost perfect superposition of the normalized image profiles (Figure 6A and S3). Note that: a) the amplitude of the image in Gymnotiformes is at least one order of magnitude smaller than in *G. petersii* and b) in *G. coropinae* the images profiles are 2 orders of magnitude smaller than in the other studied species (Figure 5, 6 and S3). These features of the image contrast

with those observed for a larger object (1 cm radius) or for a similar object located closer to the fish (0.5 cm from the skin). For the larger sphere, the widths of the image profiles are similar to those of the small sphere at the same distance. The superposition shows very similar image profiles except for *G. coropinae*, in which the discrepancy indicates that the spatial profiles are changing along the EOD (Figure 6B and S3). For the small sphere located closer, the width of the profile decreases and the superposition is a bit less perfect in all fish, but this is most marked in *G. coropinae* (Figure 6C and S3).

Spheres facing the lateral zone. Figure 7A compares the image profiles of a 1 cm radius metal sphere, placed 2 cm away from the fish midline, for the main peaks of the htEOD in the five studied species. While in *G. petersii* and *A. albifrons* the profiles of the main peaks are coincident, in pulse Gymnotiformes there is a spatial shift. Furthermore in all Gymnotiformes, the transitions between the main peaks are characterized by clearly different biphasic profiles, as illustrated in the insets. This indicates changes in the direction of the transcutaneous field. When the object is moved away from the fish body, the image profiles increase in width and decrease in amplitude and the changes along the EOD are attenuated (Figure 7B). Differences between profiles increase from the side of the head up to the 3/4 of the fish length measured from the snout (Figure S4, S5, S6, S7, S8).

Discussion

Electric fish use the EOD as a signal carrier for object exploration and communication. The electromotor pattern varies

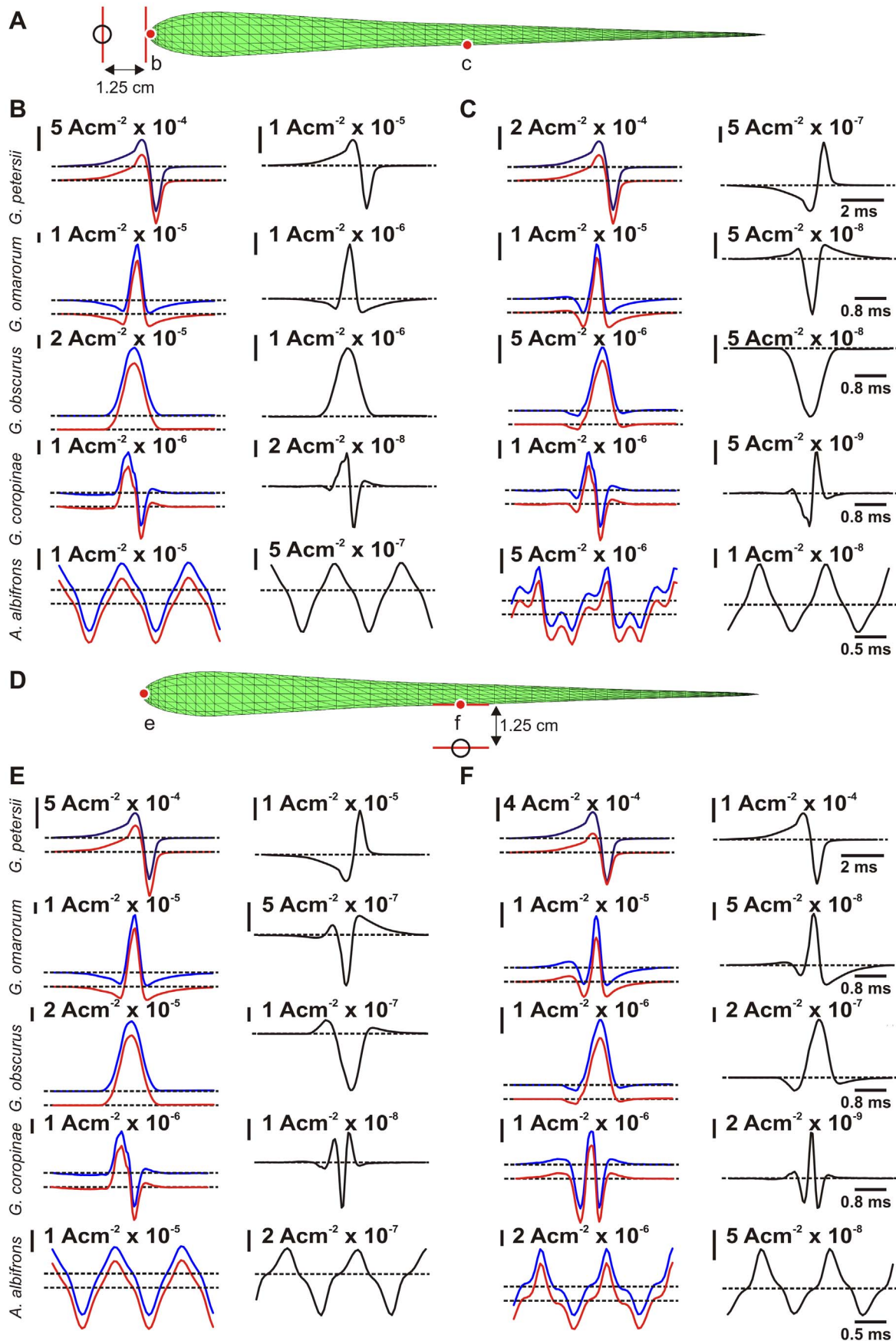


Figure 5. Time course of the image when the object is placed before the fovea and at the side of the body. (A) Diagram of the scene. The red dots marked as b and c correspond to the places where the traces shown in B and C were calculated. (B) Time courses at the fovea. Left column: Time courses of transcutaneous currents in the absence (red), and in the presence (blue) of an object facing the fovea. Right column: The image calculated as the difference between the traces on the left (black). (C) Time courses for transcutaneous currents with and without an object situated laterally. (D) Diagram of the scene. The red dots marked as e and f correspond to the places where the traces shown in E and F were calculated. (E) Time courses at the fovea. Left column: Time courses of transcutaneous currents in the absence (red), and in the presence (blue) of an object facing the side. Right column: The image calculated as the difference between the traces on the left (black). (F) Time courses on the side, color-coded as above.

across species, implying different strategies of image generation, which in turn may imply differences in the organization of the sensory pathway. In this article we combine modeling and comparative analysis to explore how the commonalities and species-specific differences in electric imaging may depend on the different organization of the electromotor systems. The main differences between African and American electric fish are caused by the extension and complexity of the EO. The increased complexity of the EO of American electric fish leads to the hypothesis that they may detect object location through waveform analysis. The simple organization of African mormyrids results in a long communication range while complexities may provide American fish with the possibility to emit site-specific signals to

be detected in the short range as well as the possibility to evolve cryptic predator avoidance strategies.

The role of electromotor strategy on sensory imaging

Our model results fit well with experimental recordings of near and far fields for different species, confirming its validity. First we reproduced the time course of the htEOD. One of the limitations of the model is that the simulations cannot account in a precise way for the tank borders, and for this reason all calculations were performed as if the fish were in an infinite homogenous media. This may account for the differences in the amplitude of the htEOD and the differences in the time courses of the early components of *G. coropinae*.

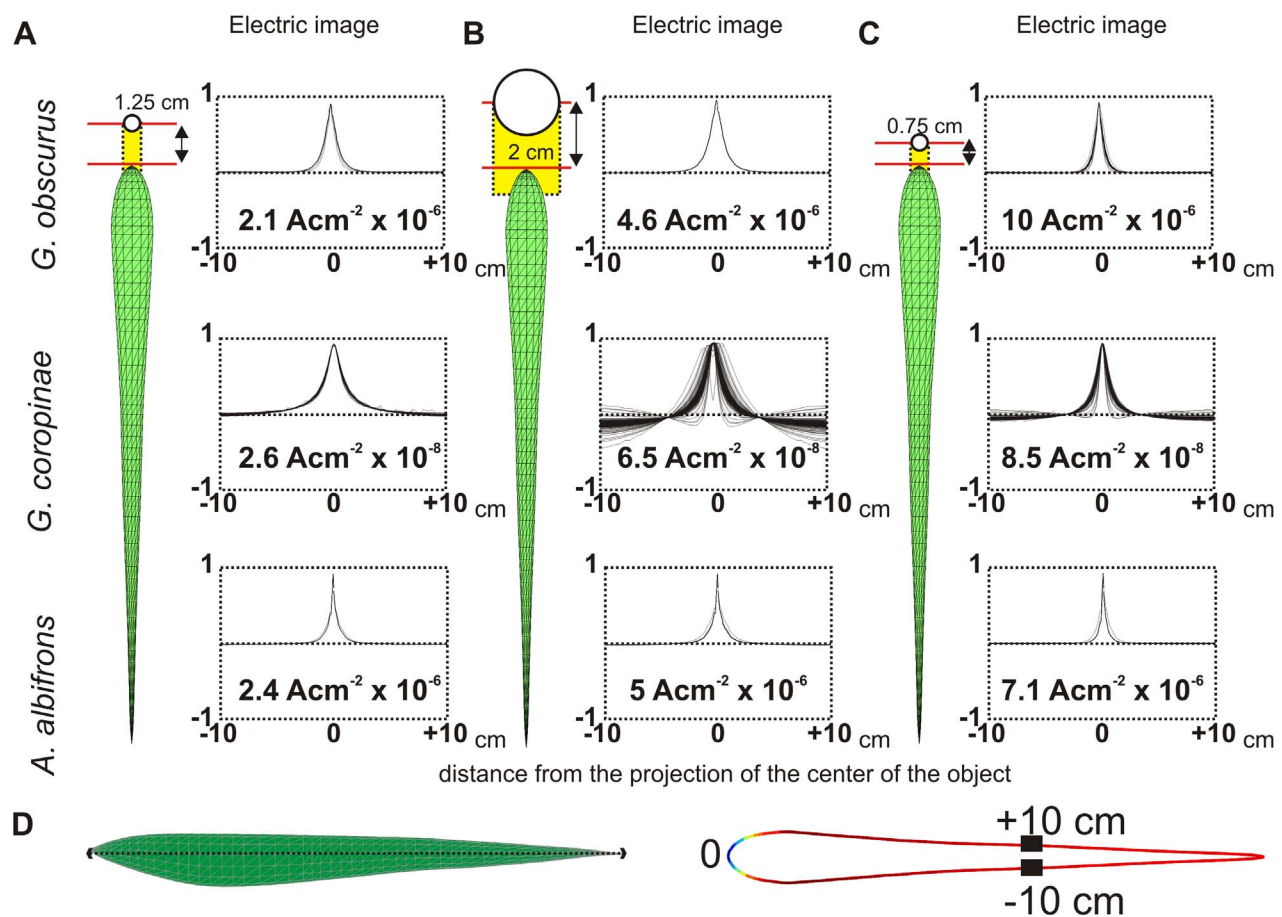


Figure 6. Image profiles for spheres of different size facing the fovea. Amplitude image profiles for *G. obscurus*, *G. coropinae* and *A. albifrons* when (A) a small (0.25 cm radius) and (B) a large sphere (1 cm radius) face the fovea at when the distance between the skin and the surface of the sphere is 1 cm) and (C) when the small sphere faces the fovea at a shorter distance (0.5 cm). The plot shows the profile for the entire EOD normalized by the absolute maximum of each peak. The yellow area indicates the projection of the object on the skin. Note the different shapes for *G. coropinae*. (D) Schematic representation of the localization of the skin section in a lateral view (left) and seen from above (right), for *G. obscurus*. See Figure S3 for the complete image.

doi:10.1371/journal.pcbi.1003722.g006

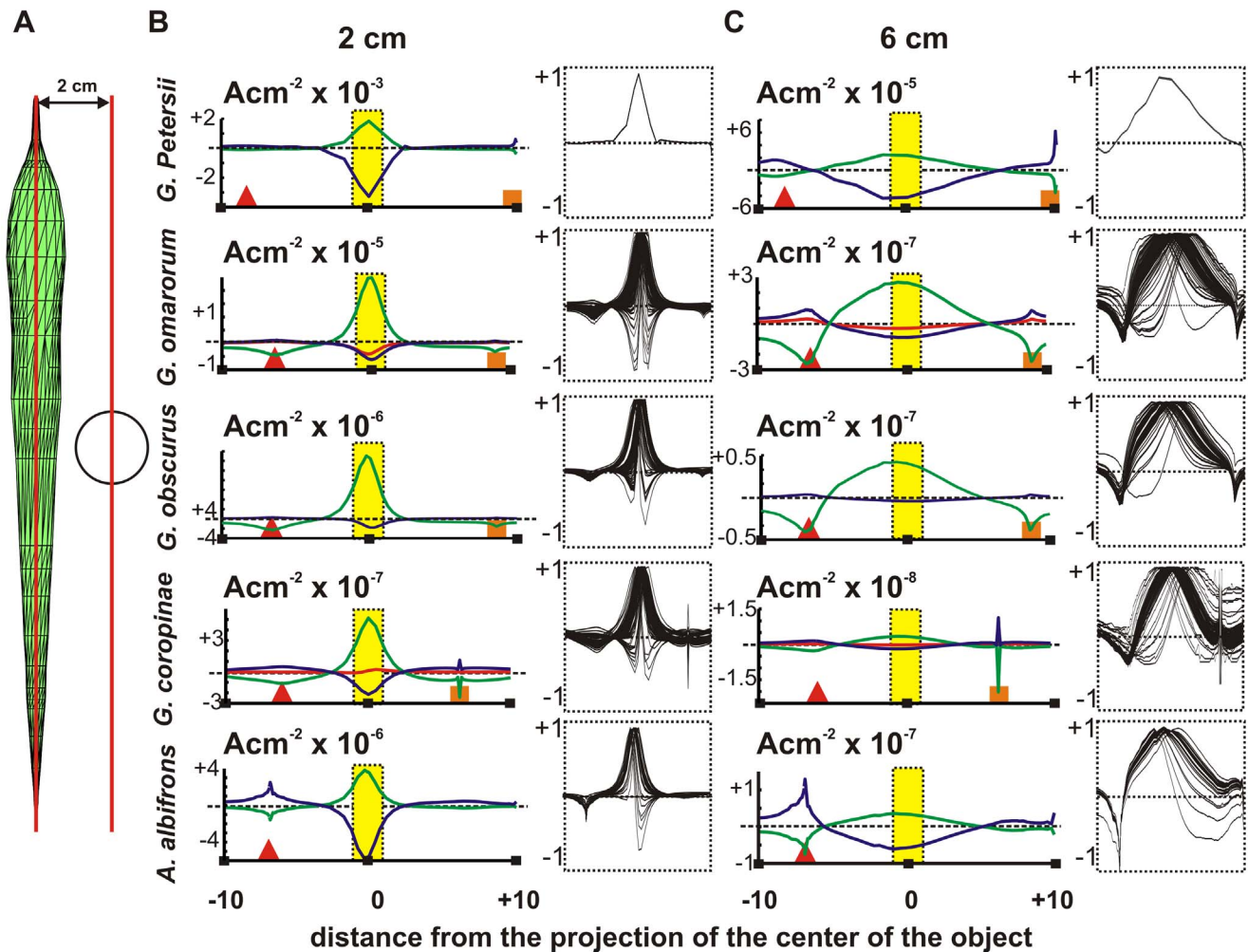


Figure 7. Images of a sphere facing the middle portion of the fish body. (A) The diagram shows the relative position of the sphere when the distance to the longitudinal axis is 2 cm. (B) Each row shows the image profiles of a sphere situated at 2 cm from the sagittal plane for the studied species. (C) Image profile with the sphere at 6 cm. The plots show the profiles at the peaks of the htEOD waves: positive peak (green) and negative peak (blue). Also shown are the rostral positive peak (red) for *G. coropinae* and the first negative peak (red) for *G. omarorum*. Insets show the superposition of normalized profiles (divided by the maximum absolute value along the EOD). The triangles and squares indicate the fovea and the tail tip respectively; the yellow area indicates the object projection on the skin.
doi:10.1371/journal.pcbi.1003722.g007

In active electrolocation, the stimulus to the sensory mosaic in the presence of an object is the stimulating field: the sum of the basal field plus the object perturbing field [10,50]. Here we have shown that the time course of the field polarizing the object is species specific, as well as dependent on the object location with respect to the fish's body.

The simplest case is represented by pulse mormyrids. These fish have a localized EO at the caudal peduncle that is synchronously activated yielding a very brief EOD. Here we confirmed previous experimental and modeled data indicating that the basal field, stimulating the mosaic and the object perturbing field have the same time course when the scene is formed objects that are resistive only [7,9,16,20,21,24,45].

In contrast, Gymnotiformes show a distributed EO in which the time course of the regional electromotor sources is either shifted in time (as it is the case of *A. albifrons* and *G. obscurus*) or shows a characteristic regional waveform (as it is the case of *G. omarorum* and *G. coropinae*). Under the assumption of linearity we have extended the initial model based on a localized EO [20] by calculating object polarization and basal fields as the sum of the

effects of eight equivalent poles that change in magnitude with time. In order to calculate poles we started from experimentally recorded voltages with the fish in air and the geometric profile of the fish body [6]. Since voltage amplitude, time course and body shape are species specific, the resultant polarizing field from each pole is also species-specific. Moreover, since the relative distance from the object site to each pole varies with the position of the object, object polarization is also site-specific for Gymnotiformes fish.

Commonalities and differences in active imaging

The first commonality is that all studied species show a short electrolocation range. However, there are differences between fish generating large (*G. petersii*) and small (Gymnotiformes) electromotive forces and having synchronous or heterogeneous discharges. We found a good agreement between the electrolocation ranges predicted by the extrapolation of the detection threshold of *G. omarorum* [51] to the electric field of *A. albifrons* [46] and *G. petersii* [47,48,52]. It is important to note that as the polarization

distance increases, the projection distance also increases which in turn reduces the image amplitude. Therefore, the exclusive consideration of object polarization leads to an over-estimation of the electrolocation range. Similarly, we have found that the extrapolation of the communication range of *G. omarorum* is in the experimentally determined range for *G. petersii* [53,54]. Finally, the EO complexity increases the probability of the cancelation of the far field, produced by neighboring regions of the fish, as occurs in *G. coropinae*.

A second commonality is the peculiar characteristic of the imaging mechanism at the perioral region. This finding is consistent with the general hypothesis that the perioral region and the rest of the body play different sensory roles [55]. While the “electrosensory fovea” might be used for resolving details of the explored objects, the rest of the body might be used as a “peripheral retina” for detecting the presence and movement of objects. These results generalize some experimental observations about object imaging at the fovea of *G. omarorum* [55,56]. At the fovea the details of the size and shape of the object are only represented in the image profiles when the object is very close. In fact, as shown in Figure 6, a small and a large sphere placed 1 cm away from the skin show the same image shape, differing only in amplitude, in all studied fish with the exception of wave transitions in *G. coropinae*. This difference in image formation is due to the curved shape of the snout and the mandibular region [45,55,56]. In this region the object’s presence generates a similar image profile in each instant of the EOD. When an object is large enough for its edges to exceed this region (the larger or the closer sphere, in Figure 6B and C) the image profiles change in shape. *G. coropinae* has a slender body; hence this region is narrower in this species.

A third commonality is that the constant temporal profile of images observed for most species near the fovea facilitates capacitance discrimination as previously shown in *G. petersii* [57,58] and *G. omarorum* [59]. The constancy of the time course of the EOD at the perioral region facilitates the identification of the changes in the stimuli induced by capacitance since within a fringe surrounding the fovea the only cause for a discrepancy between the time courses of the object polarization and the basal field is the complex nature of the object impedance. To discriminate qualia (as color, in vision), it is necessary to have at least two types of receptors, responding differently to the stimulus that reaches the sensory surface. In vision the light is composed by photons of different frequencies that differentially stimulate the three types of cones. Each of these images is characterized by a particular spatial pattern of amplitude or shape. In electroreception, qualia relates to the differential responsiveness of electroreceptors to the time course of the local EOD. Tuberous electroreceptors can be classified in various subtypes depending on the species. *G. petersii* has two subtypes [60,61], in the genus *Gymnotus* there are four [62,63,64]; and in other Gymnotiformes there are at least two [65,66]. This has led to the idea of “electric color” in pulse fish [24,57,67]. This shared characteristic of several subtypes of electroreceptors across species may suggest the use of similar algorithms for decoding object impedance. More intriguing is the possibility of “electric color” decoding by wave fish. In this case, the brain should compute the image as spatial changes in amplitude and phase of a sine-wave like stimulus [66].

Similarly to other sensory modalities, the trunk of the fish body may act as a peripheral electrosensory “retina” where most of the information coded deals with the presence, location, or movement of objects. Consistently with a smaller spatial resolution, images are also less sharp and may have more than one peak. For example, the presence of an object close to the fish’s side can be detected both on the side and on the perioral region (Figures S10–

S13 rows 2 and 3). This foveal stimulation by objects placed on the side of the fish was experimentally shown in *G. petersii* [68] and *G. omarorum* [51]. Finally, for objects located away from the fish, image intensity on the side is relatively large, opening the possibility to decode the rough position of the object by waveform analysis, followed by an object tracking or avoidance responses to further inspect or to escape from the object [11].

Advantages and disadvantages of having a complex EO

Self-generated fields should have enough magnitude to ensure electroreceptor stimulation by the transcutaneous current of the emitter and, in the case of electrocommunication, by conspecific fish. From an evolutionary point of view two different strategies can be distinguished. African fish increased the EOD power by packing a large number of flat electrocytes into their highly localized EO. These electrocytes are oriented in parallel with the large surface perpendicular to the main axis of the body and are almost synchronously activated by the central nervous system. In addition, the large cross-section of the high conductance body spreads the generated current rostrally, increasing the equivalent dipole measured at a distant position [21]. This may facilitate long range communication between conspecifics. The time course of the field, constant everywhere, assures that the variations of the local stimuli generated by a capacitive object, fall within a family of waveforms that depend only on the impedance of the object, suggesting the perception of “electric color” [24,57].

American fish evolved EOs composed by numerous, large, and relatively separated electrocytes extended all along the fish’s body. The simplest cases considered are *G. obscurus* and *A. albifrons*. In these species the regional EODs have almost the same temporal course all along the EO. At the fovea which is away from the EO, imaging mechanisms are overall similar to *G. petersii*. However, on the fish’s side the time delay between the activation of the different regions leads to the described differences between the images of the same object when it is placed at different sites. *G. omarorum* and other pulse Gymnotiformes show regional EODs with different time courses. In addition to the rostro-caudal time shift described for *G. obscurus* and *A. albifrons*, most species of the genus *Gymnotus* and *Rhamphichthys* [69] show temporal-overlapping of neighboring sources whose time course is opposite. Among the studied species, *G. coropinae* shows the largest complexity. In this species the duration of the different components is shorter in relation to the delay between regions, therefore facilitating overlapping between generators of opposite sign [36,70]. Furthermore, as a consequence of EO complexity, synchronous but opposed field generators in different regions of the fish cancel out relatively close to the fish’s body. Since these two features appear to be disadvantages for electrolocation and electrocommunication, what could be the advantage of this evolutionary strategy?

One advantageous functional consequence of EO complexity is the potential generation of site-specific signals in the near field, while maintaining a single species-specific EOD time course in the far field. This allows the fish to identify an object’s position by analyzing waveform. In addition, the near field may be indicative of species gender. In the biphasic htEOD fish, *Brachyhypopomus gauderio*, three phasic site-specific near field EOD time courses may be used as communication signals during typical courtship displays [71,72] [Silva and Caputi, unpublished].

Finally, a smaller far field with high frequency components may be used as an encrypting strategy to avoid predators [73]. *G. coropinae* and other members of the clade 1 [36,44,70] are small sized fish exhibiting multiple asynchronous sources, yielding a very complex near field and a much less extended far field (Figure 4). This feature allows *G. coropinae* to use its complex discharge

mainly for active electrolocation while the same complexity reduces the far field potentials, allowing this fish to cryptically hide from predators. As a complementary feature, in order to secure active electrolocation, this and other members of this clade (e.g. *G. javari*) might also have evolved strong sources in the head with a rostral common pole at the midline and two lateral poles [36]. This rostral extension of the EO allows the fish to generate strong currents through the fovea but a small far field [36,37,43]. This design reduces the region where the electrosensory mosaic is best suited for waveform analysis.

Methods

Detailed spatial analysis of the EOD

The multiple air gap procedure was used to characterize the detailed spatio-temporal patterns of the voltage distribution along the fish, while allowing us to compare EOD waveforms generated by different regions of the fish's body [74]. Fish were suspended in air using a custom-made apparatus that holds the fish on a grill-like array of parallel wires. The wires in contact with the skin were perpendicular to the main axis of the body, one at each end of the fish and others at the limits of each of the explored regions. Voltages were simultaneously recorded between pairs of wires, amplified to reach adequate amplitude for similar quantization (bit resolution always larger than 8 bits), and sampled at 25 kHz. For the purposes of this investigation, seven regions of the fish's body were considered; their lengths were adapted to cover the whole length of the fish. Because of the different origins of the wave components, several recordings were obtained for each fish with different configurations before finding the montage yielding the most representative picture of the EOD pattern. In general, regions showing larger changes in voltages for any of the components were explored with a greater resolution. The length of the regions varied in integer multiples of 1 cm. In the multiple air gap condition, since load is absent, voltage recordings are considered good estimators of the equivalent electromotive forces generated by the different portions of the fish's body for the components that are directly activated by synaptic action.

Modeling the electric organ

We used the air gap data obtained from *G. omarorum*, *G. coropinae*, *G. obscurus* (already published by Rodríguez-Cattáneo and cols., [36]) and data from *A. albifrons* obtained in the same way. To evaluate resistance of the internal tissues and the skin, we used previously available data for *G. omarorum* [6] and assumed the same specific resistivity in *G. obscurus*, *G. coropinae* and *A. albifrons*.

The voltage difference, between 8 consecutive transverse planes of the fish placed at different sites of the body are mainly produced by the regions of EO encompassed by these planes and, according to Ohm's law, it is equal to the current (I) flowing through the internal tissues between each pair of planes times the resistance (R) of that section of the fish's body. Then, from the resistance of the given section of the fish body and the measured voltage (V) across it, we were able to calculate the current causing the voltage drop.

$$V = R \cdot I \quad (1)$$

This is based in the simplifying assumption that for a small longitudinal region of the EO the electrocyte population is homogeneous. Also according to the simplest assumption, electrocytes within a short segment of the electric organ are oriented similarly and fire almost synchronously. Thus in the model, the current generated by the series of identical dipoles -

mimicking the electrocytes inside a cylindrical body slice- is equivalent to a dipole. This is because the rostral pole of one dipole adds with the caudal pole of the next caudal dipole: consequently, all the intermediate poles are canceled and the line of dipoles is equivalent to a single dipole with poles situated at the transverse planes limiting that piece of fish.

The longitudinal resistance (R) of a section of fish can be calculated from the geometry and resistivity (ρ)

$$R = \rho \cdot l / S, \quad (2)$$

where l and S are respectively the distance between recording electrode planes and the average cross-sectional area of the encompassed body portion

Hence:

$$I = (V \cdot S) / (\rho \cdot l), \quad (3)$$

The poles lying on the plane separating contiguous longitudinal pieces of the fish can be reduced to one by addition, and the EO can be represented by a set of poles equal in number to the planes limiting the experimentally studied regions of the fish. This method requires to identify whether there are abrupt transitions in the regional EOD waveform, and to place gap limiting planes at the transition points.

In the case of *G. omarorum*, *G. obscurus* and *A. Albifrons*, the anatomical and electrophysiological analysis indicates that the electrocytes are longitudinally oriented and thus, this analysis suffices for the representation of the EO. In the case of *G. coropinae* [37] the variation of the electrocytes dipoles is not smooth enough and the EO is not oriented along a line. The head portion of the EO is the junction of four linear columns (two lateral and two central) arranged in an arrowhead shape [37]. To model EO complexity in this species, we considered 3 dipoles with a rostral common pole. The other three poles were located behind the opercula and at the abdominal wall. This approach produced similar results to the simulation obtained using a single dipole in the sagittal plane (Figure S9).

Modeling electric images

Modeling of electric images was done using software developed by Diego Rother, advised by R. Budelli [20]. This model has two parts, a geometric reconstruction of the fish's body and a calculation of the transcutaneous field. Some later improvements to the Matlab codes used for geometric reconstruction of the fish's body and data presentation were introduced by Heric Rodriguez (unpublished results) and Juan-Ignacio Sanguinetti-Schek et al. [23].

The model was constructed under the following assumptions: 1) All media are ohmic conductors. This means that the vector representing the current density at the point x ($\mathbf{J}(x)$) is proportional to the vector electric field at the same point ($\mathbf{E}(x)$).

$$\mathbf{J}(x) = \sigma(x) \cdot \mathbf{E}(x), \sigma(x) > 0, \quad (4)$$

The proportionality constant $\sigma(x)$, referred to as "the volumetric conductivity at the point x " is always a positive scalar.

2) There are no capacitive elements. Therefore there is no charge accumulation at any point in space. In mathematical terms the variation of the density of charge ($\rho(x)$) is nil.

$$\delta p(x)/\delta t = 0 \quad (5)$$

3) Given that the dielectric relaxation of the media is in general smaller than the minimum significant period of the EOD Fourier components, the model is an electrostatic approximation [75].

4) The fish and other objects are immersed in an infinite water medium. The shape of the fish body and objects are approximated by an external surface composed by triangles, allowing an approximation of the object shape that is limited only by the computation power available. Every object should be covered by a thin resistive layer (the skin in the case of the fish), which can be homogeneous or heterogeneous in resistance (magnitudes specified as desired).

The model is based directly on the charge density equation which, under our assumptions, implies that the charge generated by the sources ($f(x)$) is equal to the charge diffusion ($\nabla J(x)$):

$$f(x) = \nabla J(x) \quad (6)$$

and therefore

$$\sigma \nabla^2 \phi(x) = \sigma \Delta \phi(x) = f(x), \quad (7)$$

where $\phi(x)$ is the local potential at the point x .

This differential equation, the so-called Poisson equation, can be solved for the fish boundary using the Boundary Element Method applied for wave fish by Assad [76]. Briefly, this method determines the boundary electrical distributions solving a linear system of $2N$ equations for N nodes, where, the unknown variables are the trans-epithelial current densities and potentials that correspond to each node (for a detailed description see [77]). The known variables were the location of the nodes, the location and magnitude of the poles representing the EO inside the fish, the conductance of the internal tissues, the skin and the water. It is important to note that, differently from Assad's method, a set of important constraints of the model were those posed by the electric organ equivalent sources that were experimentally measured using the air gap method. In the first instance, only trans-epithelial current densities and potentials are calculated at the "skin" nodes and these are then linearly interpolated in the triangles defined by the nodes. This allows the calculation of the potentials in the surrounding space.

Supporting Information

Figure S1 Voltages, dipoles and poles for: *G. Obscurus* (top) *G. coropinae* (middle) and *A. albifrons* (bottom). (A) Recorded potential differences through the air gaps. (B) Rostral poles of the dipoles calculated from the recorded potentials, fish resistivities and fish morphology. The diagram between A and B represents the fish in the multiple air gap. Red dots represent the position of the poles in the model. (C) Poles calculated from the dipoles as a function of time. Red vertical line represents the positive peak of the htEOD, the green line indicates the negative peak and the blue line in *G. coropinae* shows the rostral positive peak. (TIF)

Figure S2 Electric potentials generated by the EODs in a horizontal plane. (A) *G. omarorum*: The sequence shows from left to right: the first negative peak, two instants close to the zero crossing of the htEOD between the first negative and the positive

peak, the positive peak, two instants close to the zero crossing of the htEOD between the positive peak and the last negative peak, and the negative peak. (B) *G. coropinae*: three instants before the rostral positive peak, the rostral positive peak, the caudal positive peak, two instants close to the zero crossing between the positive peak and the negative peak, and the negative peak. Black lines indicate the points where the potential is zero. The insets show the htEOD waveform with the selected instants (red dots). (TIF)

Figure S3 Image profiles for spheres of different size facing the fovea. Amplitude image profiles for all the species when either a small (A) or a large (B) sphere faces the fovea at the same distance and when the small sphere faces the fovea at a shorter distance (C). The plot shows the profile for the main components of the EOD. The yellow area indicates the projection of the object on the skin. The inset shows the profile for the entire EOD, normalized by the absolute maximum of each peak. Color coding of the traces: *G. petersii*: negative peak (green), positive peak (blue); *G. omarorum*: first negative peak (red), positive peak, (green), last negative peak (blue); *G. coropinae*: first negative peak (red), positive peak, (green), last negative peak (blue), *G. obscurus*: positive peak (green), negative peak (blue); *A. albifrons*: positive peak (green), negative peak (blue). (TIF)

Figure S4 Images of a sphere at 5 points on the side of *G. petersii*. (A) The diagram shows the relative position of the sphere for each row, when the distance to the longitudinal axis is 2 cm. Each row shows the image profiles for spheres at 2 and 6 cm from the sagittal plane and at different positions along the longitudinal axis shown in the diagram. The plots show the profiles at the peaks of the htEOD waves: positive peak (green) and negative peak (blue). Insets show the superposition of normalized profiles (divided by its maximum absolute value along the EOD). The triangles and squares indicate the fovea and the tail tip respectively in each plot and the yellow area indicates the object projection on the skin. (B) Schematic representation of the localization of the skin section in a lateral view and seen from above, for a sphere placed close to the rostral region. (TIF)

Figure S5 Images of a sphere at 5 points along the side of *G. omarorum*. Scheme and profiles as in Figure S4. The plots show the profiles at the peaks of the htEOD waves: negative peak (red), positive peak (green) and last negative peak (blue). Insets show the superposition of normalized profiles along the EOD. Note that the shapes of the images at the peaks of the waves differ mainly in the 4th line. (TIF)

Figure S6 Images of a sphere at 5 points along the side of *G. obscurus*. Scheme and profiles as in Figure S4. The plots show the profiles at the peaks of the htEOD waves, positive peak (green) and negative peak (blue). Insets show the superposition of normalized profiles along the EOD. Note that the shapes of the images at the peaks of the waves differ mainly in the 3rd line. (TIF)

Figure S7 Images of a sphere at 5 points along the side of *G. coropinae*. Scheme and profiles as in Figure S4. The plots show the profiles at the peaks of the htEOD waves: first negative peak (red), positive peak (green) and last negative peak (blue). Insets show the superposition of normalized profiles along the EOD. Note that the shapes of the images at the peaks of the waves differ mainly in the 4th line. (TIF)

Figure S8 Images of a sphere at 5 points along the side of *A. albifrons*. Scheme and profiles as in Figure S4. The plots show the profiles at the peaks of the htEOD waves: positive peak (green) and negative peak (blue). Insets show the superposition of normalized profiles along the EOD. Note that the shapes of the images at the peaks of the waves differ mainly in the 4th line. (TIF)

Figure S9 Comparison of different models for EOs in *G. coropinae*. Color maps show external potentials calculated using a single dipole (A), two symmetrical dipoles (B) and three symmetrical dipoles (C). (TIF)

References

- Lissmann HW (1958) On the function and evolution of electric organs in fish. *J Exp Biol* 35: 156–191.
- Lissmann HW, Machin KE (1958) The mechanisms of object location in *Gymnarchus Niloticus* and similar fish. *J Exp Biol* 35: 457–486.
- Bullock TH, Chichibu S (1965) Further analysis of sensory coding in electroreceptors of electric fish. *Proc Natl Acad Sci U S A* 54: 422–429.
- Knudsen EI (1975) Spatial aspects of the electric fields generated by weakly electric fish. *J Comp Physiol* 99: 103–118.
- Bastian J (1986) Gain control in the electrosensory system mediated by descending inputs to the electrosensory lateral line lobe. *J Neurosci* 6: 553–562.
- Caputi A, Budelli R (1995) The electric image in weakly electric fish: I. A data-based model of waveform generation in *Gymnotus carapo*. *J Comput Neurosci* 2: 131–147.
- Caputi A, Budelli R, Grant K, Bell C (1998) The electric image in weakly electric fish: II. Physical images of resistive objects in *Gnathonemus petersii*. *J Exp Biol* 201: 2115–2128.
- Budelli R, Caputi A, Gomez L, Rother D, Grant K (2002) The electric image in *Gnathonemus petersii*. *J Physiol Paris* 96: 421–429.
- Engelmann J, Babelo J, Metzen M, Pusch R, Bouton B, et al. (2008) Electric imaging through active electrolocation: implication for the analysis of complex scenes. *Biol Cybern* 98: 519–539.
- Caputi AA, Budelli R (2006) Peripheral electrosensory imaging by weakly electric fish. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 192: 587–600.
- MacIver MA, Sharabash NM, Nelson ME (1999) Prey-capture behavior in gymnotid electric fish: motion analysis and effects of water conductivity. *J Exp Biol* 204: 543–557.
- Rasnow B, Bower JM (1997) Imaging with electricity: How weakly electric fish might perceive objects. London: Plenum Press.
- Assad C, Rasnow B, Stoddard PK (1999) Electric organ discharges and electric images during electrolocation. *J Exp Biol* 202: 1185–1193.
- Rasnow B (1996) The effects of simple objects on the electric field of *Apteronotus leptorhynchus*. *J Comp Physiol A* 178: 397–411.
- Babineau D, Lewis JE, Longtin A (2007) Spatial acuity and prey detection in weakly electric fish. *PLoS Comput Biol* 3: e38.
- Rother D, Migliaro A, Canetti R, Gomez L, Caputi A, et al. (2003) Electric images of two low resistance objects in weakly electric fish. *Biosystems* 71: 169–177.
- Caputi A, Macadar O, Trujillo-Cenóz O (1989) Waveform generation of the electric organ discharge in *Gymnotus carapo*. *J Comp Physiol A* 165: 361–370.
- Trujillo-Cenóz O, Echagüe J (1989) Waveform generation of the electric organ discharge in *Gymnotus carapo*. *Journal of Comparative Physiology A* 165: 343–351.
- Macadar O, Lorenzo D, Velluti J (1989) Waveform generation of the electric organ discharge in *Gymnotus carapo*. *Journal of Comparative Physiology A* 165: 353–360.
- Rother D (2003) Simulation of the Electric Image in Weakly Electric Fish. Montevideo: Universidad de la Republica.
- Migliaro A, Caputi AA, Budelli R (2005) Theoretical analysis of pre-receptor image conditioning in weakly electric fish. *PLoS Comput Biol* 1: 123–131.
- Caputi AA (1999) The electric organ discharge of pulse gymnotiforms: the transformation of a simple impulse into a complex spatio-temporal electromotor pattern. *J Exp Biol* 202: 1229–1241.
- Sanguinetti-Scheck JI, Pedraja EF, Cilleruelo E, Migliaro A, Aguilera P, et al. (2011) Fish geometry and electric organ discharge determine functional organization of the electrosensory epithelium. *PLoS One* 6: e27470.
- Budelli R, Caputi AA (2000) The electric image in weakly electric fish: perception of objects of complex impedance. *J Exp Biol* 203 Pt 3: 481–492.
- Budelli R, Caputi AA (1999) The electric image in weakly electric fish. Physical images of capacitive objects in *Gnathonemus petersii*. *J Exp Biol* 201: 2115–2128.
- von der Emde G, Schwarz S, Gomez L, Budelli R, Grant K (1998) Electric fish measure distance in the dark. *Nature* 395: 890–894.
- Hofmann V, Sanguinetti-Scheck JI, Gomez-Sena L, Engelmann J (2012) From static electric images to electric flow: Towards dynamic perceptual cues in active electroreception. *J Physiol Paris E-pub ahead of print*. doi:10.1016/j.jphysparis.2012.06.003
- Castello ME, Caputi A, Trujillo-Cenóz O (1998) Structural and functional aspects of the fast electrosensory pathway in the electrosensory lateral line lobe of the pulse fish *Gymnotus carapo*. *J Comp Neurol* 401: 549–563.
- Castello ME, Aguilera PA, Trujillo-Cenóz O, Caputi AA (2000) Electroreception in *Gymnotus carapo*: pre-receptor processing and the distribution of electroreceptor types. *J Exp Biol* 203 Pt 21: 3279–3287.
- Aguilera PA, Castello ME, Caputi AA (2001) Electroreception in *Gymnotus carapo*: differences between self-generated and conspecific-generated signal carriers. *J Exp Biol* 204: 185–198.
- von der Emde G, Schwarz S (2000) Three-dimensional analysis of object properties during active electrolocation in mormyrid weakly electric fishes (*Gnathonemus petersii*). *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 355: 1143–1146.
- Babelo J, Engelmann J, Hollmann M, von der Emde G, Grant K (2008) Functional foveae in an electrosensory system. *J Comp Neurol* 511: 342–359.
- von der Emde G, Ringer T (1992) Electrolocation of capacitive objects in four species of pulse-type weakly electric fish. I. Discrimination performance. *Ethology* 91: 326–338.
- Caputi AA, Castello ME, Aguilera P, Trujillo-Cenóz O (2002) Electrolocation and electrocommunication in pulse gymnotids: signal carriers, pre-receptor mechanisms and the electrosensory mosaic. *J Physiol Paris* 96: 493–505.
- Crampton WGR, Albert JS (2006) Evolution of electric signal diversity in gymnotiform fishes. I. Phylogenetic systematics, ecology and biogeography. *Communication in Fishes*: 647–696 and 718–731.
- Rodriguez-Cattaneo A, Aguilera P, Cilleruelo E, Crampton WG, Caputi AA (2013) Electric organ discharge diversity in the genus *Gymnotus*: anatomofunctional groups and electrogenic mechanisms. *J Exp Biol* 216: 1501–1515.
- Castello ME, Rodriguez-Cattaneo A, Aguilera PA, Iribarne L, Pereira AC, et al. (2009) Waveform generation in the weakly electric fish *Gymnotus coropinae* (Hoedeman): the electric organ and the electric organ discharge. *J Exp Biol* 212: 1351–1364.
- Caputi A, Macadar O, Trujillo-Cenóz O (1989) Waveform generation in *Gymnotus carapo*. III. Analysis of the fish body as an electric source. *J Comp Physiol A* 165: 361–370.
- Lorenzo D, Sierra F, Silva A, Macadar O (1990) Spinal mechanisms of electric organ discharge synchronization in *Gymnotus carapo*. *J Comp Physiol A* 167: 447–452.
- Lorenzo D, Sierra F, Silva A, Macadar O (1993) Spatial distribution of the medullary command signal within the electric organ of *Gymnotus carapo*. *J Comp Physiol A* 173: 221–226.
- Caputi A, Aguilera P (1996) A field potential analysis of the electromotor system in *Gymnotus carapo*. *J Comp Physiol A* 179: 827–835.
- Hoshimiya N, Shogen K, Matsuo T, Chichibu S (1980) The *Apteronotus* EOD field: Waveform and EOD field simulation. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* 135: 283–290.
- Rodriguez-Cattaneo A, Pereira AC, Aguilera PA, Crampton WG, Caputi AA (2008) Species-specific diversity of a fixed motor pattern: the electric organ discharge of *Gymnotus*. *PLoS One* 3: e2038.
- Lovejoy NR, Lester K, Crampton WG, Marques FP, Albert JS (2010) Phylogeny, biogeography, and electric signal evolution of Neotropical knifefishes of the genus *Gymnotus* (Osteichthyes: Gymnotidae). *Mol Phylogenet Evol* 54: 278–290.
- Pusch R, von der Emde G, Hollmann M, Babelo J, Nobel S, et al. (2008) Active sensing in a mormyrid fish: electric images and peripheral modifications of the signal carrier give evidence of dual foveation. *J Exp Biol* 211: 921–934.
- MacIver MA, Sharabash NM, Nelson ME (2001) Prey-capture behavior in gymnotid electric fish: motion analysis and effects of water conductivity. *Journal of experimental biology* 204: 543–557.
- Toerring M-J, Moller P (1984) Locomotor and electric displays associated with electrolocation during exploratory behavior in mormyrid fish. *Behavioural brain research* 12: 291–306.

Acknowledgments

We would like to thank Alejo Rodriguez-Cattaneo for his contribution of the data for the *Apteronotus albifrons* EMF and Adriana Migliaro, Laura Quintana and Kirsty Grant for their comments on the manuscript.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: AAC RB. Performed the experiments: FP. Analyzed the data: FP PA AAC RB. Contributed reagents/materials/analysis tools: FP. Wrote the paper: FP PA AAC RB.

48. Toerring M, Belbenoit P (1979) Motor programmes and electroreception in mormyrid fish. *Behav Ecol Sociobiol* 4: 369–379.
49. von der Emde G, Schwarz S (2002) Imaging of objects through active electrolocation in *Gnathonemus petersii*. *J Physiol Paris* 96: 431–444.
50. Pereira AC, Caputi AA (2010) Imaging in electrosensory systems. *Interdiscip Sci* 2: 291–307.
51. Pereira AC, Aguilera P, Caputi AA (2012) The active electrosensory range of *Gymnotus omarorum*. *J Exp Biol* 215: 3266–3280.
52. Push S, Moller P (1979) Spatial aspects of electrolocation in the mormyrid fish, *Gnathonemus petersii*. *J Physiol (Paris)* 75: 355–357.
53. Moller P, Szabo T (1981) Lesions in the nucleus mesencephali extrolateralis: Effects on electrocommunication in the mormyrid fish *Gnathonemus petersii* (Mormyridiformes). *Journal of comparative physiology* 144: 327–333.
54. Moller P (1995) Electric fishes: history and behavior: Chapman & Hall London.
55. Caputi AA, Aguilera PA, Carolina Pereira A, Rodriguez-Cattaneo A (2013) On the haptic nature of the active electric sense of fish. *Brain Res* 1536: 27–43.
56. Caputi AA, Aguilera PA, Pereira AC (2011) Active electric imaging: body-object interplay and object's "electric texture". *PLoS One* 6: e22793.
57. von der Emde G (1990) Discrimination of objects through electrolocation in the weakly electric fish, *Gnathonemus petersii*. *J Comp Physiol A* 167: 413–421.
58. Harlan Meyer J (1982) Behavioral responses of weakly electric fish to complex impedances. *Journal of comparative physiology* 145: 459–470.
59. Aguilera PA, Caputi AA (2003) Electroreception in *G. carapo*: detection of changes in waveform of the electrosensory signals. *J Exp Biol* 206: 989–998.
60. Bell CC (1990) Mormyromast electroreceptor organs and their afferent fibers in mormyrid fish. III. Physiological differences between two morphological types of fibers. *J Neurophysiol* 63: 319–332.
61. von der Emde G, Bell CC (1994) Responses of cells in the mormyrid electrosensory lobe to EODs with distorted waveforms: implications for capacitance detection. *J Comp Physiol A* 175: 83–93.
62. Bastian J (1976) Frequency response characteristics of electroreceptors in weakly electric fish (Gymnotidae) with a pulse discharge. *J Comp Physiol A* 165–180.
63. Watson D, Bastian J (1979) Frequency response characteristics of electroreceptors in the weakly electric fish, *Gymnotus carapo*. *Journal of comparative physiology* 134: 191–202.
64. Cilleruelo ER, Caputi AA (2012) Encoding electric signals by *Gymnotus omarorum*: heuristic modeling of tuberous electroreceptor organs. *Brain Res* 1434: 102–114.
65. Yager DD, Hopkins CD (1993) Directional characteristics of tuberous electroreceptors in the weakly electric fish, *Hypopomus* (Gymnotiformes). *J Comp Physiol A* 173: 401–414.
66. Scheich H, Bullock T H. (1974) The Detection of Electric Fields from Electric Organs; Fesand A, editor. Berlin: Springer-Verlag.
67. von der Emde G, Ronacher B (1994) Perception of electric properties of objects in weakly electric fish: two-dimensional similarity scaling reveals a City-Block metric. *J Comp Physiol A* 175: 801–812.
68. Gomez L, Budelli R, Grant K, Caputi AA (2004) Pre-receptor profile of sensory images and primary afferent neuronal representation in the mormyrid electrosensory system. *J Exp Biol* 207: 2443–2453.
69. Caputi A, Macadar O, Trujillo-Cenóz O (1994) Waveform generation in *Rhamphichthys rostratus* (L.) (Teleostei, Gymnotiformes). *Journal of Comparative Physiology A* 174: 633–642.
70. Crampton WG, Rodríguez-Cattáneo A, Lovejoy NR, Caputi AA (2013) Proximate and ultimate causes of signal diversity in the electric fish *Gymnotus*. *J Exp Biol* 2523–2541.
71. Caputi AA, Silva AC, Macadar O (1998) The electric organ discharge of *Brachyhypopomus pinnicaudatus*. The effects of environmental variables on waveform generation. *Brain Behav Evol* 52: 148–158.
72. Silva A, Perrone R, Macadar O (2007) Environmental, seasonal, and social modulations of basal activity in a weakly electric fish. *Physiol Behav* 90: 525–536.
73. Stoddard PK (1999) Predation enhances complexity in the evolution of electric fish signals. *Nature* 400: 254–256.
74. Caputi A, Silva A, Macadar O (1993) Electric organ activation in *Gymnotus carapo*: Spinal origin and peripheral mechanisms. *J Comp Physiol A* 173: 227–232.
75. Bacher M (1983) A new method for the simulation of electric fields, generated by electric fish, and their distortions by objects. *Biol Cybern* 47: 51–58.
76. Assad C (1997) Electric field maps and boundary element simulations of electrolocation in weakly electric fish. Pasadena, California: California Institute of Technology.
77. Hunter P, Pullan A (2002) FEM/BEM NOTES. lola.unimo.it/~fonda/DISPENSA_Tb_html/Programma/Prog_TB_4/Dipolo/fembemnotes.pdf.