



FACULTAD DE
CIENCIAS
UDELAR | fciencias.edu.uy



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



AGENCIA NACIONAL
DE INVESTIGACIÓN
E INNOVACIÓN

Caracterización de la conducta exploratoria frente a estímulos de diferentes valencias en peces eléctricos de descarga débil

Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas subárea
Neurociencias

Lic. Valentina Gascue

Orientadores: Dra. Adriana Migliaro y Dr. Federico
Pedraja

Índice

Agradecimientos	2
Introducción	3
La exploración y la información	4
Integración sensoriomotora	5
El momento del día como variable transversal	8
Peces eléctricos de descarga débil como modelo	9
<i>Gnathonemus petersii</i>	12
<i>Gymnotus omarorum</i>	14
Hipótesis, objetivos y resultados esperados	15
Materiales y métodos	17
Animales	17
Diseño experimental	18
Registros	22
Análisis	22
Capítulo 1	27
Punto de partida y objetivos	27
Resultados	27
Discusión	44
Capítulo 2	48
Punto de partida y objetivos	48
Resultados	48
Discusión	55
Conclusiones	56
Referencias	57
ANEXO	67

Agradecimientos

A Fede y Adri por la orientación, las ideas y consejos en todas las etapas de esta tesis. Gracias por guiarme al probar cada análisis y hacer andar cada experimento, y estar ahí para motivarme cuando parecía que nada funcionaba. Gracias también a todos los integrantes de la Unidad Bases Neurales de la Conducta por el apoyo científico y afectivo, no imagino un mejor grupo con quienes trabajar.

A Juani y a Sabri, el público y crítica inicial de cada figura en proceso. Gracias por estar siempre para estudiar, ver datos, tomar café y apoyarnos emocionalmente. Espero volvamos a coincidir en nuestras carreras, de cualquier manera, de esta maestría me llevo amigos para la vida.

A mi familia por el apoyo desde siempre, sin el que no podría haber llegado hasta acá. A Joaquin, que a pesar de la distancia estuvo siempre, en las victorias y en los momentos de estrés. Y, por último, a mis amigas que siempre han estado para escuchado hablar de peces eléctricos y para aconsejarme y bancarme siempre que lo necesité.

Introducción

El comportamiento animal involucra una constante toma de decisiones. Entendiendo “*decisiones*” no necesariamente como resultado de un proceso cognitivo, sino como la elección de un comportamiento sobre otras opciones en el repertorio conductual del individuo (Westneat, 2010). Bajo esta definición, los procesos fisiológicos que den lugar a esta decisión pueden ser muy variados (endocrinos, neurales, cognitivos) y han de estar modulados por variables ambientales extra- e intraindividuales. En este sentido, el comportamiento de un individuo será dictado por la integración de información de su historia de vida, estado interno y entorno (Lee, 2013).

Al igual que otros fenotipos, los comportamientos que componen el repertorio conductual de un individuo han sido seleccionados a lo largo de la historia evolutiva de la especie (Lorenz, 1958). Sin embargo, para aumentar la probabilidad de un individuo de sobrevivir y reproducirse no es suficiente con contar con un determinado comportamiento en su repertorio conductual. Se necesitan también mecanismos relevantes para efectuar diferentes comportamientos en contextos apropiados. En este sentido, podemos hablar de estrategias para la elección de comportamientos que maximizan el éxito reproductivo, y por ende han sido seleccionadas por la selección natural y/o la selección sexual (Westneat, 2010).

Un ejemplo claro de estos mecanismos es la caza de insectos por parte de las aves de la familia *Apodidae*. Cuando hay buen tiempo, el hábitat de estas aves tiene mayor variedad de insectos disponibles y estas consumen prioritariamente insectos de mayor tamaño cuyo rendimiento energético es mayor (Lack, 1956). Sin embargo, cuando hay mal tiempo la disponibilidad de insectos disminuye y el ave no se encuentra en condiciones de elegir insectos de mayor tamaño para consumir, y ha de consumir lo que haya disponible (Lack, 1956). Para la toma de esta decisión debe haber sistemas que integren información del tiempo, del estado de las reservas energéticas del individuo, así como de la presencia de fuentes de alimentación de diferentes rendimientos energéticos. Esta información obtenida debe ser traducida en ejecutar el comportamiento apropiado: evitar insectos pequeños y atrapar insectos grandes cuando el tiempo es bueno y atrapar insectos pequeños cuando el tiempo es malo. Si bien el consumo de ambos tipos de insectos es parte del repertorio conductual del ave, saber diferenciar cuándo ejecutar uno u otro puede significar la supervivencia cuando la abundancia de insectos grandes está disminuida durante el mal tiempo.

En este ejemplo la decisión es clara: a menor posibilidad de obtener un alimento de mayor valor energético se elige consumir lo disponible. En otros contextos, sin embargo, la decisión que debe tomar el individuo no es tan directa ya que los posibles caminos a

seguir proveen ventajas en ciertos aspectos y desventajas en otros. En estos casos hablamos de compensaciones entre comportamientos, donde las relaciones costo beneficio de los posibles caminos a seguir toman mayor complejidad. Por ejemplo, la compensación entre el cuidado del territorio y el forrajeo. Estos dos comportamientos son por naturaleza excluyentes ya que el forrajeo requiere salir del territorio de residencia del individuo. Por ende, el tiempo dedicado al forrajeo es tiempo que no se puede dedicar a la vigilancia del territorio.

Esta compensación fue estudiada por Ydenberg y colaboradores en 1987 para el carbonero común (Ydenberg y cols., 1987). En este artículo, los autores estudian cómo se relacionan los tiempos de forrajeo y de mantenimiento en la residencia bajo la presencia de un intruso. En base a sus resultados experimentales, proponen un modelo de optimización del tiempo dedicado al forrajeo y a la defensa del territorio. Según este modelo, la estrategia óptima para el ave es pasar más tiempo forrajeando que en el territorio cuando tiene hambre y mayor tiempo defendiendo el territorio cuando está saciado. De forma interesante, el modelo propuesto predice que, a mayor riesgo de perder el territorio, los individuos han de dedicar menos tiempo forrajeando y más tiempo vigilando la residencia. Este cambio de estrategia supone un cambio en la importancia relativa del estado interno (hambre) y el estado externo (intrusos) según el contexto. Para conseguir modular el tiempo de forrajeo y defensa, el carbonero común ha de contar con mecanismos capaces de integrar la información interna y externa del individuo, y ejecutar en base a esto comportamientos apropiados al contexto.

Esta tesis se basa en este marco conceptual general como punto de partida para caracterizar estrategias para la obtención de información del entorno y cómo esta información interactúa con el repertorio conductual del individuo. En las siguientes secciones se definen conceptos empleados en esta tesis -como la exploración, la información y la integración sensoriomotora-; y se presentan los modelos de estudio utilizados.

La exploración y la información

En un ambiente variable, que cambia constantemente, los organismos pueden beneficiarse de su experiencia previa para seleccionar unidades conductuales a partir de un repertorio existente. Sin embargo, la experiencia por sí sola no es suficiente para tomar esta decisión, sino que es necesario tener cierto conocimiento de las condiciones reales del mundo exterior. Surgen así los conceptos de *información personal* e *información social* de un individuo. Estos refieren a información obtenida del entorno directamente a través de interacciones con el mismo -información personal- o a través de la interacción con conespecíficos que previamente obtuvieron información del entorno -información social- (Dall y cols, 2005). Es decir, la información que tiene un individuo del

ambiente puede ser obtenida mediante interacciones directas que mantenga con el mismo o de forma indirecta a través de interacciones con conespecíficos que le brinden información sobre el mismo.

La exploración se enmarca en esta teoría como un proceso activo de búsqueda de información personal para el individuo (Dudchenko y Wallace, 2018). De esta forma, podemos pensar a la exploración como un proceso que busca la reducción de la incertidumbre sobre el ambiente del individuo (Reader, 2015). De igual manera, ciertas interacciones con conespecíficos pueden a su vez reducir la incertidumbre mediante el intercambio de información (Dachin et al., 2004).

En este contexto, la principal función de los sistemas sensoriales es proveer al individuo de información precisa y suficiente para la correcta navegación del entorno. Con esta finalidad, los sistemas sensoriales tenderán a optimizar la proporción de la información disponible para el individuo que se termina procesando (Linsker, 1994). Es oportuno notar, sin embargo, que más información no siempre es algo beneficioso y por ende existen mecanismos de filtro para priorizar aquella información más relevante en un determinado momento (Warrant, 2016).

Durante la exploración, la optimización de la información adquirida requiere de una íntima interacción entre los sistemas sensoriales y motores, la cual podemos definir en términos generales como integración sensorio motora. Esta integración se puede dar a diferentes niveles, entre los cuales se incluye la navegación del entorno guiada por la información obtenida del mismo (Borde y cols., 2004).

Integración sensoriomotora

La integración sensoriomotora se engloba de forma general en el concepto de "*sensado activo*". En su definición clásica, el sensado activo involucra la producción y emisión de energía por parte de los organismos, que sirve como fuente portadora modificada por estímulos ambientales (Hoffman y cols., 2013). Siguiendo esta definición, los sistemas activos se distinguen de los sistemas pasivos, donde la energía portadora proviene del entorno del individuo. En la visión, por ejemplo, la energía portadora es la energía lumínica natural o artificial, y por ende esta modalidad sensorial se considera pasiva bajo la definición antes mencionada.

Los sistemas responsables por un sensado activo suponen un importante gasto energético para el individuo. No es sorprendente, entonces, que su uso se encuentre ampliamente controlado. A diferencia de sistemas pasivos, donde se da un sensado pseudo continuo, estos sistemas deben decidir cuándo invertir energía en sensar y por cuánto tiempo.

Un ejemplo de esta regulación lo encontramos en la ecolocalización empleada por murciélagos. Este sistema implica la emisión de vocalizaciones a diferentes bandas de frecuencia, las cuales “rebotan” en objetos del entorno, volviendo así al sistema auditivo del individuo. La señal que regresa ha sido modificada por el objeto sobre el cual se refleja y este cambio es interpretado por el sistema auditivo que codifica atributos del objeto como su tamaño y posición (Ulanovsky y Moss, 2008). De esta forma, modulaciones en la temporalidad de la emisión de estas vocalizaciones (su frecuencia) y en el ancho de banda de las mismas, regulan la discriminación en este canal sensorial (Schnitzler y cols., 1968). Digamos que un murciélago se propone detectar y cazar una presa con este sistema. Con esta finalidad, generará una representación acústica de su entorno, para lo cual podría emplear diferentes estrategias. La estrategia trivial sería emitir vocalizaciones constantemente y en todas direcciones para generar una detallada imagen de su entorno. Sin embargo, esta estrategia es muy costosa desde el punto de vista energético para un animal que se encuentra en movimiento, volando usualmente a aproximadamente 10 m/s (Ulanovsky y Moss, 2008).

Alternativamente, la estrategia que emplean los murciélagos para cazar a sus presas consiste en una secuencia ordenada de comportamiento locomotor y emisiones de vocalizaciones. Esta secuencia implica tres fases: búsqueda, acercamiento y una fase terminal de “buzz” (Simmons y cols., 1979). Al acercarse al objetivo, la duración e intensidad de las vocalizaciones disminuye, a la vez que el ancho de banda aumenta (Schnitzler y cols., 1983). A su vez, en las etapas finales se da una reorientación del foco auditivo centrado en la presa (Yovel y cols., 2010). Estas modulaciones optimizan la detección en la fase de búsqueda, la localización en la fase de acercamiento y la captura en la fase terminal. De esta manera, el animal es capaz de llevar a cabo tres actos motores distintos guiados por modulaciones de la información sensorial que recibe en su sistema auditivo.

Es importante notar que la actividad motora es, a su vez, capaz de modificar la información sensorial percibida. Por un lado, mediante la reorientación de la superficie sensorial para optimizar la información capturada por los receptores (MacIver y cols., 2010; Caputi, 2004). Por otro, mediante el uso de señales neurales que resultan del movimiento del individuo, lo cual ha sido denominado reaferencia (von Holst y Mittelstaedt, 1950; Sperry, 1950). Estos dos procesos son complementarios, ya que la reorientación de la superficie sensorial sin reaferencia puede dar lugar a errores en la imagen neural generada.

En casos como el del murciélago, el movimiento del animal puede generar ruido en la información que llega a los receptores. Tener una copia del movimiento que se ejecuta le provee al sistema nervioso distinguir las señales externas (exaferentes) de aquellas generadas por el propio movimiento de los receptores.

De esta forma, gracias a la reaferencia, los organismos son capaces de utilizar el movimiento para optimizar el sensado. Esta es la otra cara del sensado activo, una estrategia sensoriomotora en la cual el acto motor se encuentra al servicio de la percepción (Gibson, 1962; Grant y cols., 2009; Longden y Krapp, 2011). En este sentido, el término “sensado activo” también se ha utilizado para referir a movimientos que condicionan la señal sensorial o reorientan la superficie sensorial (Caputi, 2004; Caputi y Budelli 2006). En este caso, la energía portadora no tiene que ser generada por el propio individuo. Otro ejemplo que ilustra claramente este tipo de integración sensoriomotora son los escaneos visuales a través de movimientos oculares. Cuando observamos algo lo escaneamos a través de movimientos oculares que centran diferentes regiones del estímulo en la fovea del campo visual (Gegenfurtner, 2016). De no ser corregidos, estos movimientos oculares generan una ilusión de movimiento en la imagen neural generada, ya que el movimiento ocular “mueve” los objetos que enfoca con respecto al observador. Sin embargo, la reaferencia proveniente de los músculos faciales que controlan el movimiento ocular le indica al cerebro que lo que se está moviendo es el ojo y no la imagen (Bridgeman, 1995).

La idea general detrás de la integración sensoriomotora a este nivel es la siguiente: el individuo genera modelos de su entorno a partir de la información exaferente, cualquier movimiento que realice generará una reaferencia que será contrastada con las predicciones que surgen del modelo y, si hay una discordancia entre la predicción y la nueva información exaferente, el modelo se actualiza. De esta manera, se guía la acción futura y moldea la información recibida en un modelo del entorno útil para las necesidades del individuo en un momento dado.

La ecolocalización es, a su vez, un ejemplo de la otra faceta de la reaferencia: solucionar ambigüedades en la información recibida. En el ejemplo, las vocalizaciones que emiten los murciélagos no son reflejadas de forma intacta, sino que vienen mezcladas con ruido exterior, incluyendo similares vocalizaciones de otros murciélagos. En este sentido, reconocer qué información proviene de sus vocalizaciones y qué información es externa es de central importancia para la correcta detección, localización y captura de su presa. La ambigüedad en la información recibida es un problema que deben resolver todas las especies que manipulan la energía portadora de la modalidad sensorial. Más adelante en esta tesis veremos un caso particular de esto en peces eléctricos de descarga débil.

En general, los aspectos sensoriales y motores son difíciles de discernir. En este sentido, conviene pensar en la relación percepción-acción representada en unidades comportamentales en lugar de unidades sensoriales por un lado y unidades motoras por otro. El uso de estas unidades comportamentales será modulado por variables ambientales y el estado interno del individuo. Algunas claves del entorno serán

particularmente relevantes a la hora de estudiar la organización temporal del comportamiento de un individuo o especie. En esta tesis nos interesa particularmente la luz como variable ambiental y su rol en la modulación de ciclos de actividad y reposo. La siguiente subsección contempla los antecedentes principales en este tema sobre los cuales se basa el diseño experimental y análisis utilizados en esta tesis.

El momento del día como variable transversal

Ciertas variables clave del entorno afectarán de forma transversal la selección de comportamientos en un momento dado. Ejemplos de estas variables son la presencia de conespecíficos, la disponibilidad de alimento y la temperatura. En esta tesis nos enfocamos en la luz como variable transversal, particularmente el momento del día. Es decir, en los ritmos endógenos de actividad durante el día y la noche, guiados por ciclos de luz ambiental.

Los movimientos de la Tierra alrededor del sol generan ciclos de luz y oscuridad, que impactan tanto variables bióticas como abióticas, como la temperatura y la disponibilidad de alimento. La existencia de estos ciclos ha significado una importante presión evolutiva favorable a la existencia de sistemas capaces de anticipar dichos cambios. En ese sentido, los ritmos endógenos permiten a los organismos sincronizar su fisiología, metabolismo y comportamiento con estos ciclos ambientales, aumentando su supervivencia y éxito reproductivo (ver revisión, Jabbur y cols, 2024).

Los ritmos circadianos, de aproximadamente 24 horas, son un ejemplo de estos ciclos endógenos. Persisten incluso sin señales externas, ya que son regulados por relojes biológicos endógenos. Estos relojes biológicos presentes en la vasta mayoría de los organismos (Ishida y cols., 1999; Bhadra y cols., 2017), tienen componentes que reciben información ambiental, generan ritmos internos, y coordinan respuestas a través de vías eferentes.

La luz es la principal señal ambiental capaz de sincronizar los ritmos circadianos (Pittendrigh, 1981; Roenneberg y Foster, 1997). De forma general, el fotoperíodo entrena los ritmos endógenos. En el caso particular de esta tesis, es de importante relevancia la modulación de ritmos de actividad y reposo por parte de la luz ambiente. En base a los hábitos de actividad y reposo de una especie la podemos clasificar como nocturna o diurna (ej. ver Refinetti, 2006; Novak y cols, 2000). Como su nombre sugiere, aquellas especies que ubiquen su periodo de actividad en la noche serán nocturnas y diurnas en el caso contrario. Un tercer grupo puede ser definido, las especies crepusculares, cuya actividad se reparte en dos picos de actividad en momentos distintos del día, separados por periodos de reposo. Ejemplos de este tercer grupo son algunas especies de

mamíferos, como el gato doméstico y algunos murciélagos (Merčnik y cols, 2023; Chase y cols, 1991).

La presencia de preferencias sobre ciertas horas del día donde llevar a cabo ciertas actividades es una variable central a la hora de estudiar la organización espaciotemporal del comportamiento. Estas preferencias no solo determinan momentos de mayor actividad y alerta del animal, sino que también pueden determinar inhibiciones de ciertos comportamientos en los momentos menos preferidos o de reposo. Particularmente, la luz es una señal aversiva para muchos animales nocturnos, que presentan diferentes estrategias para evitarla (ej. Godsil y cols, 2004; Newcomb y cols, 2006; Camargo y cols., 2023). La presencia de luz, por ejemplo, modula respuestas de estrés bajo protocolos de miedo aprendido en ratón (Warthen y cols., 2011).

En este contexto, en esta tesis se evalúa el efecto de la luz ambiente y el momento del día sobre la organización temporal del comportamiento exploratorio frente a diferentes estímulos. Para esto, se emplean como modelo los peces eléctricos de descarga débil, cuyas particularidades se describen a continuación.

Peces eléctricos de descarga débil como modelo

Dado el ambiente conductivo del agua, muchas especies acuáticas han desarrollado la electrorrecepción como modalidad sensorial. Esta modalidad sensorial permite a las especies que la poseen detectar campos eléctricos generados por otros organismos y/o objetos de su entorno. En este contexto, todos los animales acuáticos generan campos eléctricos en su entorno gracias a diversos factores, como la diferencia de conductividad de su propio cuerpo y la del agua y las corrientes propias de la actividad muscular (Kalmijn, 1974). Los tiburones, por ejemplo, son capaces de detectar los campos generados por sus presas y utilizarlos para capturarlas, priorizando esta información sensorial sobre otras señales como los odorantes emitidos por las presas (Kalmijn, 1971).

Otros peces, a diferencia de los tiburones, pueden tanto recibir señales eléctricas (electrorrecepción) como emitirlas (electrogénicidad). Podemos clasificar a los peces electrogénicos según la intensidad de las señales que emiten en peces eléctricos de descarga fuerte y peces eléctricos de descarga débil (Caputi y cols., 2005). La anguila eléctrica (*Electrophorus electricus*) es un ejemplo de pez eléctrico de descarga fuerte, donde la energía eléctrica generada se utiliza como arma para la captura de presas (Bauer, 1979).

En esta tesis nos centraremos en los peces eléctricos de descarga débil, cuyas emisiones eléctricas son de menor amplitud y cumplen funciones tanto sensoriales como

comunicacionales (Bennet y cols., 1967; Heiligenberg y cols., 1981; Caputi y cols., 1998; Hopkins y cols., 1974; Perrone y cols., 2009; Crampton, 2019).

Los peces eléctricos de descarga débil pertenecen a dos familias evolutivas: *Mormiridae* y *Gymnotidae*, nativas de África y Sudamérica, respectivamente (Moller y cols., 1995). Ambos grupos se caracterizan por la emisión constante de una corriente eléctrica de baja amplitud, generada por un órgano especializado llamado órgano eléctrico (OE) (Bennet y cols., 1971). Este OE está compuesto generalmente por células musculares modificadas (electrocitos), aunque electrocitos de origen neurogénico fueron descritos en la subfamilia *Apteronotidae* de los peces eléctricos sudamericanos (Waxman y cols., 1972). La distribución de los electrocitos, así como su inervación, varía entre las dos familias y entre especies (Caputi y cols., 2005). Mientras que el OE de los Mormiriformes está confinado a la región posterior del pez, el OE de los Gymnotiformes se extiende a lo largo de todo el eje anteroposterior (Caputi y cols., 2005). La forma de onda de la descarga generada por el órgano eléctrico (DOE) depende, a su vez, de la inervación y del patrón de activación de los electrocitos que componen el OE. La forma de onda de la DOE es, por lo tanto, específica de la especie y codifica información sobre el sexo y el estado fisiológico del pez (Bennet y cols., 1971; Silva y cols., 2002; Hopkins y cols., 1990).

Por otro lado, la frecuencia basal de descarga del órgano eléctrico (FB-DOE) así como su forma de onda, distinguen dos tipos de peces eléctricos de descarga débil: peces de onda, que emiten DOE de forma continua, y de pulso, que emiten DOE seguidas de silencios cuya duración es modulable (Hopkins, 1974).

En términos generales, la percepción en el sistema eléctrico surge de una interacción dinámica entre el individuo y el ambiente. Particularmente, los peces eléctricos de descarga débil son capaces de modular su FB-DOE para incrementar o disminuir la velocidad de muestreo de información ambiental. Este tipo de electrorrecepción se conoce como electrorrecepción activa, en contraposición con la electrorrecepción pasiva, como la discutida en el caso de los tiburones y otros peces no electrogénicos. Es importante notar que los peces eléctricos de descarga débil son capaces de utilizar tanto electrorrecepción activa como pasiva (Bennet, 1971). Sin embargo, la electrorrecepción pasiva en estos peces incluye electrorrecepción de baja y alta frecuencia. La electrorrecepción de baja frecuencia es análoga a la mencionada para animales electrorreceptivos e implica el sensado de señales eléctricas que ocurren naturalmente en su entorno. Por otro lado, la electrorrecepción pasiva de alta frecuencia permite la detección de señales eléctricas generadas por conoespecíficos. Dadas las capacidades disipativas de corriente del agua, la electrorrecepción activa es una modalidad sensorial de corto rango, permitiendo al individuo sensar en una “burbuja” de algunos centímetros en el entorno cercano de su cuerpo (Pereira y cols., 2012; Caputi y cols., 2013). Sin

embargo, la electrorrecepción pasiva, particularmente la de alta frecuencia, involucra rangos mayores (Pedraja y cols., 2014; Pereira y cols., 2012; Toerring y Moller, 1984).

El sistema de electrorrecepción activa posee varias similitudes con la ecolocalización mencionada anteriormente. De hecho, una de las funciones del sistema eléctrico ha sido denominada electrolocación y refiere a la discriminación de objetos en el entorno del pez mediante el uso de las señales eléctricas emitidas (Bullock y cols., 2006). Los peces eléctricos de descarga débil generan un campo eléctrico en el entorno cercano de su cuerpo, el cual es perturbado por objetos del entorno con conductividades distintas a la del agua. Dichas perturbaciones son sensadas posteriormente por electrorreceptores ubicados en la piel del animal (Bennet y cols, 1971). En este sentido, la capacidad de discriminación de perturbaciones del campo eléctrico generado por la DOE puede ser mejorada mediante aceleraciones de la FB-DOE.

Se han descrito varios mecanismos relacionados a incrementos de la FB-DOE, lo cual aumenta el muestreo de información del entorno. Por un lado, las “respuestas de novedad” frente a estímulos novedosos en varias especies de peces eléctricos de descarga débil (ej. Post y von der Emde, 1999; Hopkins 1988; Barrio y cols, 1991; Grau y Bastian, 1986). Estas respuestas de novedad implican aumentos transitorios de la FB-DOE en respuesta al estímulo novedoso. Más recientemente, se ha demostrado la existencia de incrementos en la FB-DOE que anticipan estímulos novedosos (“E-scans”) en lugares conocidos donde previamente se experimentó un determinado estímulo (Jun et. al, 2016).

Al igual que en el caso del murciélago, de este sistema surge el problema de la ambigüedad en la información reaférente y exaférente. En este caso particular, el pez debe poder distinguir entre las señales ambientales y las señales autogeneradas que reciben por los mismos canales sensoriales. Este problema cobra doble importancia en este sistema, ya que la DOE no solo cumple un rol perceptual sino también un rol comunicacional. En este sentido, distinguir la señal autogenerada de la ambiental supone una correcta discriminación tanto de estímulos físicos (bióticos o abióticos) como de estímulos comunicacionales (las DOEs de conoespecíficos).

Existen diferentes estrategias para resolver este problema. Por un lado, los *Mormyriiformes* presentan un mecanismo neural conocido como “descarga corolario”, que implica una señal interna generada en los centros motores que comandan la DOE y que afecta el procesamiento sensorial (Bell, 1989; Crape y Sommer, 2008; Straka y cols., 2018; Fukutomi y Carlson, 2020). Este mecanismo permite directamente contrastar la señal emitida por el OE de la externa. Por otro lado, en *Gymnotus omarorum* se describió otro mecanismo con la misma finalidad: la “ventana de baja respuesta” de la vía rápida electrosensorial (Castelló M y cols, 1998). Este mecanismo implica la

activación de neuronas esféricas del lóbulo electrosensorial que genera la activación de una corriente de bajo umbral de K^+ que, a su vez, genera un período refractario largo que bloquea siguientes respuestas (Nogueira y Caputi, 2011).

En cuanto al rol comunicacional encontramos que, en conjunto con estos mecanismos neurales, existen estrategias conductuales que evitan la interferencia de señales. Una de estas estrategias es la “*Jamming avoidance response*” (JAR) que tiende a desfasar las DOE de un individuo de la de otros conespecíficos en el entorno (Heiligenberg, 1981). Esto se lleva a cabo mediante aceleraciones y desaceleraciones de la FB-DOE en respuesta a una señal de un conespecífico. Este mecanismo ha sido descrito tanto para *Mormiriformes* como para *Gymnotiformes*.

En esta tesis se utilizaron como modelo de conducta exploratoria dos especies de peces eléctricos de descarga débil, una perteneciente a la familia *Mormiridae* y una perteneciente a *Gymnotidae*, cuyas particularidades se discuten en las siguientes subsecciones.

Gnathonemus petersii

Gnathonemus petersii es un pez eléctrico de descarga débil originario de África, perteneciente a la familia *Mormiridae*. *G. petersii* es una especie campeona para el estudio de estrategias sensoriomotoras y comportamiento exploratorio por diversas razones.

Por un lado, es capaz de modular la FB-DOE según el contexto y presenta respuestas de novedad ante diferentes tipos de estímulos (Post y von der Emde, 1999; Caputi y cols., 2003). A su vez, el movimiento del animal es capaz de generar cambios en el campo eléctrico del mismo (Sawtell y cols., 2006). Estos cambios son percibidos por receptores en la piel del animal, como mencionamos anteriormente. *G. petersii* es capaz de discriminar estos cambios en el campo eléctrico que genera mediante un complejo circuito que segrega las señales exaferentes de las reaferentes (Sawtell y cols., 2005; Bell y cols., 2008).

Por otro lado, se han descrito comportamientos estereotipados reclutados al explorar objetos en el entorno de esta especie (Toerring y Belbenoit, 1979; Toerring y Moller, 1984; Nelson y Maciver, 1999; Hofmann y cols., 2014). A su vez, la relevancia funcional de estos comportamientos estereotipados se ha demostrado en estudios recientes (Hofmann y cols., 2017; Pedraja y cols., 2018; Pedraja y cols., 2020).

Al igual que en otras especies de peces eléctricos de descarga débil, la función de la DOE para esta especie se compone de tres subsistemas: electrocomunicación, electrolocación activa y electrolocación pasiva; cuyas bases circuitales se conocen (Bell, 1989). Sin embargo, las interacciones entre estas funciones no han sido exploradas. Particularmente, el rol de la electrocomunicación en el desarrollo de conductas sociales ha sido poco estudiada. Moller y cols. (1982) estudiaron el rol de dos modalidades sensoriales, la DOE y la visión, en la cohesión de grupo y desarrollo de conductas sociales. En este artículo utilizan, entre otros estímulos, individuos pertenecientes a *G. petersii* silenciados quirúrgicamente, de forma que no pueden emitir DOEs. Frente a estos individuos silenciados, el pez de estudio (intacto) presenta una menor “atracción social” en comparación con la que presenta frente a individuos intactos. Esta atracción social es medida como el tiempo que el animal se encuentra en el entorno de uno u otro estímulo. Estos resultados sugieren un rol de las señales emitidas por el OE en la valencia del estímulo biótico, siendo un individuo que descarga más “interesante” que uno que no lo hace.

Aparte de esta referencia, poco se conoce sobre las conductas sociales de esta especie y el rol de la DOE como canal de electrocomunicación. De forma general, se han descrito los efectos de ciertas conductas - interacciones agonísticas, cortejo - sobre la DOE (Kramer y Bauer, 1976; Crockett, 1986; Kramer, 1990; Terleph y Moller, 2003); así como la respuesta a señales aisladas (playback) de conespecíficos (Kramer, 1979).

El punto de partida de esta tesis involucra el desbalance de evidencia entre la función sensorial y social de la DOE. Dado dicho desbalance, no es sorprendente que la interacción entre estas dos funciones no haya sido explorada. Tal es el caso, que hasta hace poco no se conocía que esta especie es capaz de aumentar su rango de electrolocación utilizando las señales de conespecíficos (Pedraja y Sawtell, 2024).

Basados en la evidencia presentada, esta tesis se propone describir estrategias electromotoras para la exploración de estímulos de diferentes valencias, particularmente la relevancia de señales sociales en la organización del comportamiento exploratorio. En este sentido se contrasta la respuesta ante estímulos abióticos, de la cual mucho se conoce, con la respuesta ante estímulos sociales “completos” y estímulos sociales no eléctricos, como los utilizados en el artículo de Moller y cols (1982). En este marco, el capítulo 1 de esta tesis explora la respuesta electromotora a estos tres tipos de estímulos, enfocados en la organización espaciotemporal de esta respuesta en un individuo que se encuentra en libre movimiento y donde los estímulos son presentados en un contexto natural.

Gymnotus omarorum

Gymnotus omarorum (de Forges y cols., 2009) es un pez eléctrico de descarga débil de pulso que se distribuye de forma uniforme en Uruguay (30–35°S) (Silva y cols., 2003). Habita bajo matas densas de vegetación macrófita, con alto potencial para bloquear el pasaje de luz solar (Migliaro y cols., 2018).

Es un animal territorial que emite DOEs alrededor de 25 Hz a 20°C de temperatura (de Forges y cols., 2009). En un registro “cabeza-cola” (con un electrodo registrando a cada extremo rostro-caudal del animal) su forma de onda consta de 4 fases: V1, V2, V3, V4.

Tal como muchos otros de su grupo, *G. omarorum* presenta un aumento de la FB- DOE nocturno que sigue un ritmo circadiano (Migliaro y cols., 2018) ya que persiste en condiciones de libre curso. Este ritmo circadiano de conducta eléctrica se puede reproducir en el laboratorio con la inyección de melatonina durante el día (Migliaro, 2018). A su vez, la luz ejerce un efecto inhibitorio de aceleraciones transitorias de la FB- DOE (Camargo y cols., 2023).

G. omarorum es un reproductor estacional que presenta conductas agresivas intra e intersexuales dentro y fuera de la estación reproductiva (Batista y cols. 2012; Silva y cols., 2003). Esta agresión se enmarca en un importante repertorio de conductas territoriales, por lo cual *G. omarorum* ha de mantener un buen control sobre las señales que emite, así como sobre el flujo de información que recibe. De hecho, trabajo previo de nuestro grupo muestra que *G. omarorum* en su ambiente natural disminuye la variabilidad de su FB-DOE en la noche, momento de mayor actividad e interacción social (Gascue y cols., 2020).

A diferencia de las conductas sociales, el repertorio conductual de exploración de esta especie es mayormente desconocido. La mayoría del trabajo realizado en este sentido involucra el registro de respuestas de novedad en animales inmovilizados. Por ejemplo, estímulos eléctricos (Caputi y cols., 2003; Aguilera y Caputi, 2003) y estímulos mecánicos (Barrio y cols., 1991) son capaces de generar respuestas de novedad.

Por otro lado, aumentos sostenidos de la FB-DOE se han relacionado con la actividad locomotora (Falconi y cols., 1995; 1997). De forma interesante, también se han observado aumentos en la FB-DOE relacionados a estados cognitivos del individuo (Jun y cols., 2014; 2016; Fotowat y cols., 2019). Particularmente, en Jun y cols. (2014) describen un aumento de la FB-DOE que anticipa el comienzo del movimiento.

De forma opuesta a lo discutido para *G. petersii*, en *G. omarorum* se conoce en gran medida su conducta social y el rol comunicativo de la DOE; mientras que muy poco se

conoce de la conducta exploratoria. En este marco, en el capítulo 2 de esta tesis se proveerá de un primer acercamiento al estudio de la conducta exploratoria en esta especie. Por lo discutido previamente, se hará énfasis en la respuesta ante estímulos abióticos, y teniendo como objetivo la caracterización de la organización espaciotemporal del comportamiento exploratorio.

Hipótesis, objetivos y resultados esperados

Hipótesis

La conducta exploratoria en peces eléctricos de descarga débil está asociada a despliegues locomotores específicos y a variaciones en la frecuencia de descarga del órgano eléctrico. Estos patrones electromotores serán modulados por la valencia del estímulo y las fases de actividad y reposo de la especie.

Objetivos:

Objetivos generales:

1. Evaluar la respuesta ante estímulos de valencia social en el pez eléctrico de descarga débil *Gnathonemus petersii* y cómo ésta difiere de estrategias empleadas para la exploración de estímulos abióticos. (Capítulo 1)
2. Evaluar la respuesta ante estímulos abióticos en el pez eléctrico de descarga débil *Gymnotus omarorum* como primer acercamiento al estudio de su conducta exploratoria. (Capítulo 2)
3. Evaluar el efecto del momento del día sobre el desarrollo de la conducta exploratoria. (Capítulo 1 y 2)

Objetivos específicos:

- Asociados al objetivo general 1:

- a. Caracterizar la organización espaciotemporal del comportamiento exploratorio de *G. petersii* frente a un estímulo abiótico.
- b. Caracterizar la organización espaciotemporal del comportamiento exploratorio de *G. petersii* frente a un estímulo biótico.
- c. Identificar la necesidad de señales comunicacionales para desencadenar una exploración característica de estímulos bióticos.

- Asociado al objetivo general 2:

- a. Caracterizar la organización espaciotemporal del comportamiento exploratorio de *G. omarorum* frente a un estímulo abiótico.

-Asociado al objetivo general 3:

a. Evaluar el efecto del momento del día sobre la organización espaciotemporal del comportamiento exploratorio en todos los grupos experimentales.

Resultados esperados:

Respecto al objetivo general 1:

- Las estrategias utilizadas para la exploración de estímulos abióticos serán empleadas para la exploración de estímulos de valencia biótica.
- La organización temporal de estas estrategias diferirá entre estímulos bióticos y abióticos dadas las diferencias físicas entre ambos estímulos
- La presencia de señales comunicacionales en los estímulos bióticos intactos generará una mayor manifestación de conductas exploratorias que el estímulo biótico sin señal eléctrica.

Respecto al objetivo general 2:

- La presencia de un estímulo abiótico desencadenará manifestaciones de comportamiento exploratorio.
- Existirán estrategias locomotoras para la exploración del estímulo presentado.

Respecto al objetivo general 3:

- Se espera un mayor despliegue de estrategias exploratorias en el atardecer y noche que en el día para ambas especies.

Materiales y métodos

Animales

Se utilizaron individuos de *Gnathonemus petersii* (n=7) y de *Gymnotus omarorum* (n=6) adultos de sexo indeterminado.

Gnathonemus petersii

Los individuos de *G. petersii* se obtienen de un acuario en la ciudad de Nueva York, y originalmente provienen de África, capturados de su hábitat natural.

Los animales fueron hospedados en el bioterio de peces del laboratorio del Dr. Sawtell, Zuckerman Institute, Columbia University. Este bioterio cuenta con tanques de 227L donde se hospedan grupos de entre 3 y 20 individuos. La conductividad del agua se mantiene entre 60-100 μ S tanto en el bioterio como durante los experimentos. Las condiciones de iluminación en el bioterio corresponden a un ciclo de luz-oscuridad de 12:12h, donde la luz se enciende entre las 07:00 y las 19:00. La temperatura se mantuvo constante a 28C tanto en el aire como en el agua del bioterio y de los experimentos.

Durante su hospedaje en el bioterio se los alimenta dos veces al día con una mezcla de gusanos de sangre congelados (Hikari) y reforzados en vitaminas, y gusanos frescos negros obtenidos de forma mensual por un proveedor local y refrigerados en el bioterio.

Todos los experimentos que se presentan en esta tesis que manipulan individuos de *G. petersii* se adhieren a los principios para el uso y cuidado de animales de la Sociedad Americana de fisiología (Committee on Care and Use of Laboratory Animals, 1986) y fueron aprobados por el comité institucional de cuidado y uso de animales de Columbia University.

Gymnotus omarorum

Los individuos de *G. omarorum* fueron colectados en Laguna de los Cisnes, Departamento de Maldonado, Uruguay (34°51'S, 55°07'W). Para su captura, los animales fueron primero detectados con un detector de señales eléctricas para la pesca individual (Silva y cols., 2003).

Posterior a su captura, los animales fueron hospedados en el bioterio de poiquiloterms ubicado en el Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, en condiciones seminaturales de luz y temperatura. Estas condiciones seminaturales se deben a que el hospedaje se realiza en tanques ubicados en el exterior, bajo condiciones de luminosidad y temperatura ambientales. Cada tanque contiene vegetación proveniente del hábitat natural de los individuos, lo cual amortigua las variaciones de luz y temperatura ambientales en el agua.

Por otro lado, los tanques se subdividen en compartimentos individuales que impiden la interacción física entre individuos hospedados en un mismo tanque, pero no impide el sentido de sus vecinos. Cada compartimento individual contiene un refugio cilíndrico de

PVC (Policloruro de vinilo). Durante su hospedaje fueron alimentados cada 5 días con *Tubifex tubifex* en sus respectivos compartimientos individuales.

Las condiciones de hospedaje y posterior manipulación experimental de estos animales recaen bajo la legislación de experimentación animal (Ley n°18611). El protocolo experimental (nro. 1858) y de alojamiento fue aprobado por la Comisión Ética para el Uso de Animales (CEUA) de Facultad de Ciencias, UdelaR. La autora de esta tesis posee una acreditación en la categoría A y B proveída por la Comisión Honoraria de Experimentación Animal (CHEA).

Diseño experimental

La arena experimental consta de un tanque de 60 x 60 cm (65 L) y 48 x 38 cm (36.5 L), en *G. petersii* y *G. omarorum*, respectivamente. El agua se mantuvo a conductividad en un rango de 60-200 μ S y a temperatura ambiente (28C en *G. petersii*, 25C en *G. omarorum*). La estación de registro siguió un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. La fase de luz encendida se dio entre las 07:00 y 19:00. La iluminación se brinda a través de tiras de luces led neutras ubicadas debajo del fondo del tanque. En la estación experimental se encuentra un foco de luz infrarroja encendido en todo momento para asegurar la visibilidad en el video cuando la luz neutra se apague en la noche.

Estímulo abiótico

El protocolo experimental para caracterizar la conducta exploratoria activa de un objeto novedoso (esquematizado en la Figura 1 A) consistió en registros de conducta eléctrica y locomotora de 17 horas de duración. Los animales fueron hospedados en la arena experimental 24 horas antes del comienzo del experimento para asegurar la aclimatación de los mismos al entorno.

El experimento comienza a las 17:00, donde se inician cuatro horas de estimulación intermitente. El objeto novedoso consistió en un tubo de plástico con carbonos conductores en cada extremo, conectados por medio de un interruptor (Figura 2), controlado por Arduino, a través de Arduino IDE o Bonsai Rx (Lopes y cols, 2015) para *G. petersii* y *G. omarorum*, respectivamente. Durante las cuatro horas de estimulación, el objeto se encendió por 5 segundos cada 4 minutos (Figura 1 A), representando un total de 58 iteraciones.

El objeto consta de dos discos de carbono de 5 mm de diámetro y 10 mm de profundidad, dispuestos en los extremos de un tubo de plástico (como en Engelmann y cols, 2009). Cada disco se conecta al interruptor. La resistencia a través del objeto es de 20 Ω cuando está encendido, es decir, cuando el circuito está cerrado.

Durante las 17 horas de experimento, se realizó un registro continuo de conducta eléctrica y vídeo (sección *Registros*).

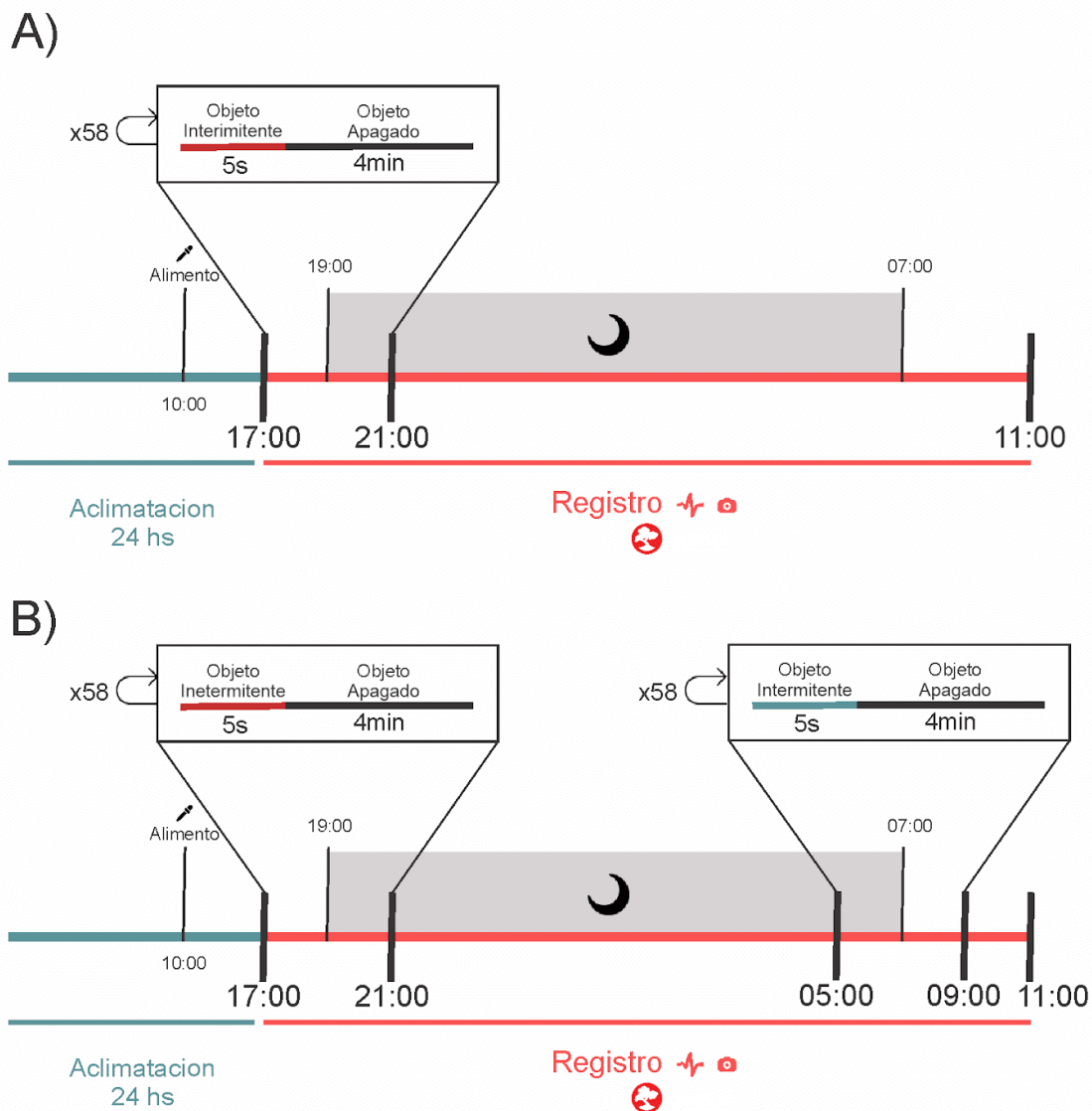


Figura 1: Línea temporal del diseño experimental para la estimulación no invasiva de valencia abiótica. (A) Diseño experimental para *G. petersii*. Los animales son alojados en la arena experimental 24 horas antes del comienzo del experimento. El día del experimento se los alimenta a las 10:00 directamente en la arena experimental. A las 17:00 comienza el registro eléctrico y de video, así como el protocolo de estimulación. El protocolo de estimulación consiste en 4 horas (desde las 17:00 hasta las 21:00) de estimulación intermitente, con 58 repeticiones de 5 segundos del objeto prendido y 4 minutos del objeto apagado. La luz de la arena experimental sigue un fotoperiodo 12:12, con 12 horas de oscuridad entre las 19:00 y las 7:00 (indicado por el área gris en la figura). (B) Diseño experimental para *G. omarorum*. El diseño experimental para *G. omarorum* adiciona una segunda sesión de estimulación en la mañana (desde las 5:00 hasta las 9:00) del segundo día.

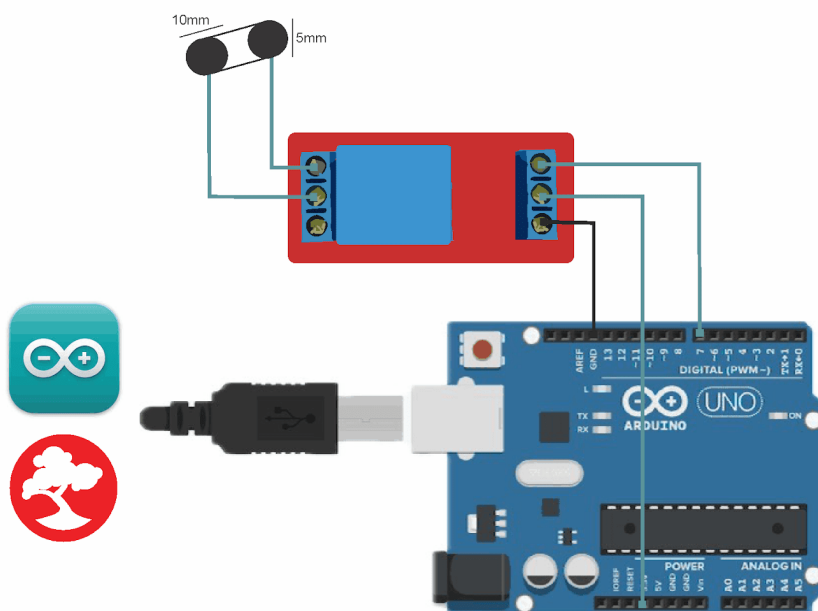


Figura 2: Esquema del objeto novedoso presentado al animal. El objeto consiste en dos discos de carbón conductor de 5 mm de diámetro y 10 mm de profundidad, dispuestos en los extremos de un tubo de plástico. Estos discos se conectan a un interruptor (relé) que al recibir una señal eléctrica desde un Arduino UNO cierra el circuito. Al cerrarse el circuito disminuye la resistencia del objeto, de forma que aumenta su conductividad. La señal enviada por el Arduino se envía desde la interfaz de Arduino IDE (en *G. petersii*) o a través de Bonsai rx. (en *G. omarorum*)

Estímulo biótico

Parte de los resultados presentados en el capítulo 1 de esta tesis se obtuvieron mediante la presentación de un estímulo biótico (figura 3B) según la línea temporal descrita en la figura 3A. El estímulo biótico es la presencia de otro conoespecífico en un compartimento aledaño a la arena experimental. Este compartimento se encuentra conectado a la pecera principal pero separado por una pared de acrílico con orificios de forma que el agua fluye entre los compartimentos libremente (figura 3B). Dentro del compartimento, el pez 'vecino' o estímulo, tiene suficiente espacio para moverse con facilidad y cuenta con objetos donde puede refugiarse.

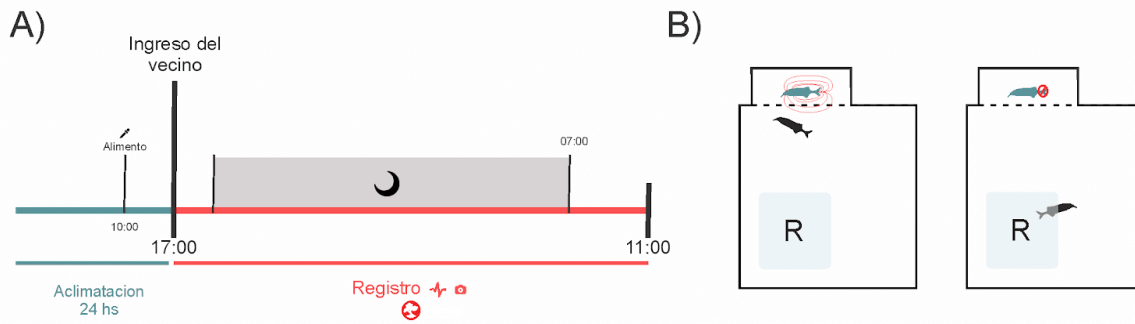


Figura 3: Diseño experimental para la estimulación con valencia social. (A) Línea temporal del experimento. Los animales son alojados en la arena experimental 24 horas antes del comienzo del experimento. El día del experimento se los alimenta a las 10:00 directamente en la arena experimental. A las 17:00 s comienza el registro eléctrico y de video. A las 17:00 ingresa el ‘vecino’ al compartimento aledaño, de forma que comienza el experimento. La luz de la arena experimental sigue un fotoperiodo 12:12, con 12 horas de oscuridad entre las 19:00 y las 07:00 (indicado por el área gris en la figura). (B) Esquema de la arena experimental y presentación del estímulo. El cuadrado etiquetado ‘R’ representa el refugio del animal y se muestra la ubicación del compartimento donde se coloca el estímulo. El pez estímulo es capaz de moverse con facilidad dentro del compartimento. Podemos distinguir dos tipos de estímulos bióticos: un pez sin intervención, capaz de emitir señales eléctricas (izquierda) y un pez que se silencia quirúrgicamente de forma que no es capaz de emitir señales eléctricas (derecha).

Se realizaron dos variantes del experimento. En una de ellas, el pez vecino es un individuo intacto, capaz de emitir señales eléctricas y de cualquier otro tipo. En el otro, el vecino se ‘silencia’ quirúrgicamente, de forma que no es capaz de emitir señales eléctricas. Esta intervención no afecta a ningún otro aspecto del animal, de forma que aún puede emitir señales a través de otras modalidades.

El silenciado quirúrgicamente se realiza cortando la inervación eferente bajo anestesia con MS-222 (Von Der Emde, 1998). Este procedimiento involucra insertar una aguja quirúrgica en la médula espinal de forma rostral al órgano eléctrico. La inserción de esta aguja destruye las fibras espinales que inervan al órgano eléctrico. Dado que el órgano eléctrico es la estructura inervada ubicada de forma más caudal en *G. petersii* (la aleta caudal se mueve mediante tendones que corren paralelos a la médula espinal), esta intervención no causó ningún déficit motor y solamente lesionó las eferentes electromotoras. Los animales se recuperan de la cirugía en un día, y fueron reevaluados luego de este tiempo.

La figura 3A muestra el desarrollo temporal del experimento. En primer lugar, se aloja al individuo en la arena experimental 24 horas antes del comienzo del experimento. A las 10:00 del día del experimento (7 horas antes del comienzo del mismo) se lo alimenta. A las 17:00 se introduce el pez estímulo en el compartimento aledaño a la arena experimental y se mantiene allí hasta el final del registro. A cada sujeto experimental se le presentan ambos estímulos (pez intacto y silenciado) en días consecutivos.

Registros

Registro eléctrico

Para *G. petersii*, 4 electrodos de carbono fueron colocados en los vértices del refugio del animal, región de la arena experimental donde pasa una mayor parte del tiempo (ver resultados capítulo 1). Estos electrodos se conectan como entradas diferenciales analógicas (de a pares), sin amplificación, a un módulo de entrada de voltaje (National Instruments 9229), conectado a un Chasis de adquisición (National Instruments cDAQ 9178).

Para *G. omarorum*, los registros se realizan con un par de electrodos de cobre, dispuestos en las paredes de la arena experimental y conectados como entradas diferenciales a un amplificador (FLA-01, *Cygnus tech*).

En ambos casos, la señal obtenida a partir del input NI9229 y el amplificador, se registra a través de Bonsai Rx. El workflow generado para este registro se adjunta en el anexo A1.1 (*Workflow de registro*). La señal se adquiere a una frecuencia de muestreo de 50kHz y 10kHz para *G. petersii* y *G. omarorum*, respectivamente. La señal eléctrica se convierte a formato numérico en Bonsai rx y es guardada como una matriz con una columna para cada canal registrado. El workflow de Bonsai guarda el registro continuo cada 20 minutos, de forma sincronizada con los archivos de video para asegurar la coincidencia temporal entre los mismos.

Video

El video se captura, en todos los experimentos de esta tesis, por una cámara chameleon3 (CM3-U3-13Y3M-CS) a una frecuencia de muestreo de 50 capturas por segundo (fps) y en luz infrarroja. Los videos de *G. petersii* son de 758 x 736 px y los de *G. omarorum* de 528 x 454 px.

La captura del video está comandada por Bonsai rx., utilizando el workflow que se adjunta en el anexo A1.1 (*Workflow de registro*).

Análisis

El análisis de los datos crudos registrados en todos los capítulos de esta tesis se realizó mediante rutinas ad hoc de Python, con la salvedad de algunos pre-procesamientos, como el seguimiento de la posición del animal que se realizaron utilizando paquetes de software libre disponibles.

Las rutinas de análisis generadas han sido publicadas en un [repositorio de Github](#) público, cuya finalidad es facilitar este tipo de análisis en el futuro.

La figura 4 esquematiza la funcionalidad del repositorio (para más detalles referirse al archivo README del mismo, adjuntado en el anexo A1.2).

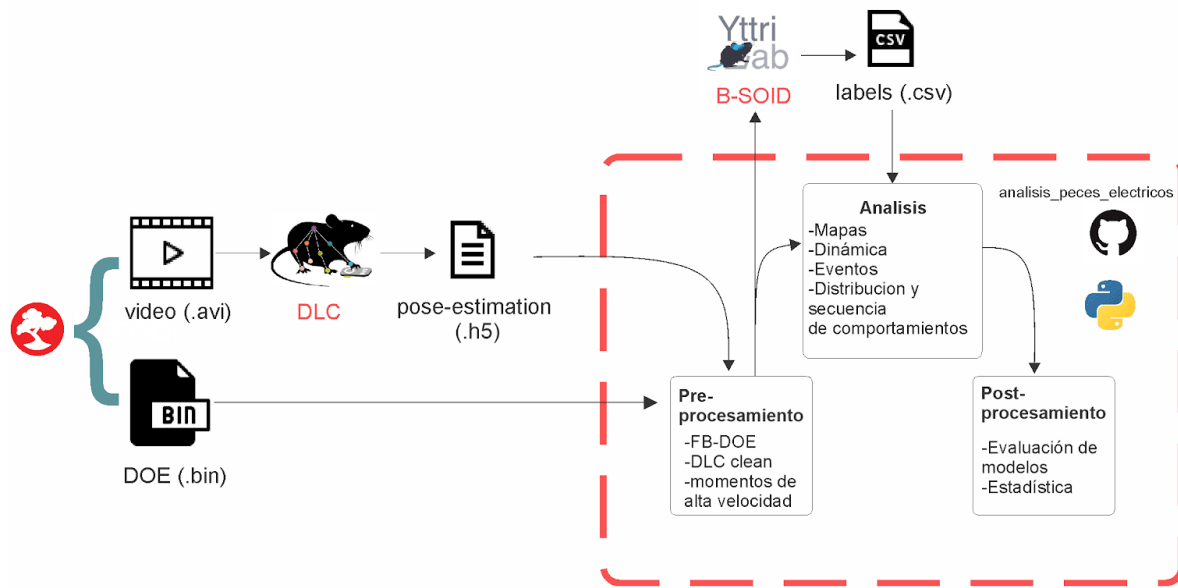


Figura 4: Esquema del manejo de datos y análisis realizado. De izquierda a derecha se ve el procedimiento desde la adquisición de los datos a través de Bonsai rx. hasta finalizar su análisis. Los datos crudos que se registran se almacenan en archivos de vídeo (.avi) y archivos numéricos (.bin). Los archivos numéricos ingresan directamente a ser procesados por código generado para esta tesis, y almacenados en un repositorio de Github (recuadro rojo). Los archivos de video son procesados previamente mediante el software libre DeepLabCut (DLC) para obtener la ‘pose-estimation’ de cada animal para cada captura de video. Los archivos generados por DLC (.h5) ingresan entonces al código del repositorio. Podemos dividir el código del repositorio en 3 grandes grupos: preprocesamiento, análisis y postprocesamiento. El preprocesamiento consiste en suavizar el seguimiento realizado por DLC, calcular la frecuencia basal de la DOE y generar la base de datos que luego se utilizará para entrenar un modelo de B-SOID, a partir de la extracción de momentos de alta velocidad. Esta base de datos generada ‘sale’ del repositorio al software libre B-SOID, a partir del cual se generan los archivos con etiquetas de comportamientos (.csv). Estos archivos vuelven a entrar al repositorio y junto con el resto de los datos preprocesados, pasan a la etapa de análisis. Esta etapa incluye todos los análisis presentados en los resultados de esta tesis, algunos se ejemplifican en el esquema. Por último, en el postprocesamiento se evalúan los modelos utilizados y se realiza la estadística y gráficos de barra/caja que implican una comparación entre grupos.

Análisis de la conducta eléctrica

En un primer lugar, el registro eléctrico fue procesado para detectar máximos en las DOE y posteriormente calcular la frecuencia basal de la descarga. Los máximos fueron detectados con la selección de un umbral específico para cada experimento.

La FB-DOE fue calculada como el inverso del intervalo entre máximos y expresada en Hz.

Se definió un evento de alta frecuencia de la DOE como instancias en las que se observan al menos tres descargas consecutivas a una frecuencia que supera 1.5 zscores de la media.

Seguimiento y segmentación comportamental

El análisis de la conducta locomotora comienza por el seguimiento automático del animal utilizando el software libre DeepLabCut (Mathis et al, 2018). Se generó y entrenó un modelo para cada especie de las que se trabaja en esta tesis. Para *G. petersii* el error luego de 4 iteraciones de entrenamiento es de 3.18px para el entrenamiento y 5.13px para el testeo. Para *G. omarorum*, el error luego de 4 iteraciones de entrenamiento es de 3.06px en entrenamiento y 4.45px en testeo.

Las estimaciones generadas por el modelo de DeepLabCut (DLC) son procesadas para suavizar el seguimiento. Este suavizado se realiza interpolando linealmente valores con probabilidades (“likelihoods”) por debajo de 0.9. Este seguimiento suavizado es utilizado posteriormente para la generación de los mapas presentados en esta tesis, así como de los análisis cinemáticos de la conducta locomotora del animal.

El modelo de DLC entrenado para *G. petersii* consta de 6 puntos a seguir: el mentón, la boca, la cabeza, a la altura de las aletas pectorales, al comienzo de la cola y al final de la cola. Para *G. omarorum* el modelo se entrenó para seguir 5 puntos: la boca, la cabeza, a la altura de las aletas pectorales, al comienzo de la cola y al final de la cola. En la figura 5 se muestran ejemplos del etiquetado de estos puntos para ambos.

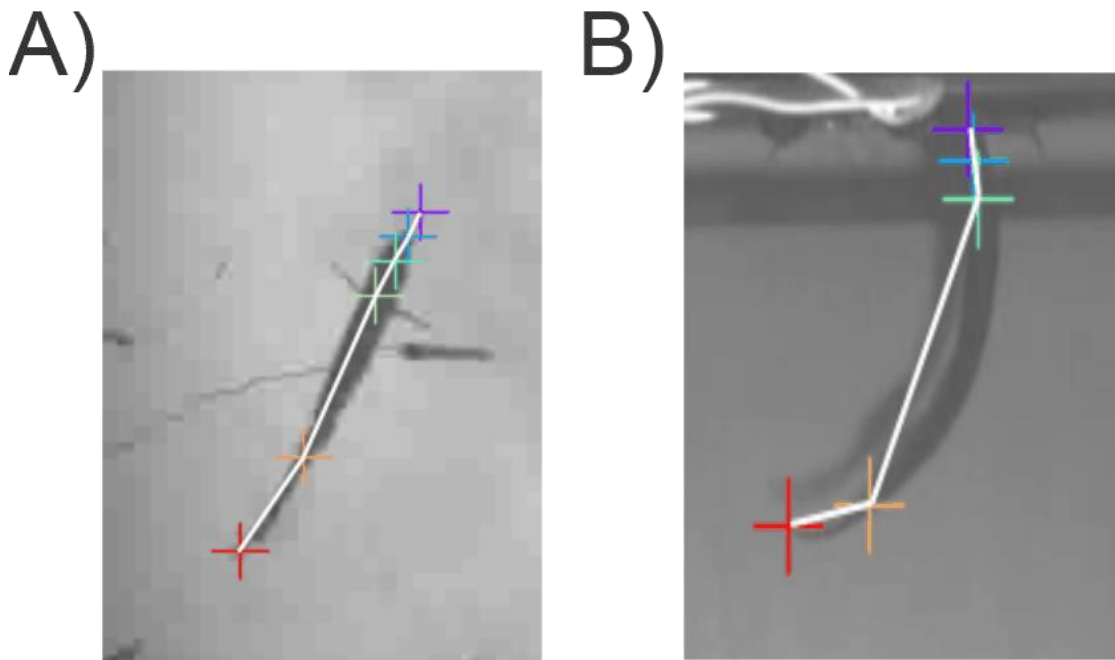


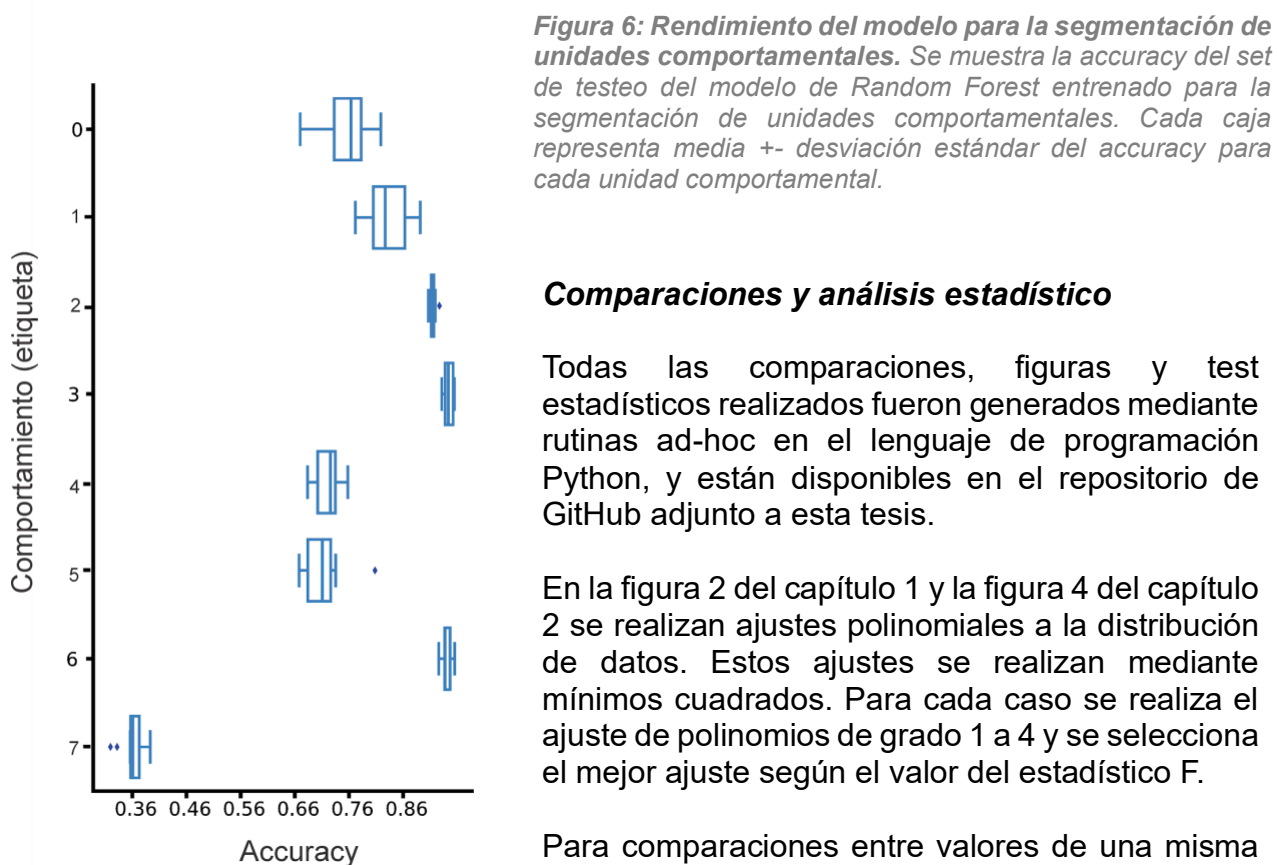
Figura 5: Ejemplo de esqueleto encontrado por DLC superpuesto a la captura correspondiente para ambos modelos. (A) Esqueleto de *G. petersii*. (B) Esqueleto de *G. omarorum*.

Utilizando los datos de seguimiento somos capaces de saber dónde se encuentra el individuo en la totalidad del video y a posteriori determinar patrones locomotores que lleve a cabo. Con esta finalidad, específicamente para detectar patrones locomotores de interés al explorar los diferentes estímulos, se generó una sub base de datos con los

capturas donde el pez se encontraba a una distancia euclídea menor a 15 cm de cada estímulo. Este criterio fue utilizado para seleccionar capturas de videos de todos los individuos y para todas las condiciones. Luego, esta base de datos generada se utilizó para entrenar un modelo de B-SOID (Hsu & Yttri, 2021) con la finalidad de realizar la segmentación automática de unidades comportamentales a partir del seguimiento de DLC.

Para entrenar dicho modelo se utilizaron 614112 capturas, lo cual corresponde a 204.7 minutos. Estas capturas constituyeron un 25% de la base de datos generada y fueron elegidas de forma aleatoria de la misma.

B-Soid determina relaciones de pose entre los puntos de seguimiento para cada captura según la velocidad, distancia y ángulo entre pares de puntos. Luego se realiza una reducción de la dimensionalidad de estos datos utilizando *Uniform Manifold Approximation and Projection for Dimension Reduction - UMAP* (McInnes, L. et al, 2018). Estos datos en el espacio de reducida dimensionalidad son agrupados mediante el algoritmo de agrupamiento HDBSCAN (Campello R, et al. 2013). Posteriormente, se entrena un algoritmo de Random Forest para clasificar nuevos datos en las categorías encontradas por HDBSCAN. La figura 6 muestra el rendimiento de este modelo entrenado en etiquetar cada una de las unidades conductuales agrupadas.



Comparaciones y análisis estadístico

Todas las comparaciones, figuras y test estadísticos realizados fueron generados mediante rutinas ad-hoc en el lenguaje de programación Python, y están disponibles en el repositorio de GitHub adjunto a esta tesis.

En la figura 2 del capítulo 1 y la figura 4 del capítulo 2 se realizan ajustes polinomiales a la distribución de datos. Estos ajustes se realizan mediante mínimos cuadrados. Para cada caso se realiza el ajuste de polinomios de grado 1 a 4 y se selecciona el mejor ajuste según el valor del estadístico F.

Para comparaciones entre valores de una misma variable (como es el caso de las comparaciones

entre diferentes distancias de los estímulos) se utilizó el test post-hoc de Dunn. En el caso donde todos los puntos de la variable son comparados con el resto, se realizaron mapas de p-valores para determinar áreas de significancia estadística (por un ejemplo ver figura 3 del capítulo 1). Un punto fue considerado significativo en estos casos si su comparación con más del 75% de los puntos restantes fue significativa.

En otros casos, las comparaciones múltiples de Dunn se realizaron, pero solo una fue tomada en cuenta para la significancia estadística, considerando a la misma como valor basal (por ejemplo, la figura 2 del capítulo 1).

Para comparar el efecto de dos variables sobre una misma medición, cómo es el caso de la figura 5A del capítulo 1, se utilizó una prueba de ANOVA de dos variables.

Para comparaciones de dos condiciones se realizaron test de Wilcoxon pareado, como es el caso de la figura 2 del capítulo 2.

Capítulo 1

Punto de partida y objetivos

En base a los antecedentes presentados, el primer capítulo de esta tesis se propone abordar la conducta exploratoria en *Gnathonemus petersii*. Basados en la evidencia que caracteriza diferentes estrategias sensoriomotoras en esta especie, nos proponemos incorporar la valencia social como variable. En este sentido, se estudia la respuesta exploratoria electromotora ante estímulos de valencia biótica y abiótica.

Con el fin de aislar las señales que organizan el comportamiento exploratorio ante estímulos bióticos se generaron dos grupos experimentales: un vecino conespecífico (referido como vecino descargando o grupo social, por más información ver métodos) y un vecino silenciado, incapaz de emitir señales eléctricas. Estos dos grupos nos permitirán evaluar la relevancia de las señales comunicacionales en la organización del comportamiento exploratorio ante un conespecífico.

En este marco, los objetivos de este capítulo son los siguientes.

Objetivo general:

Evaluar la respuesta ante estímulos de valencia social en el pez eléctrico de descarga débil *Gnathonemus petersii* y cómo ésta difiere de estrategias empleadas para la exploración de estímulos abióticos.

Objetivos específicos:

1. Caracterizar la organización espaciotemporal del comportamiento exploratorio de *G. petersii* frente a un estímulo abiótico.
2. Caracterizar la organización espaciotemporal del comportamiento exploratorio de *G. petersii* frente a un estímulo biótico.
 - a. Identificar la necesidad de señales comunicacionales para desencadenar una exploración característica de estímulos bióticos.
3. Evaluar el efecto del momento del día sobre la organización espaciotemporal del comportamiento exploratorio en todos los grupos experimentales.

Resultados

En este capítulo se describen los resultados de los experimentos conductuales realizados en *Gnathonemus petersii*, comparando la respuesta a tres estímulos de diferente valencia. Primero, la respuesta a un estímulo abiótico intermitente, que se mantiene durante cuatro horas en el atardecer (17:00-21:00), con el apagado de la luz a las 19:00. Segundo, la intrusión de un vecino conespecífico a las 17:00, que se prolonga durante el resto de la noche y la mañana siguiente. Tercero, la intrusión de un vecino conespecífico incapaz de emitir DOEs, también a las 17:00, y que igualmente permanece durante toda la noche y la mañana siguiente.

Los resultados se presentan en orden de menor a mayor especificidad en la caracterización de la respuesta electromotora a estos estímulos, comenzando con una descripción general de la modulación de la frecuencia basal de descarga del órgano eléctrico y la locomoción, y finalizando con un análisis más detallado de los patrones locomotores empleados durante la exploración de cada estímulo. A lo largo de este capítulo, también se analiza el efecto del momento del día en la modulación de esta conducta exploratoria.

Distribución espacial de la exploración electromotora

Como primer acercamiento a la descripción de la conducta exploratoria se propuso caracterizar la distribución espacial de la actividad eléctrica y locomotora para cada condición experimental. Para esto se generaron mapas de la arena experimental que ilustran las regiones más visitadas (mayor densidad del tiempo de visita, % de tiempo/cm²) y las regiones donde el individuo descarga a mayor frecuencia (mayor FB-DOE, Hz), para cada individuo y cada condición. Como consecuencia de la distribución espacial de la densidad de visita y la FB-DOE, se generan regiones de mayor o menor densidad de muestreo (DOEs/cm²) lo cual nos habla de la información sensorial que recibe el individuo en cada región de la arena experimental (figura 1.1 G-I). En la figura 1.1 se muestran ejemplos de estos mapas para un individuo (ver Anexo A2.1 para el resto de los individuos).

De forma cualitativa, podemos observar áreas con alta densidad de tiempo de visita en torno al estímulo abiótico (figura 1.1A), evidenciando por un color verde más oscuro en torno al objeto (señalizado con una estrella roja). Esta correlación no es tan evidente en las condiciones donde el estímulo es un vecino (figura 1.1 B-C). En ambos casos, si bien se observan regiones con alta densidad de tiempo de visita cerca del vecino, la distribución espacial parece más homogénea en el resto de la arena experimental, sugiriendo un mayor uso del espacio que en el caso del estímulo abiótico.

Al evaluar la distribución espacial de la FB-DOE se observa, de forma cualitativa, una distribución homogénea para el estímulo abiótico (figura 1.1D) y para el vecino silenciado (figura 1.1F). Sin embargo, cuando el vecino es capaz de emitir DOEs, podemos observar una región de alta FB-DOE en el entorno del vecino.

Las modulaciones paralelas de la FB-DOE y densidad de tiempo de visita dan lugar a la distribución de la densidad de muestreo (figura 1.1 G-I). De forma similar, podemos observar una región con alta densidad de muestreo en torno al estímulo abiótico (figura 1.1G) y distribuciones más homogéneas cuando el estímulo es un vecino (figura 1.1H-I).

A partir de los mapas generados para cada individuo, se cuantificó cada variable (tiempo de visita, FB-DOE y densidad de muestreo) en función de la distancia al estímulo (figura 1.2). Para cada condición y variable se muestra el zscore de la mediana para cada individuo a intervalos de un centímetro de distancia del estímulo (1-30 cm). La distribución poblacional se estimó ajustando un polinomio a la relación entre cada variable y la distancia al estímulo (ver sección “Comparaciones y análisis estadístico”

para una descripción del criterio de selección del mejor ajuste). En todos los casos se realizó una prueba post-hoc Dunn comparando todas las distancias consecutivas. Para evaluar el efecto de la proximidad al estímulo sobre cada variable, evaluamos la comparación entre cada distancia y la última, que comprende valores de cada variable para regiones a distancias mayores de 30 cm del estímulo.

De acuerdo con lo observado cualitativamente, se observa un aumento significativo de la densidad del tiempo de visita para los primeros 5 cm del estímulo abiótico (*p* valores: 0.0008, 0.0028, 0.0199, 0.0390, 0.0430). Este aumento del tiempo de visita y su caída al aumentar la distancia al objeto se ajusta a un polinomio de tercer grado ($R^2=0.253$, $F\text{-statistic}=1.7*10^{-13}$).

Cuando el estímulo es un vecino, el tiempo de visita se homogeniza en la arena experimental, mostrando un aumento en la periferia a distancias mayores a 30 cm del vecino. Esta diferencia es significativa en los primeros 15 cm para el vecino que emite DOEs (*p* valores: 0.0994, 0.0010, 0.0009, 0.0001, 0.00001, 0.00003, 0.00001, 0.0001, 0.0009, 0.0004, 0.0015, 0.0024, 0.0067, 0.0066, 0.0215), y 16 cm para el vecino silenciado (*p* valores: 0.0340, 0.0001, 0.0003, 0.0001, 0.00001, 0.00003, 0.0001, 0.0001, 0.0008, 0.0010, 0.0025, 0.0058, 0.0406, 0.0377, 0.0454, 0.0326). Estas dos relaciones ajustan a un polinomio de tercer grado (*descargando*: $R^2=0.42$, $F\text{-statistic}=5.1*10^{-25}$; *silenciado*: $R^2=0.26$, $F\text{-statistic}=7.3*10^{-14}$).

Estos resultados ilustran una primera diferencia en la respuesta evocada por estímulos bióticos y abióticos. Mientras que el estímulo abiótico genera una “atracción” esperada, la presencia de un conoespecífico en la periferia de la arena experimental no lo hace.

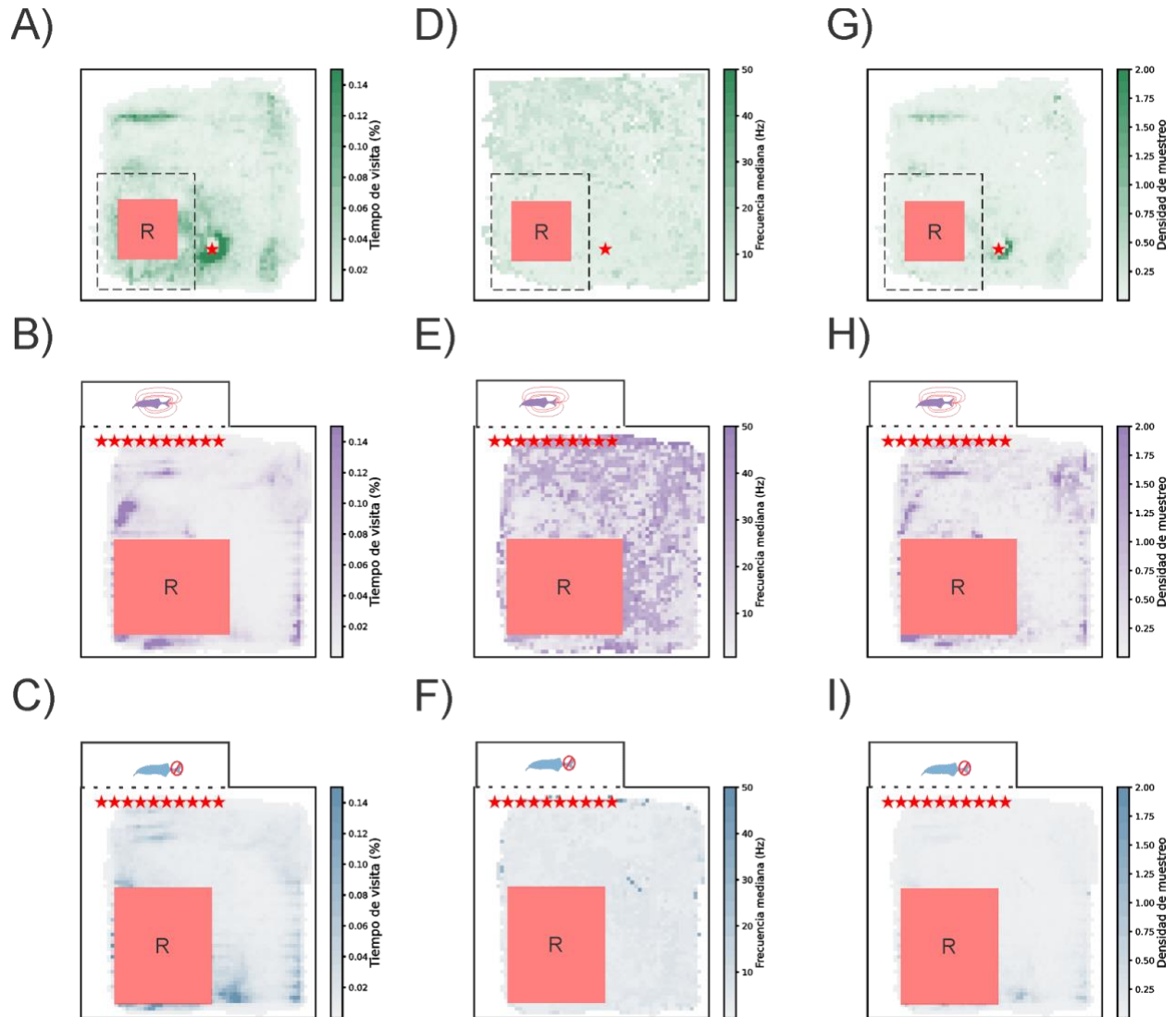


Figura 1.1: Ejemplos de mapas de distribución espacial de variables electromotoras para cada condición experimental. Se muestran ejemplos para un mismo individuo de mapas de densidad de tiempo de visita (A-C), FB-DOE mediana (D-F), y densidad de muestreo (G-I) para cada condición experimental: estímulo abiótico (verde), vecino descargando (violeta), vecino silenciado (azul). Cada píxel del mapa representa la mediana de la variable que corresponda para ese cm^2 de la arena experimental. En todos los casos, se utilizó como posición del individuo la posición de la parte del cuerpo más cercana al estímulo. Los recuadros rojos señalizados con la letra “R” en cada mapa representan la región de la arena experimental donde se ubicó el refugio y que fue restada para la posterior cuantificación. Para el estímulo abiótico (A, D y G), la región restada comprende solo el centro del refugio debido a la proximidad del objeto; los bordes del refugio se marcan con el recuadro punteado. Las estrellas rojas marcan los puntos de la arena experimental utilizados para referenciar al estímulo (posición del objeto en A, D y G; pared que separa al vecino en las demás).

Al igual que vimos en los mapas ejemplo, la FB-DOE se muestra homogénea al alejarnos del estímulo abiótico y del vecino silenciado. Sin embargo, cuando el vecino emite DOEs, la frecuencia de descarga aumenta significativamente en los primeros 9 cm de distancia al vecino, a excepción de 1 cm donde se observa una tendencia y a 4 cm donde no es significativo (p valores: 0.0910, 0.0427, 0.0326, 0.378, 0.0240, 0.0358, 0.0013, 0.0072, 0.0179). Esta relación se ajusta con mayor fidelidad a un polinomio de grado dos

($R^2=0.157$, $F\text{-statistic}=0.0000000109$). Para el caso del estímulo abiótico y vecino silenciado, ninguno de los ajustes propuestos fue significativo. En la figura se muestran las curvas que se ajustaron mejor a los correspondientes sets de datos ($F\text{-statistic} < 0.1$). Para el estímulo abiótico este ajuste es de un polinomio de tercer grado ($R^2=0.035$, $F\text{-statistic}=0.054$), y para el vecino silenciado un polinomio de primer grado ($R^2=0.013$, $F\text{-statistic}=0.09$).

El aumento de la FB-DOE en el entorno del vecino intacto, que no se observa en el vecino silenciado, sugiere la presencia de interacciones eléctricas entre los individuos, por ejemplo, aumentos de FB-DOE relacionados a señales comunicativas. A su vez, este aumento de la FB-DOE puede estar relacionado a ajustes sensoriales para evitar

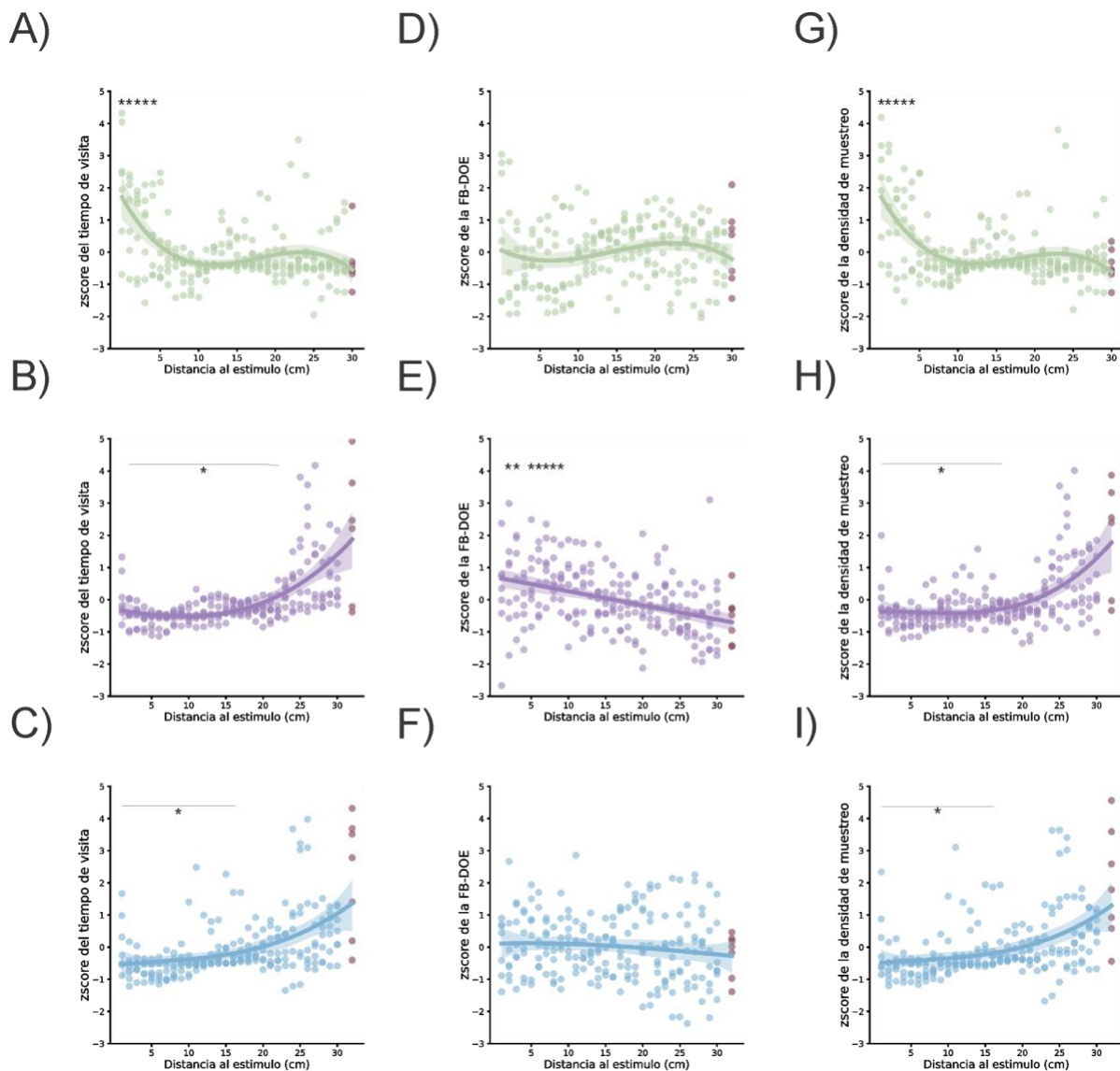


Figura 1.2: Cuantificación de las distribuciones espaciales respecto a la ubicación del estímulo para la densidad de tiempo de visita, FB-DOE y densidad de muestreo y para cada condición experimental. Se muestra la dependencia del zscore de cada variable mencionada con la distancia al estímulo de cada condición experimental: objeto abiótico (verde), vecino que descarga (violeta) y vecino silenciado (azul). Los puntos violetas al final de cada distribución señalan los valores de la variable correspondiente para distancias mayores a 30 cm y son los que se utilizan como basales en la comparación de las otras distancias. Cada punto es el zscore de la mediana de la variable correspondiente para intervalos de a un cm de distancia del estímulo para un individuo ($n=7$); las líneas en cada subfigura representan el ajuste polinomial más significativo $\pm$ desvío estándar de las observaciones (área sombreada). El tiempo de visita (A-C) muestra un aumento significativo en los primeros 5 cm del entorno del estímulo abiótico y un descenso significativo en los primeros 15 y 16 cm para el vecino que descarga y el vecino silenciado, respectivamente (ver texto por estadística). La FB-DOE (D-F) no presenta diferencias significativas cuando el estímulo es abiótico ni cuando es un vecino silenciado. Cuando el estímulo es un vecino que emite DOEs, la FB-DOE es significativamente mayor en los primeros 9 cm, a excepción de a 1 y 4 cm (ver texto por estadística). La densidad de muestreo es significativamente mayor en los primeros 5 cm del entorno del estímulo abiótico, pero significativamente menor en los 22 y 16 cm del entorno del vecino que descarga y el que no, respectivamente (ver texto por estadística).

perturbaciones que la DOE del vecino genere sobre la propia DOE, como los ecos descritos en mormyriiformes.

Por último, la densidad de muestreo reproduce la tendencia general del tiempo de visita, con mayor densidad de muestreo en el entorno del estímulo para el objeto abiótico y menor densidad de muestreo en el entorno para los casos en que el estímulo es un vecino. Para el estímulo abiótico, los primeros 5 cm presentan una densidad de muestreo significativamente mayor a los valores basales (p valores: 0.0002, 0.0024, 0.0182, 0.0317, 0.0333). Esta relación se ajusta a un polinomio de tercer grado ($R^2=0.264$, $F\text{-statistic}= 4.2 \cdot 10^{-14}$). Para el caso en que el vecino no emite DOEs, la densidad de muestreo es menor en el entorno del vecino, lo cual es coherente considerando la disminución del tiempo de visita y homogeneidad espacial de la FB-DOE. Esta diferencia es significativa en los primeros 16 cm (p valores: 0.0246, 0.0001, 0.0008, 0.0002, 0.0001, 0.0001, 0.0001, 0.0001, 0.0024, 0.0023, 0.0068, 0.0083, 0.0251, 0.0217, 0.0296, 0.0243) y la relación se ajusta a un polinomio de grado 3 ($R^2=0.226$, $F\text{-statistic}=8.5 \cdot 10^{-12}$). En el caso del vecino que emite DOEs, la densidad de muestreo mantiene una relación análoga al tiempo de visita, aun cuando la FB-DOE guarda la relación inversa con la distancia al estímulo. En este sentido, los primeros 22 cm del entorno del objeto presentan una disminución de la densidad de muestreo respecto a valores basales (p valores: 0.0449, 0.0011, 0.0009, 0.00001, 0.0001, 0.0001, 0.0001, 0.0010, 0.0068, 0.0017, 0.0067, 0.0089, 0.0072, 0.0152, 0.0132, 0.0232, 0.0115, 0.0064, 0.0073, 0.0025, 0.0053, 0.0238). La relación entre la densidad de muestreo y la distancia al estímulo para esta condición se ajusta a un polinomio de grado 3 ($R^2=0.336$, $F\text{-statistic}=7.9 \cdot 10^{-19}$).

Este primer apartado muestra una diferenciación en el uso del espacio y FB-DOE utilizada para cada tipo de estímulo. Para el estímulo abiótico se observó una modulación electromotora esperada, con un aumento del tiempo de visita y concomitante aumento de la densidad de muestreo en la cercanía del objeto. Para los estímulos bióticos, sin embargo, se observa una disminución del tiempo de visita y densidad de muestreo para cada estímulo.

Efecto del momento del día sobre la exploración

Para evaluar el efecto del momento del día sobre la exploración describimos la modulación de la FB-DOE y de la locomoción en las 17 horas de registro.

La figura 1.3 muestra estas modulaciones para las 3 condiciones experimentales. Se observa un aumento significativo de la FB-DOE al apagar la luz (19:00) en todas las condiciones experimentales (señalizado por una flecha negra en la figura 1.3 A-C). A su vez, este aumento de la FB-DOE vino acompañado por un aumento significativo de la locomoción en todas las condiciones (señalizado por una flecha roja en la figura 1.3 D-F).

Por otro lado, la inserción del vecino descargando generó un aumento significativo de la locomoción, pero no de la FB-DOE (señalizado por la flecha roja a las 17:00 en la figura 1.3E).

Por último, se observa un aumento significativo de la locomoción en la mañana, al encenderse la luz (07:00), para todas las condiciones excepto el vecino que descarga. Para más detalles sobre el análisis estadístico realizado ver métodos sección “Comparaciones y análisis estadístico”.

Para evaluar la relación de estos dos momentos de alta actividad -eléctrica y locomotora- con los estímulos presentados, describimos la densidad de muestreo en el entorno de cada estímulo durante la totalidad del experimento (figura 1.4). De forma similar a la FB-DOE y locomoción, podemos observar un aumento significativo de la densidad de muestreo en el entorno de cada estímulo a las 19:00 y a las 07:00.

Los resultados de esta subsección sugieren dos momentos principales dedicados a la exploración: el atardecer y el amanecer, con un aumento de la actividad eléctrica y locomotora en estos momentos. El aumento de la actividad locomotora, sin embargo, se ve suprimido bajo la presencia de un conoespecífico descargando, de forma que este contexto social parece afectar la locomoción en la mañana. Por último, los picos de densidad de muestreo en el entorno de los estímulos, tanto en el atardecer como en la mañana, refuerza esta idea de que existen dos momentos de exploración durante el día.

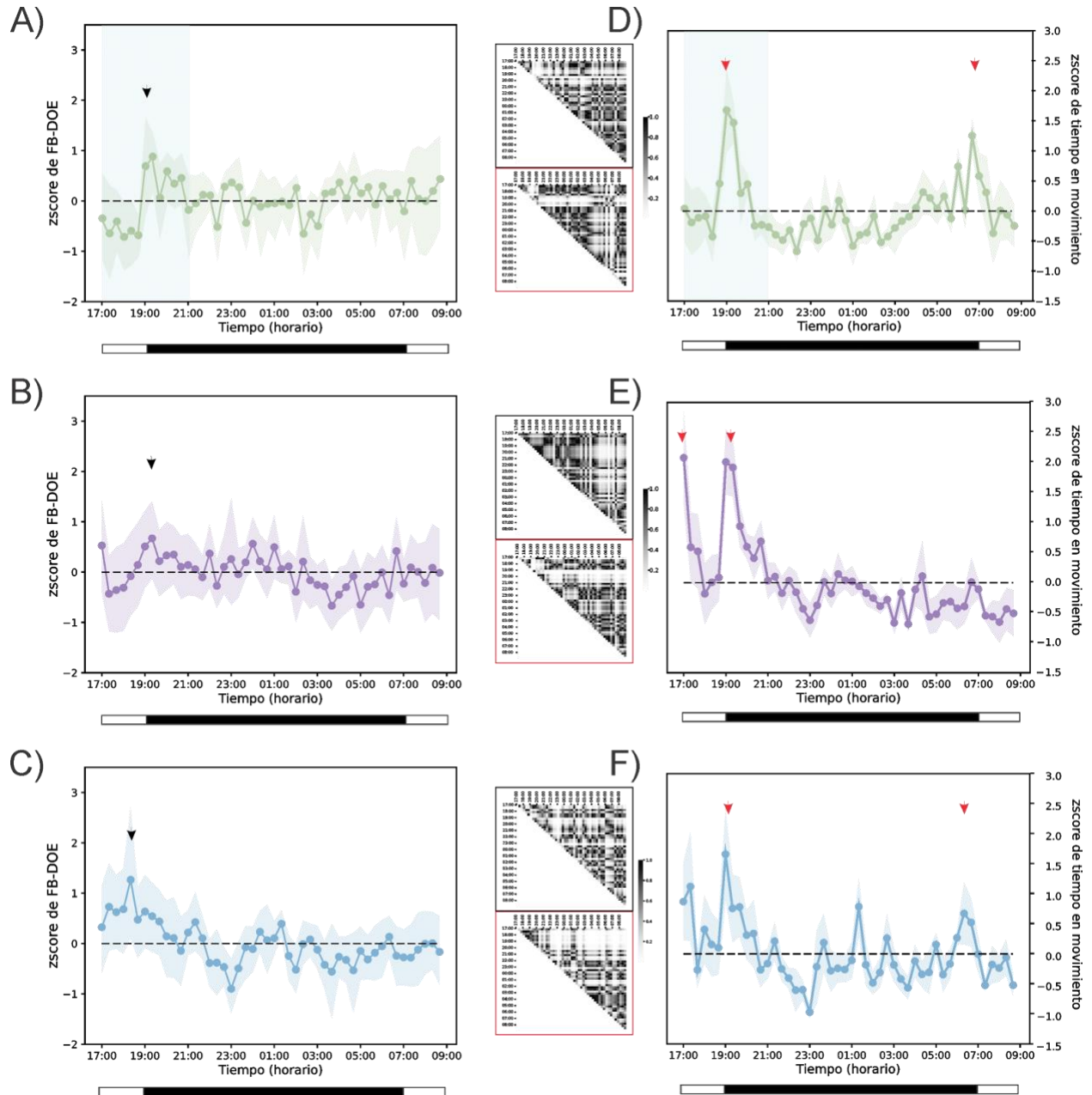


Figura 1.3: Frecuencia Basal de descarga del órgano eléctrico (FB-DOE) y movimiento durante cada condición experimental. (A-C) zscore $\pm$ desvío estándar de la mediana de la FB-DOE cada veinte minutos durante la duración del experimento para el estímulo abiótico (A), social (B) y silenciado (C). (D-F) zscore del porcentaje del tiempo en movimiento $\pm$ desvío estándar cada veinte minutos durante la duración del experimento para el estímulo abiótico (D), social (E) y silenciado (F). Las barras blancas y negras bajo cada gráfica indican las condiciones de luminosidad para ese momento del experimento: luz encendida (blanco) y luz apagada (negro). La región sombreada en (A) y (D) muestran las horas durante las cuales se da el estímulo. Para las demás condiciones, el estímulo se da al comienzo del experimento y permanece por toda la duración del mismo. Se señala en cada gráfico aumentos significativos de la FB-DOE (flechas negras) y del tiempo en movimiento (flechas rojas), según test de Dunn entre observaciones. Los p valores de estos test se ilustran en recuadros entre figuras de una misma condición. Los recuadros negros muestran las relaciones de FB-DOE y los rojos las de tiempo en movimiento. Colores más claros indican p valores más pequeños.

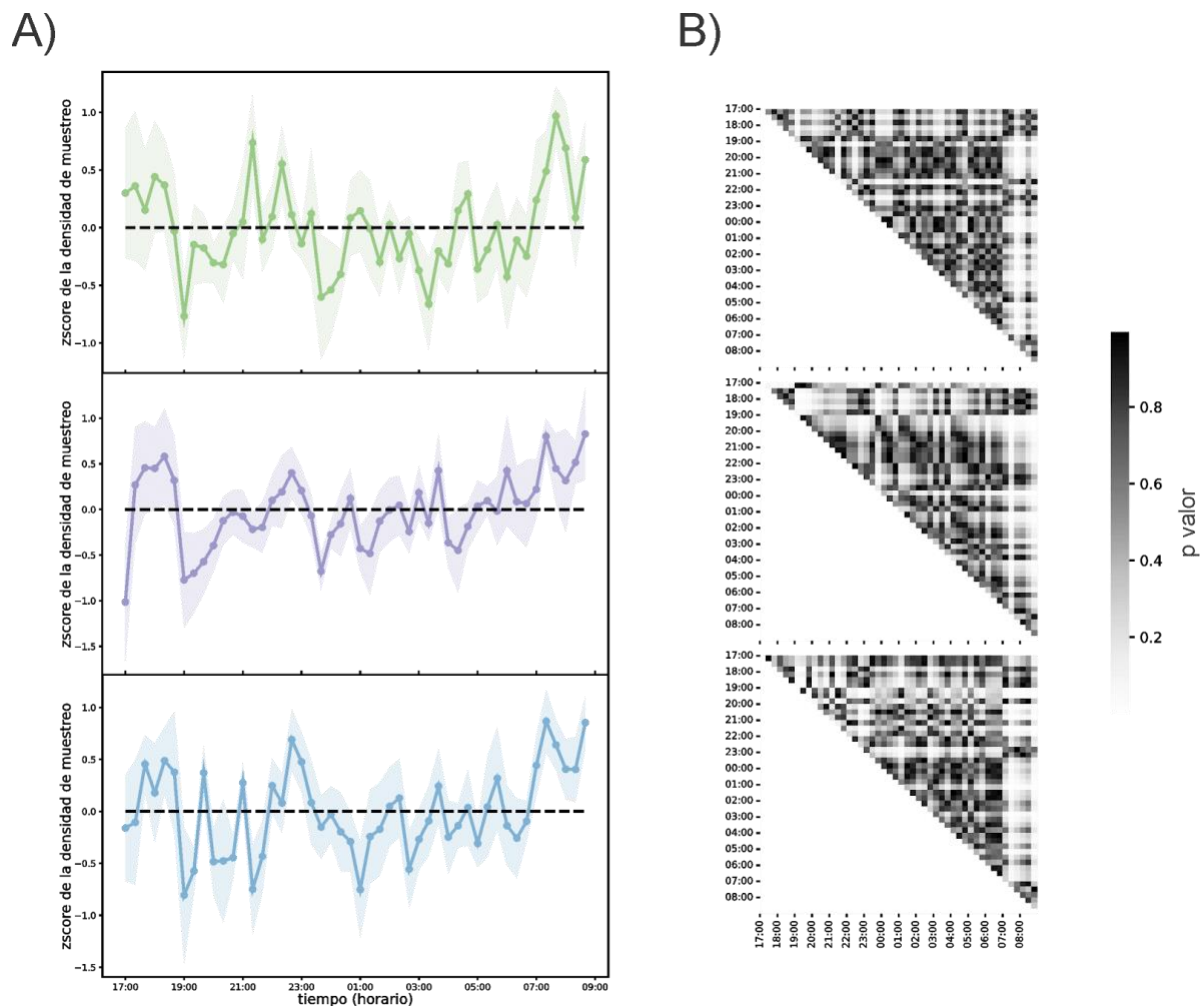


Figura 1.4: Densidad de muestreo en el entorno del estímulo vs tiempo para cada condición experimental. (A) Relación de la densidad de muestreo (zscore) en el entorno cercano a cada estímulo durante todo el experimento, para el estímulo abiótico (panel superior, verde), vecino descargando (panel medio, violeta), y vecino silenciado (panel inferior, azul). Los trazados muestran la media poblacional y el sombreado el error estándar. (B) Cuantificación de lo observado en (A). Resultados del test post-hoc Dunn para cada observación (20 minutos) vs el resto de las observaciones, para el estímulo abiótico (panel superior), vecino descargando (panel medio) y vecino silenciado (panel inferior). En escala de grises se ilustra el p-valor de cada comparación, con colores más blancos para valores de p menores.

Análisis de la dinámica del comportamiento exploratorio

El último cuerpo de resultados de este capítulo comprende la caracterización de la dinámica del comportamiento exploratorio y las variaciones que presenta entre cada condición experimental.

Un primer análisis en este camino supone evaluar la velocidad angular y ángulos utilizados por tres regiones de interés: el mentón, la articulación a la altura de las aletas pectorales (etiquetada en la figura como “cuerpo”), y la cola. Los movimientos del mentón y la cola han sido relacionados con estrategias de sensado activo (von der Emde y cols., 2008; Toerring y Moller, 1982), mientras que los movimientos que estudiamos a nivel de

las aletas pectorales tienen que ver con cambios de dirección del individuo. Este análisis se realizó cuando los individuos se encontraban en el entorno cercano (1-7 cm) de cada uno de los estímulos (figura 1.5).

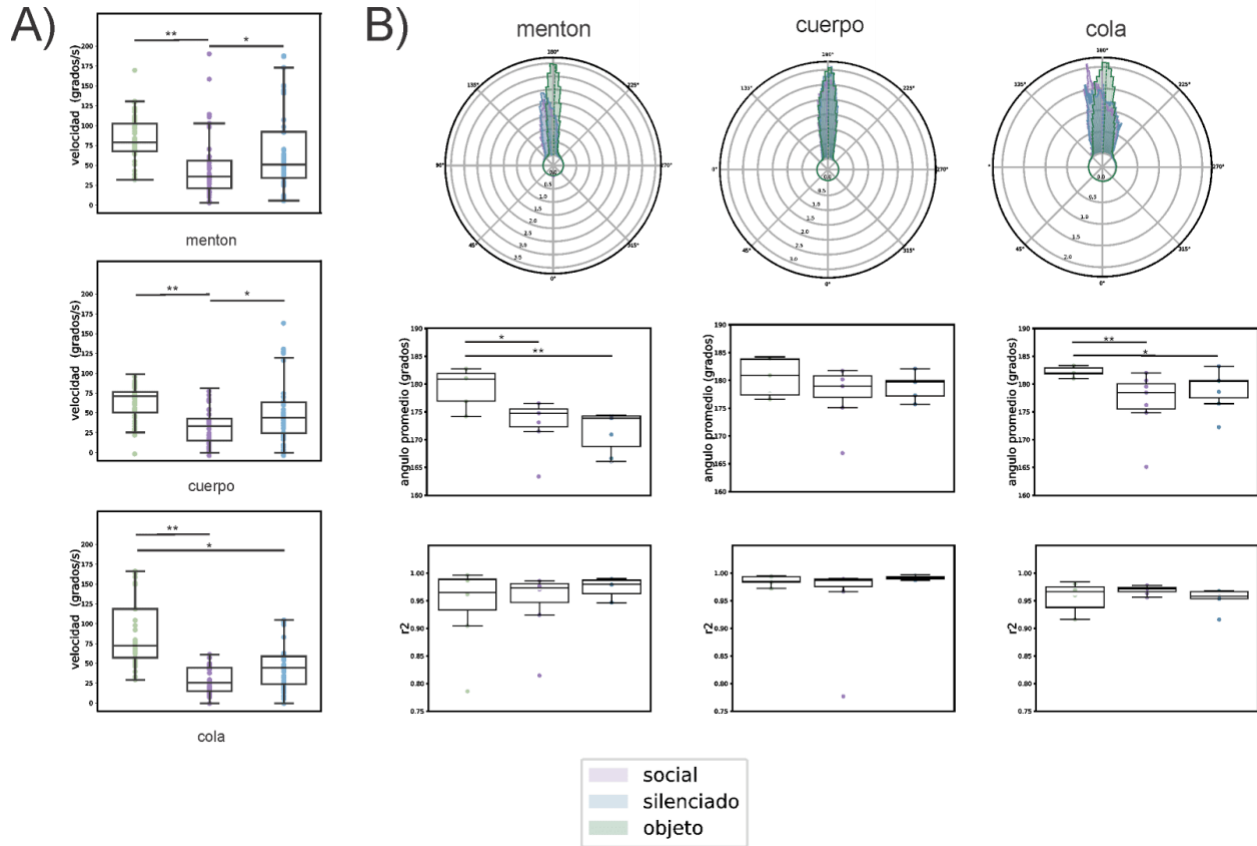


Figura 1.5: La dinámica de diferentes regiones del cuerpo en el entorno de los estímulos varía en función de la valencia del estímulo. (A) Velocidad angular media del mentón (panel superior), cuerpo (panel medio) y cola (panel inferior) en el entorno de cada estímulo. La velocidad del mentón, cuerpo y cola difirieron de forma significativa entre condiciones. Para el mentón, la velocidad fue significativamente mayor para el estímulo abiótico y silenciado que para el estímulo social (abiótico vs descargando, $p=0.0002$; silenciado vs descargando, $p=0.033$). La velocidad del cuerpo, o velocidad de giro, también presentó diferencias significativas entre el estímulo abiótico y silenciado con el vecino descargando (abiótico vs descargando, $p=0.$; silenciado vs descargando, $p=0.$). La velocidad de la cola fue mayor para el estímulo abiótico que para los estímulos bióticos (abiótico vs descargando, $p=0.0002$; abiótico vs silenciado, $p=0.033$). (B) Histogramas radiales (poblacionales, $n=7$) de los ángulos a los cuales se mueve cada parte del cuerpo estudiada, el mentón (izquierda), cuerpo (medio), y cola (derecha). El eje vertical del histograma representa el eje anteroposterior del animal, de forma que ángulos a la izquierda de este significa que la correspondiente parte del cuerpo se mueve esa cantidad de grados a la izquierda y lo mismo para la derecha. Cuantificación de los histogramas para cada individuo y condición (paneles inferiores). Se muestran las medias (panel superior) y r^2 del ajuste de Rayleigh (panel inferior) para cada condición. Se observa diferencias significativas entre los ángulos medios de movimiento del mentón (panel superior izquierdo) entre el estímulo abiótico y los estímulos bióticos (abiótico vs silenciado, $p=0.0016$; abiótico vs descargando, $p=0.0224$), con una preferencia por movimientos hacia la izquierda en los estímulos bióticos. Esta preferencia por la izquierda se observa también en los movimientos de la cola (panel superior derecho) entre los estímulos bióticos y el estímulo abiótico (abiótico vs silenciado, $p=0.0224$; abiótico vs descargando, $p=0.0039$). No se observan diferencias significativas en los ángulos

de giro del cuerpo. La dispersión de los histogramas (C, panel inferior, r^2) es significativamente diferente para los ángulos del mentón silenciado vs descargando, $p=0.031$) y de la cola silenciado vs descargando, $p=0.047$) entre condiciones bióticas. No hay diferencias en la dispersión del estímulo abiótico para ninguna de las partes del cuerpo.

Se observa que la velocidad angular del mentón en el entorno del estímulo no cambia significativamente con la distancia, pero sí con la condición experimental (two-way ANOVA distancia-condición; p valores: 0.99, 0.0008; respectivamente). Específicamente, encontramos que la velocidad del mentón es mayor cuando el estímulo es abiótico frente a la presencia de un vecino descargando (Tukey post-hoc test, $p=0.0002$). A su vez, la velocidad del mentón es mayor cuando el vecino no descarga DOEs que cuando sí lo hace (Tukey post-hoc test, $p=0.033$). No hay diferencias significativas entre la velocidad del mentón entre un estímulo abiótico que para un vecino silenciado (Tukey post-hoc test, $p=0.28$). A su vez, se observa una preferencia por movimientos a la izquierda del mentón en los grupos de estímulos bióticos que difiere significativamente de lo observado para el estímulo abiótico (*Dunn post-hoc; objeto vs descargando, $p = 0.0224$; objeto vs silenciado, $p=0.0016$; silenciado vs descargando, $p=0.3889$*). En este caso, la distribución es simétrica centrada en 179.3 ± 3.07 grados, de forma que el mentón se mueve a ángulos preferentemente de 180 grados, y sin un sentido preferido (figura 1.5C). En las otras condiciones, si bien la distribución es simétrica, la media está desplazada a 171.5 ± 3.42 y 172.8 ± 4.20 grados para el vecino silenciado y descargando, respectivamente. A su vez cuantificamos la dispersión de la distribución de ángulos utilizados con el parámetro r^2 de la distribución de Rayleigh para cada histograma. Se observa un aumento significativo de la dispersión del histograma de ángulos para el vecino silenciado frente al vecino descargando, pero no entre ninguno de los estímulos bióticos frente al estímulo abiótico (*Dunn post-hoc; silenciado vs descargando, $p=0.031$; silenciado vs abiótico, $p=0.181$; descargando vs abiótico, $p=0.413$*)

Estos resultados sugieren que el mentón se recluta de forma diferencial en función del tipo de estímulo que se está explorando. Particularmente, la velocidad y ángulos a los que se mueve el mentón difiere en presencia de un vecino descargando respecto a las otras dos condiciones experimentales.

Por otro lado, la velocidad angular del cuerpo en el entorno del estímulo no cambia significativamente con la distancia, pero sí con la condición experimental (two-way ANOVA distancia-condición; p valores: 0.99, 0.000012, respectivamente). Específicamente, encontramos que la velocidad del cuerpo es mayor cuando el estímulo es abiótico frente al vecino que emite DOEs (Tukey post-hoc test, $p=0.0$) y cuando el vecino está silenciado frente al vecino que emite DOEs (Tukey post-hoc test, $p=0.007$). No hay diferencias significativas en las velocidades de giro entre el estímulo abiótico y el vecino silenciado (Tukey post-hoc test, $p=0.068$). Tampoco se encontraron diferencias en los ángulos del cuerpo utilizados entre cada condición (*Dunn post-hoc; objeto vs descargando, $p = 0.3218$; objeto vs silenciado, $p=0.3433$; silenciado vs descargando, $p=0.9656$*). En todos los casos, las distribuciones se centran en 180.5 ± 3.18 grados, 177.6 ± 4.81 grados y 178.8 ± 2.03 grados, para el estímulo abiótico, vecino que descarga y vecino que no descarga, respectivamente. La dispersión de estos histogramas no

mostró diferencias significativas (*Dunn post-hoc; abiótico vs descargando, $p = 0.635$; abiótico vs silenciado, $p=0.635$; descargando vs silenciado, $p=0.343$*)

Los movimientos de cambio de dirección tienden a ser estereotipados, lo cual explica las similitudes en los ángulos de giro entre las especies. Sin embargo, las diferencias observadas en la velocidad de giro sugieren la presencia de estrategias diferenciales durante la exploración de cada tipo de estímulo.

Por último, la velocidad angular de la cola en el entorno del estímulo no cambia significativamente con la distancia, pero sí con la condición experimental (two-way ANOVA distancia-condición; p valores: 0.99, 8×10^{-8} , respectivamente). Específicamente, encontramos que la velocidad angular de la cola es mayor cuando el estímulo es abiótico frente a la presencia de un vecino tanto si emite DOEs como si no (Tukey post-hoc test, $p=0.00$, 0.00). No hay diferencias significativas en las velocidades de la cola entre los estímulos sociales (Tukey post-hoc test, $p=0.6356$). Los ángulos a los que se mueve la cola difieren significativamente entre los estímulos bióticos y el estímulo abiótico (*Dunn post-hoc; abiótico vs descargando, $p = 0.0039$; abiótico vs silenciado, $p=0.0224$; silenciado vs descargando, $p=0.5464$*). Las distribuciones se centran en 182.2 ± 0.77 grados, 176.6 ± 5.24 grados y 178.9 ± 3.32 grados, para el estímulo abiótico, vecino que descarga y vecino que no descarga, respectivamente. La dispersión de estos histogramas presenta diferencias significativas entre los estímulos bióticos, pero no así con el estímulo abiótico (*Dunn post-hoc; abiótico vs descargando, $p = 0.3889$; abiótico vs silenciado, $p=0.2627$; silenciado vs descargando, $p=0.047$*)

La cola, al igual que el mentón, son regiones del cuerpo cuyo movimiento se puede utilizar para el escaneo activo de estímulos del entorno. Estos resultados sugieren una utilización del mentón para la exploración del estímulo abiótico que se utiliza también para explorar al vecino silenciado, pero no así para el vecino descargando. De forma similar, la dinámica de la cola difiere entre condiciones bióticas y abióticas. Sin embargo, en este caso para explorar al vecino silenciado se utiliza una dinámica similar a la utilizada para el vecino que descarga, la cual difiere de lo observado con el estímulo abiótico. En suma, la presencia de un estímulo ambiguo -como el vecino silenciado- puede evocar comportamientos del repertorio utilizado para estímulos bióticos o abióticos no ambiguos.

A partir de esta idea, se buscó ahondar en los despliegues conductuales que generan estas diferencias generales. En este sentido, se llevó a cabo la segmentación de unidades comportamentales haciendo uso del software de libre acceso B-Soid (ver sección *Seguimiento y segmentación comportamental*). Este modelo agrupó el comportamiento de los individuos en 8 unidades comportamentales (figura 1.6), enumeradas de forma secuencial del 0 al 7. La figura 1.6A muestra la distribución de ejemplos de estos grupos en el espacio de dimensión reducida posterior al análisis UMAP-HDBSCAN (ver sección métodos: Seguimiento y segmentación comportamental). La distribución de aparición de cada una de estas unidades conductuales para cada condición experimental es similar (figura 1.6B). En la figura 1.6C se muestran ejemplos

de trayectorias que fueron etiquetadas con cada unidad comportamental (por más ejemplos ver anexo A2.2).

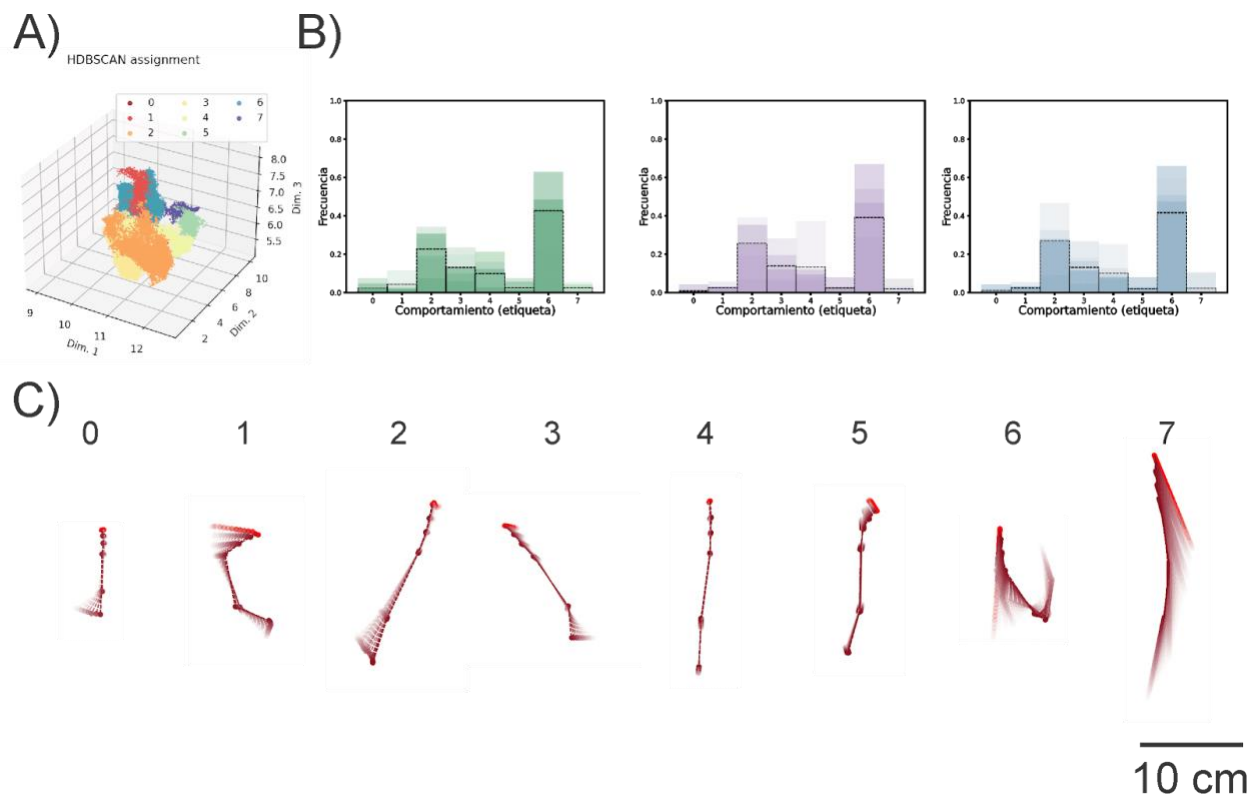
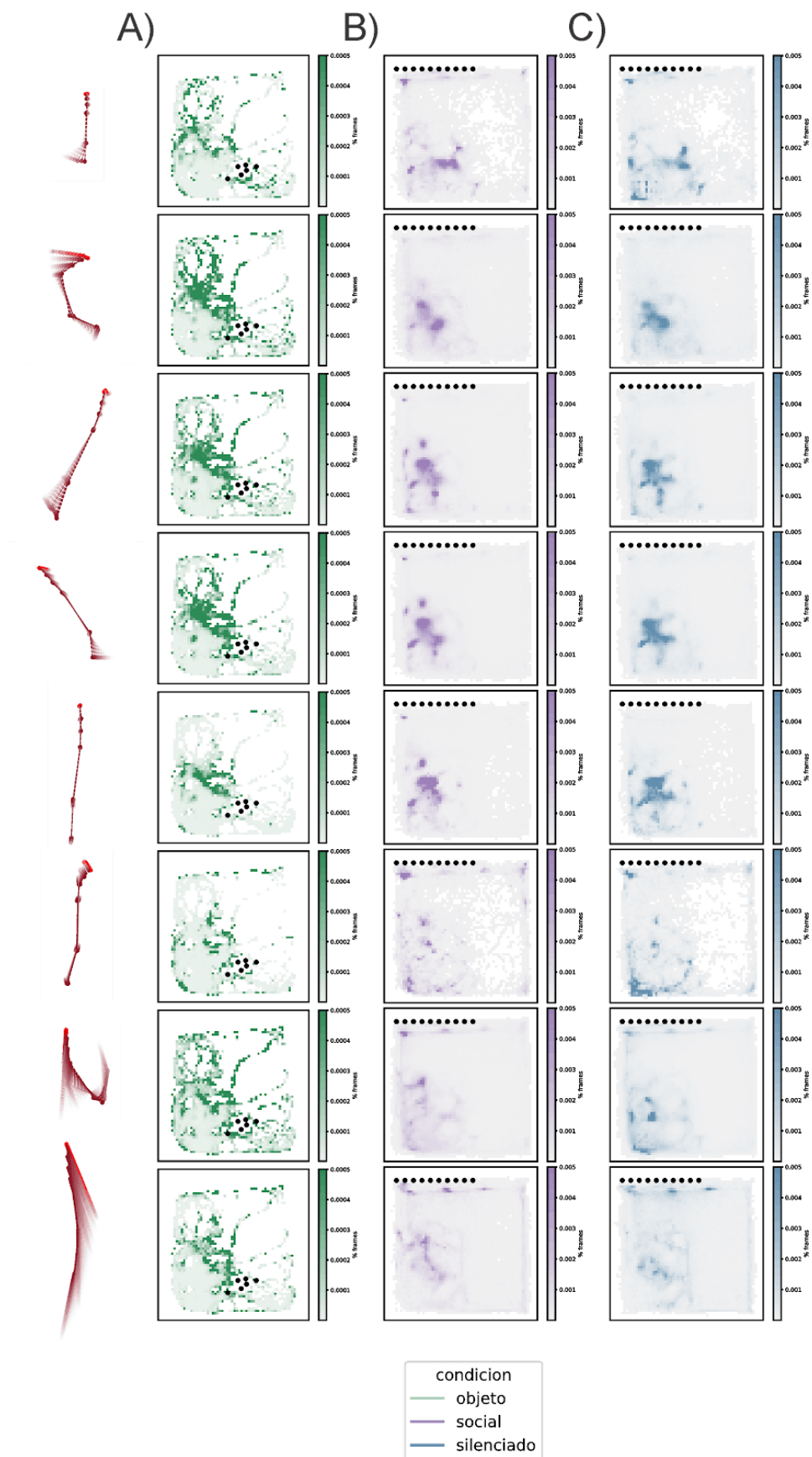


Figura 1.6: Segmentación comportamental por B-oid. (A) clustering realizado por HDBSCAN sobre las relaciones de pose entre los puntos de seguimiento en el espacio de dimensión reducida generado por UMAP. Cada punto es una observación con determinadas relaciones entre los puntos del cuerpo del animal, agrupados por color según la unidad comportamental que le fue asignada por HDBSCAN. (B) Frecuencia de aparición de cada unidad comportamental para cada grupo experimental, estímulo abiótico (izquierda, verde), vecino descargando (medio, violeta), y vecino silenciado (derecha, azul). (C) Ejemplos de trayectorias para cada una de las unidades comportamentales. Se grafica el esqueleto del animal a partir de los puntos de seguimiento. El mentón se indica con rojo más claro, orientado hacia arriba. Cada esqueleto representa una captura de video consecutiva, cuyo orden se señala por la intensidad del color, cuanto más claro antes sucedió.

A continuación, se evaluó la distribución espacial de estas unidades comportamentales para cada condición (figuras 1.7, 1.8). La figura 1.7 muestra la distribución espacial poblacional para cada comportamiento y condición, normalizado por el tiempo de visita de cada cm^2 para cada animal. Estos mapas se obtienen a partir de la posición de la cabeza del animal para cada caso y se superponen los mapas de cada animal para cada condición y unidad comportamental. Estos mapas fueron cuantificados (figura 1.8) para cada condición, mostrando la probabilidad de encontrar cada unidad comportamental a diferentes distancias de cada estímulo. En general se observa que la distribución espacial es similar entre las condiciones bióticas. Para estos tipos de estímulos, las unidades conductuales 1 y 5 muestran picos de aparición en los primeros 4 cm del entorno del vecino, y otro pico lejos (20-30cm). Estas unidades conductuales también se encuentran presentes cuando el estímulo es abiótico, pero con picos a diferentes rangos. Por ejemplo, para la unidad 5 se observa un pico entre 8-12 cm. Esto se observa en

general para todas las unidades conductuales cuando el estímulo es abiótico, lo cual puede sugerir que no están relacionadas a la exploración de este estímulo o que, para este tipo de estímulo, el rango u orientación del cuerpo a la que se llevan a cabo es diferente que para los estímulos bióticos.

Figura 1.7 (siguiente página): Distribución espacial de las unidades comportamentales. Se muestran mapas de frecuencia de aparición (% de capturas) de cada unidad comportamental para cada condición experimental. Cada fila representa una unidad comportamental y su asociada trayectoria ejemplo se muestra a la izquierda. Cada mapa muestra la superposición de los mapas individuales de cada animal para cada condición ($n=7$), los cuales fueron normalizados por el tiempo de visita en cada pixel. La posición que se muestra es la posición de la cabeza del animal para (A) estímulo abiótico, (B) vecino descargando y (C) vecino silenciado.



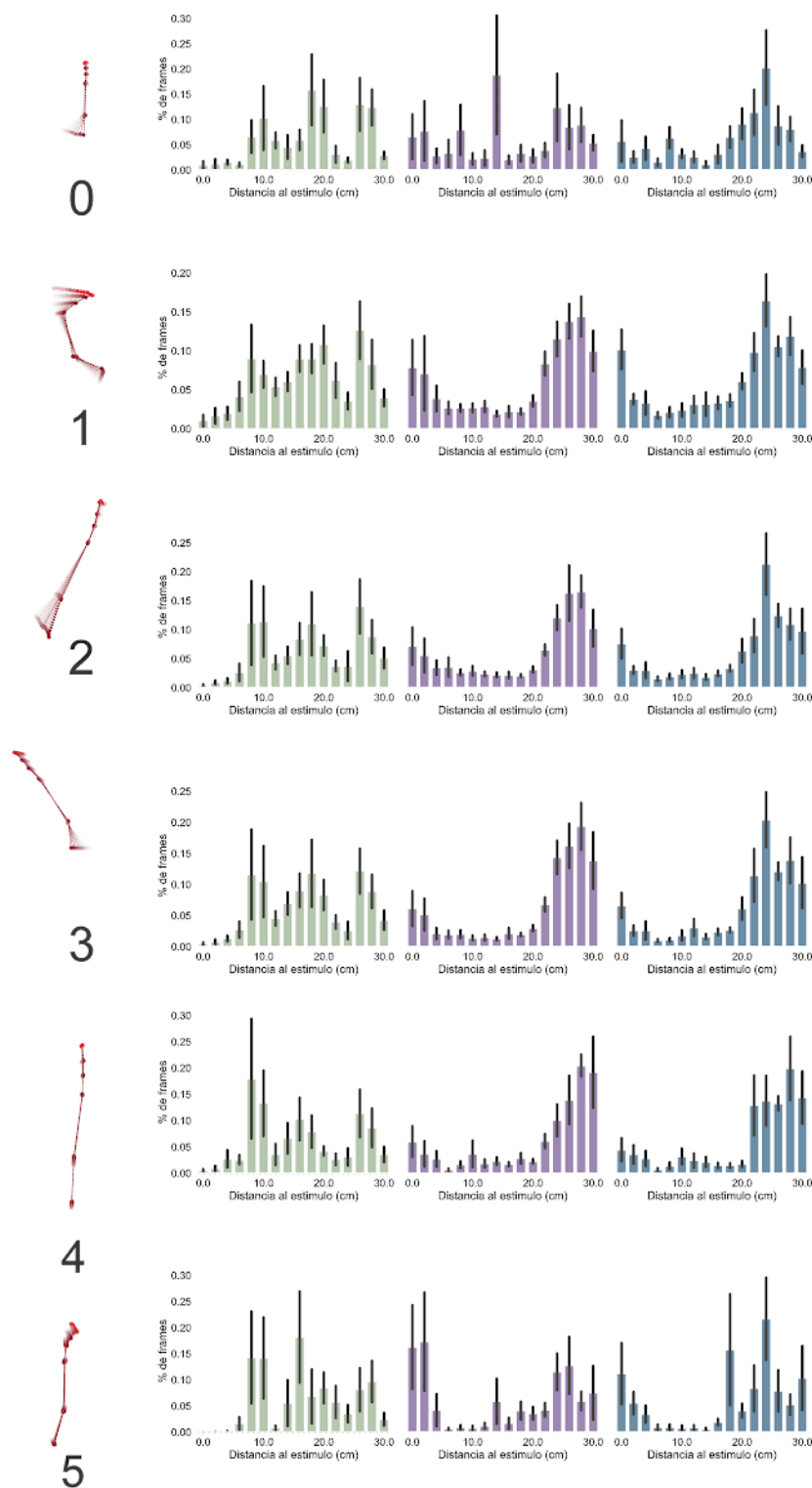
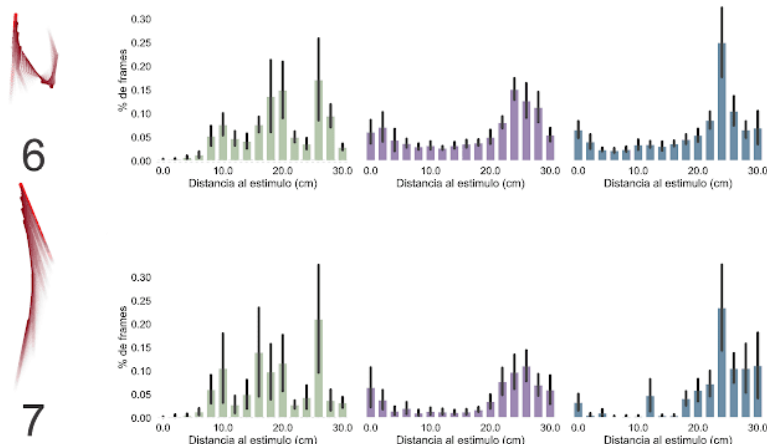


Figura 1.8: cuantificación de distribución espacial. Se muestran histogramas con el porcentaje de aparición de cada comportamiento a diferentes distancias de cada estímulo, generado a partir de los mapas presentados en la figura 7. Cada barra representa la media de frecuencia de aparición interindividual cada 2 cm de distancia de los respectivos estímulos. Las barras señalizan el error estándar interindividual ($n=7$ individuos). En verde se muestra la distribución para el estímulo abiótico, en violeta para el vecino descargando y en azul para el vecino silenciado. Se señala cada unidad comportamental con la trayectoria ejemplo y el número con el cual fue etiquetado. (Figura sigue en la siguiente página).

Habiendo descrito la distribución espacial de las unidades comportamentales, se propuso describir su organización temporal. Para esto se estudiaron secuencias repetidas de unidades comportamentales en cada condición. Se obtuvieron las 5 secuencias repetidas más frecuentes para cada condición (figura 1.9A). Se cuantifica la frecuencia de aparición como el porcentaje de aparición de cada secuencia en la totalidad de los peces, segregado por condición. En este sentido, una



probabilidad de aparición de 0.05 implica que en el 5% de los datos agrupados para todos los peces ($n=7$) para una determinada condición aparece esa secuencia.

De esta forma, se observa que existen secuencias compartidas entre los tipos de estímulos, secuencias compartidas entre dos tipos, y secuencias únicas al estímulo abiótico y vecino descargando. En particular, tres de estas secuencias

son compartidas entre las tres condiciones experimentales; una es compartida entre los estímulos bióticos; una es compartida entre el estímulo biótico y abiótico; una aparece solamente con el vecino descargando; y por último una aparece exclusivamente en el estímulo abiótico. Estas secuencias brindan mayor complejidad al comportamiento del individuo, y ejemplos de cada una de ellas se muestran en la figura 1.9B.

Al igual que se observó al comienzo de esta subsección, estos resultados sugieren estrategias características para el estímulo abiótico y vecino descargando. Estas estrategias se reclutan en el caso donde el estímulo es ambiguo -biótico pero no comunicativo-, tomando en algunos casos las estrategias empleadas para estímulos abióticos y en otros para estímulos sociales intactos.

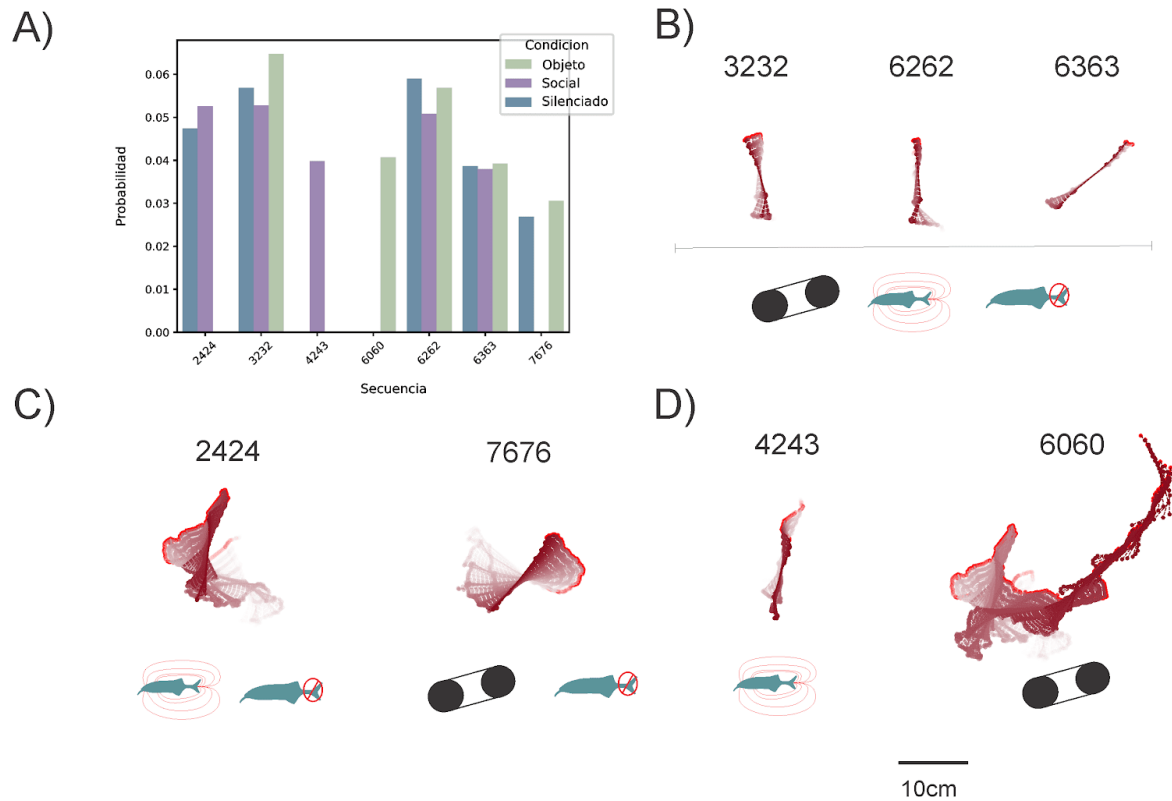


Figura 1.9: Secuencias de unidades comportamentales. (A) Se muestran las cinco secuencias repetidas más frecuentes para cada condición. (B) Tres de estas secuencias se comparten entre las tres condiciones (3232, 6262 y 6363). (C) La secuencia 2424 aparece para los estímulos bióticos, pero no para el estímulo abiótico. La secuencia 7676 aparece para el vecino silenciado y para el estímulo abiótico. (D) La secuencia 4243 aparece solo para el vecino descargando. Por último, la secuencia 6060 aparece solo para el estímulo abiótico. Ejemplos de trayectorias para estas secuencias se muestran en (B-D). Estos esquemas muestran el esqueleto de un pez y su evolución a lo largo de la secuencia, los esqueletos más claros representan el comienzo de la secuencia y a medida que avanza el esqueleto se vuelve más oscuro. Cada esqueleto dibujado representa una captura del video.

Discusión

En el capítulo 1 de esta tesis se evaluó la respuesta de *G. petersii* ante estímulos abióticos y bióticos, evidenciando una organización del comportamiento que difiere según la información contenida en el estímulo. Un primer punto a tener en cuenta al interpretar los resultados de este capítulo es que los estímulos son presentados ante el individuo en su residencia. Es decir, los estímulos fueron presentados en una arena experimental a la cual el individuo está habituado, donde se encuentra su refugio y donde todos los días es alimentado.

La respuesta general observada para el estímulo abiótico fue la esperada en base a los antecedentes para esta especie: hay un aumento del tiempo de visita en el entorno del objeto, pero no así de FB-DOE que se distribuye de forma homogénea en el espacio; a la vez que se observan patrones locomotores relacionados espacialmente con el objeto.

Sin embargo, la respuesta observada para los estímulos bióticos puede ser un poco contraintuitiva. Tanto para el vecino intacto como para el vecino silenciado, el tiempo de visita disminuye en el entorno del vecino, lo cual difiere de lo observado por Moller (1982), quien describe un aumento del tiempo que el individuo pasa en el entorno del vecino. Aquí es relevante pensar en el contexto en el cual estos estímulos son presentados. En esta tesis, los estímulos bióticos son presentados en la periferia de la residencia del individuo. Basados en lo que conocemos para otras especies de peces eléctricos de descarga débil, particularmente *G. omarorum*, uno podría hipotetizar que en este contexto los estímulos sociales pueden ser interpretados como una amenaza al territorio del individuo. En este sentido, el individuo intacto representaría la mayor amenaza ya que es reconocido por todos los canales sensoriales como un conoespecífico y es, a su vez, capaz de enviar señales comunicacionales. El vecino silenciado, sin embargo, también puede ser reconocido por señales no eléctricas como un conoespecífico, pero es de esperar que la amenaza que este representa sea menor.

El tiempo que pasan en movimiento los individuos a lo largo del experimento refuerza esta hipótesis en dos maneras. Primero, tanto con el vecino descargando como con el vecino silenciado los individuos tienen un pico de movimiento cuando se introduce inicialmente el vecino. Este pico es significativo para el vecino descargando, pero no así para el vecino silenciado, sugiriendo una mayor intensidad en la respuesta cuando todas las señales están presentes. A pesar de este aumento en el tiempo en movimiento, en ese mismo momento la densidad de muestreo en el entorno del vecino descargando es más baja que para el resto del experimento. Esto sugiere que, si bien el pez se mueve más, no necesariamente se acerca por tiempos prolongados al vecino. De esta manera, podemos hipotetizar que este movimiento esté relacionado a interacciones puntuales y/o conductas de patrulleo del territorio como las observadas en otras especies (Perrone y cols, 2019; Batista y cols, 2012; Silva y cols, 2013; Hupé y Lewis, 2008).

Segundo, el tiempo en movimiento presenta un aumento significativo en la mañana tanto para las sesiones donde el estímulo es abiótico como cuando ingresa un vecino silenciado. De forma interesante, este aumento observado en las condiciones abiótica y de vecino silenciado se pierde cuando el vecino está intacto. Independientemente del origen de este aumento de actividad locomotora, su supresión en el contexto social soporta la idea de un aumento en conductas de defensa del territorio ante una amenaza. Podríamos pensarlo en este sentido como una compensación entre locomoción y defensa, similar al ejemplo planteado en la introducción de esta tesis de forrajeo y defensa del territorio en el carbonero común (Ydenberg y cols., 1987). Futuros estudios en esta línea han de abordar la existencia de esta compensación con diseños experimentales apropiados. Sería interesante, en este sentido, estudiar las consecuencias de la intrusión de un conoespecífico tanto descargando como silenciados, no solo en la periferia, sino en el interior del territorio. Experimentos preliminares de esta tesis -no presentados aquí- sugieren que la intrusión dentro del propio territorio elicit conductas agonísticas ante el intruso, de forma similar a lo observado en otras especies de peces eléctricos como la que se estudia en el capítulo 2 (Batista y cols, 2012; Perrone y cols, 2024). Si bien poco se conoce sobre la conducta agonística en esta especie, algunas referencias han caracterizado encuentros de este tipo entre individuos de *G. petersii* (Crockett y cols., 1986; Telerph, 2004). A su vez, la presentación de individuos de la especie cercana *Mormyrus rume* por 3 minutos evoca comportamiento agonístico

electromotor en *G. petersii* (Kramer y Bauer, 1976). Estos antecedentes sugieren que señales eléctricas especie-específicas puede que no sean necesarias para evocar conductas agonísticas en *G. petersii*.

A su vez, es de notar que lo observado aquí corresponde a la primera mañana en la que el individuo se enfrenta a la presencia de un vecino descargando. En este sentido, existe la posibilidad que con el pasaje de varios días se recuperase el pico de movimiento en la mañana, al disminuir la incertidumbre sobre la amenaza que realmente representa el vecino.

Otro aspecto interesante del pico de actividad locomotora observado con el estímulo abiótico y el vecino silenciado tiene que ver con la ritmicidad circadiana de esta especie. El aumento observado se da previo al encendido de la luz, lo cual sugiere una anticipación a este cambio ambiental en lugar de una reacción a la misma. Poco se conoce del rol de la luz y del momento del día sobre la actividad electromotora de *G. petersii*. Bajo mi conocimiento, solo una referencia existe que propone que la FB-DOE de esta especie sigue un ritmo circadiano crepuscular, con un aumento en el atardecer y un aumento en el amanecer (Bässler et al., 1979). Sin embargo, ningún estudio se ha realizado bajo las condiciones apropiadas para determinar la presencia de un ritmo circadiano de actividad eléctrica y motora.

Estos resultados abren las puertas a considerar preguntas sobre la territorialidad y socialidad de esta especie, sugiriendo una defensa de la residencia ante un vecino intacto. A su vez, proveen evidencia a favor de un posible ciclo crepuscular de actividad locomotora, el cual ha de ser probado mediante un diseño experimental apropiado para dicha pregunta.

En términos de la organización de la conducta exploratoria, en el capítulo 1 de esta tesis se caracterizan estrategias locomotoras para la exploración de cada estímulo. Se observa que mientras existen unidades comportamentales básicas que son compartidas en cada condición experimental, la organización espaciotemporal de las mismas difiere de acuerdo con la valencia y tipo de estímulo presentado. En general, se observa que las estrategias utilizadas al explorar estímulos abióticos y estímulos bióticos intactos difieren en su organización espaciotemporal. En esta línea, al investigar vecinos silenciados, lo cual representa un estímulo ambiguo para el animal, estrategias de cualquiera de los otros dos tipos de estímulos pueden ser reclutadas.

Es de notar que los análisis del último apartado de resultados de este capítulo (*Análisis de la dinámica del comportamiento exploratorio*). involucran métodos automatizados para el análisis del comportamiento. Estos métodos se han presentado en los últimos años como una optimización de estudios etológicos y, a su vez, un refinamiento de esta. Sin embargo, la mayor validación de estas técnicas se ha realizado en otros modelos de estudio – principalmente roedores – diferentes a los peces utilizados en esta tesis. En este sentido, esta tesis significa un primer impulso para el uso de aprendizaje automático para la segmentación comportamental en peces eléctricos. En el futuro, más procesos de validación le brindarán a los mismos mayor soporte y fluidez en su uso.

En conclusión, en este capítulo se logró caracterizar la organización espaciotemporal del comportamiento exploratorio frente a tres tipos de estímulos, mediante el uso de modelos de aprendizaje automático. En este contexto surgen de este capítulo dos líneas de trabajo futuro en esta especie: la caracterización de conductas territoriales y agonísticas; y la caracterización de una posible modulación circadiana de la actividad eléctrica y motora.

Capítulo 2

Punto de partida y objetivos

En base a los antecedentes presentados, el segundo capítulo de esta tesis se propone abordar la conducta exploratoria en *Gymnotus omarorum*. Dada la escasa evidencia sobre el comportamiento exploratorio en esta especie, este capítulo propone ser un punto de partida para el diseño de protocolos apropiados para el estudio de esta conducta en esta especie.

En este marco, los objetivos de este capítulo son los siguientes.

Objetivo general:

Evaluar la respuesta ante estímulos abióticos en el pez eléctrico de descarga débil *Gymnotus omarorum* como primer acercamiento al estudio de su conducta exploratoria.

Objetivos específicos:

1. Caracterizar la organización espaciotemporal del comportamiento exploratorio de *G. omarorum* frente a un estímulo abiótico.
2. Evaluar el efecto del momento del día sobre la organización espaciotemporal del comportamiento exploratorio.

Resultados

Los resultados de este capítulo comprenden los experimentos conductuales donde se evaluó la respuesta electromotora a un estímulo abiótico. Esta condición experimental es análoga a la estimulación abiótica realizada en *G. petersii*, presentada en el capítulo anterior. Sin embargo, en los experimentos conductuales realizados en esta especie incorporamos una segunda sesión de estimulación. De esta manera, los resultados de este capítulo comprenden una sesión en el atardecer (17:00-19:00) tal como la presentada en *G. petersii*, y una al amanecer (05:00-09:00).

Distribución espacial de la exploración electromotora

Para describir el uso del espacio y la adquisición de información en el mismo, se generaron mapas de tiempo de visita y frecuencia basal de la DOE (Figura 2.1 A-B y C-D, respectivamente) para las cuatro horas de estimulación intermitente del atardecer (17:00 a 21:00, figura 2.1A, C y E) y del amanecer (05:00 a 09:00, figura 2.1 B, D, F). Cada pixel de estos mapas representa un centímetro cuadrado de la arena experimental. En los mapas de tiempo de visita, el color de cada píxel representa el porcentaje de tiempo total que el pez pasó en ese centímetro cuadrado (estimando la ubicación del pez a partir del centroide del esqueleto seguido por DeepLabCut). En los mapas de frecuencia, el color de cada píxel representa la mediana de la frecuencia instantánea de la DOE para todos los momentos que el animal pasó en ese centímetro cuadrado. A partir de estos mapas se generaron los mapas de densidad de muestreo (DOEs por cm²) como el producto de los mapas de tiempo de visita y frecuencia (Figura 2.1, E-F).

De forma cualitativa, no se observan zonas de alta frecuencia o tiempo de visita en torno al objeto (señalizado con una estrella roja en las figuras) en la sesión del atardecer, con una distribución de la FB-DOE homogénea en la arena experimental y una zona donde el animal pasa más tiempo en la región superior de la arena experimental, donde se encuentra su refugio. Este patrón de tiempo de visita se mantiene al observar la distribución espacial de la densidad de muestreo (figura 2.1 E-F).

Por otro lado, para la sesión de la mañana, se observa una distribución de la FB-DOE con una zona de alta frecuencia en la región media de la arena experimental, la cual comprende al objeto.

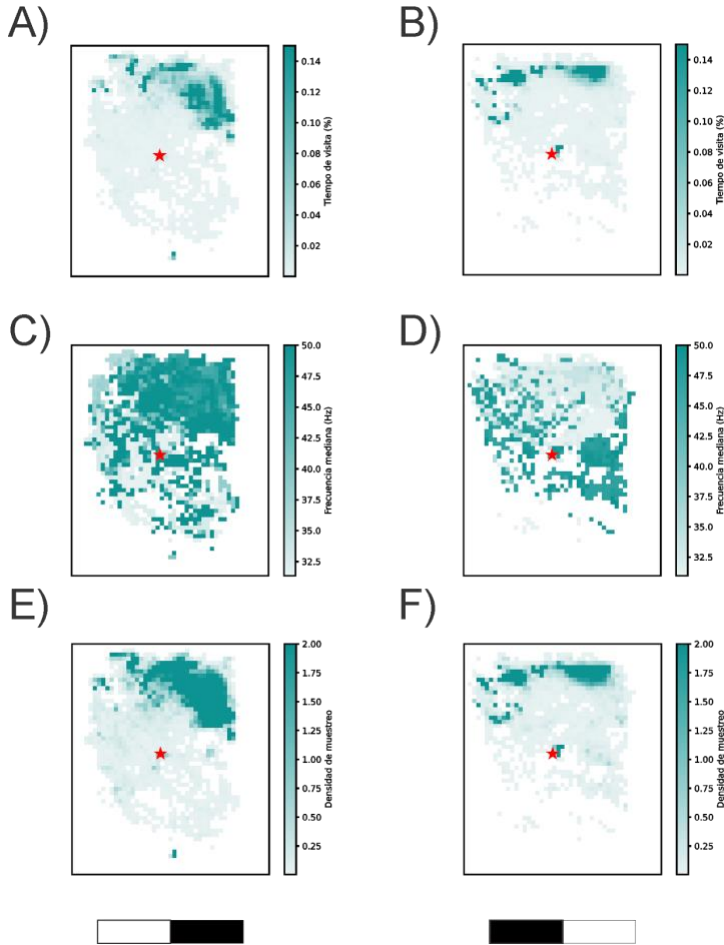


Figura 2.1: Ejemplos de mapas de tiempo de visita (A-B), frecuencia media (C-D) y densidad de muestreo (E-F) para las dos sesiones de encendido del estímulo, al atardecer (izquierda) y al amanecer (derecha). Cada píxel representa un centímetro cuadrado de la arena experimental. Se marca la posición del objeto estímulo en cada mapa mediante una estrella roja. La escala de valores para cada mapa fue seleccionada de forma arbitraria para una mejor interpretación y comparación entre individuos, a cualquier valor mayor al límite superior se les adjudica el color más oscuro de la escala. (A-B) El color de cada píxel en los mapas de tiempo de visita ilustran el porcentaje de tiempo total que el pez pasó en dicho píxel. (C-D) El color de cada píxel representa la mediana de la frecuencia instantánea de descarga del órgano eléctrico para cada momento que el pez pasa en ese píxel. (E-F) Mapas de densidad de muestreo, generados como el producto de los mapas en (A-C) y (B-D), ilustran la cantidad de DOEs que realiza el individuo en cada cm^2 de la arena experimental.

De forma cuantitativa, no hay diferencias significativas relacionadas a la distancia al estímulo para ninguna de las tres variables en la sesión de la tarde (Figura 2.2 A, C y E).

Sin embargo, cuando presentamos el estímulo en la sesión de la mañana se observa una tendencia a una mayor FB-DOE entre 2 y 5 cm del estímulo (*test post-hoc Dunn*, $p=0.05$, $p=0.1$, $p=0.08$).

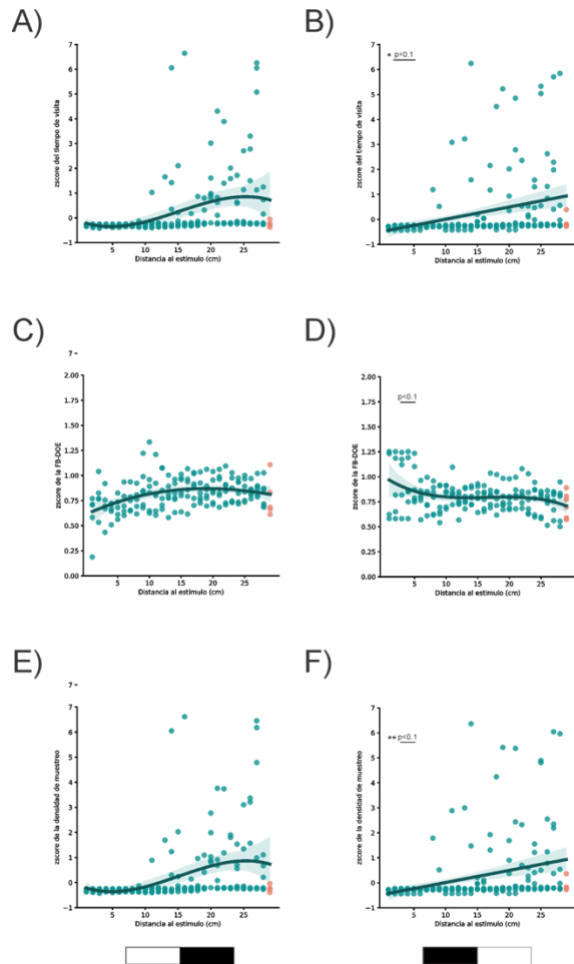


Figura 2.2: Cuantificación de las distribuciones espaciales respecto a la ubicación del estímulo para la densidad de tiempo de visita, FB-DOE y densidad de muestreo y para cada sesión experimental. Se muestra la dependencia del zscore de cada variable mencionada con la distancia al estímulo de cada sesión experimental: al atardecer (A, C, E) y al amanecer (B, D, F). Los puntos naranjas al final de cada distribución señalan los valores de la variable correspondiente para distancias mayores a 30 cm y son los que se utilizan como basales en la comparación de las otras distancias. Cada punto es el zscore de la mediana de la variable correspondiente para intervalos de a un cm de distancia del estímulo para un individuo ($n=6$). Las líneas en cada gráfico indica el ajuste polinomial de mayor confianza $\pm$ desvío estándar. El tiempo de visita (B) muestra un descenso significativo en el primer centímetro del entorno del estímulo y una tendencia en los siguientes 3 centímetros ($p<0.1$). La FB-DOE (C) no presenta diferencias significativas cuando el estímulo se presenta en el atardecer, pero tiende a aumentar cuando el estímulo se presenta en la mañana ($p<0.1$). La densidad de muestreo es significativamente menor en los primeros 2 cm del entorno del estímulo en la mañana y muestra una tendencia a disminuir en los siguientes 3 centímetros ($p<0.1$)

Por otro lado, el tiempo de visita es significativamente menor en el primer centímetro del estímulo respecto a valores basales (*test post-hoc Dunn*, $p=0.027$), y tiende a ser menor en los siguientes 3 centímetros (*test post-hoc Dunn*, $p=0.06$, $p=0.08$, $p=0.07$). De forma similar, la densidad de muestreo es significativamente menor en los primeros dos centímetros de distancia al estímulo (*test post-hoc Dunn*, $p=0.022$, $p=0.039$), y tiende a disminuir en los siguientes 3 centímetros (*test post-hoc Dunn*, $p=0.050$, $p=0.08$, $p=0.1$).

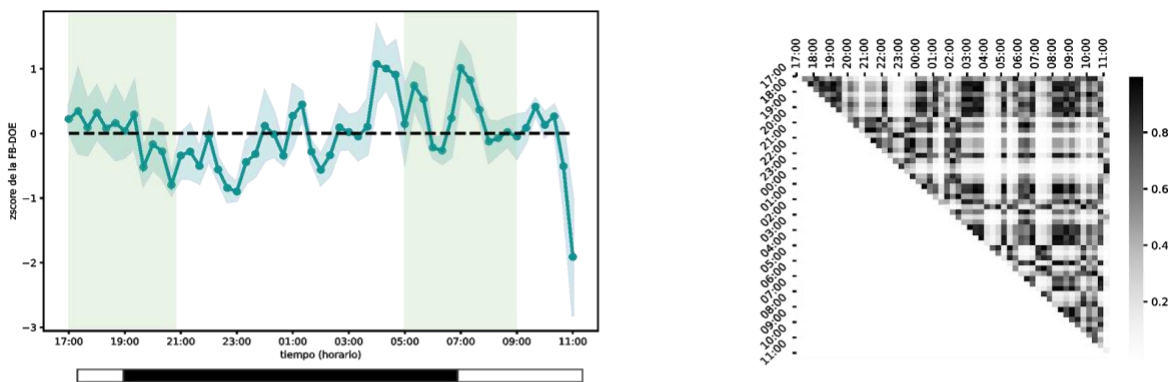
Estos resultados sugieren que, en términos generales, el estímulo presentado no es capaz de evocar una respuesta locomotora significativa, pero si una posible respuesta del sistema eléctrico. Es interesante notar la presencia de cambios en la FB-DOE en la sesión de la mañana, pero no así en la del atardecer. Dados los hábitos nocturnos de esta especie, se esperaba observar una mayor respuesta en el atardecer comparado con el amanecer.

Efecto del momento del día sobre la exploración

Como primera aproximación a evaluar el efecto del momento del día sobre la exploración evaluamos la modulación de la FB-DOE y de la locomoción en las 17 horas de registro (figura 2.3).

Se observa un descenso significativo de la FB-DOE 40 minutos después del apagado de la luz (19:40) que se sostiene hasta la madrugada (Dunn, $p < 0.05$; figura 2.3A). De forma consistente con lo que se observa en condiciones de cautiverio individual para la especie (Migliaro y Silva, 2016). La FB-DOE aumenta a las 04:00 donde se sostiene hasta el encendido de la luz a las 07:00 (Dunn, $p < 0.05$; figura 3A).

A)



B)

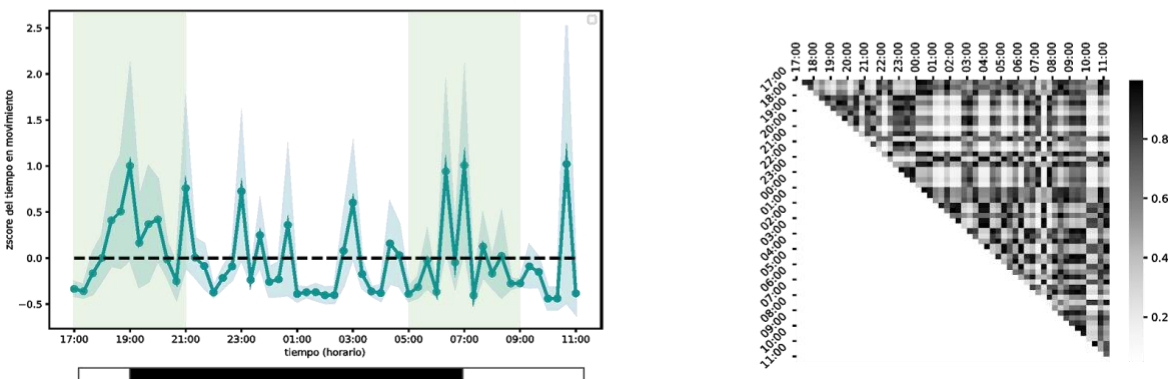


Figura 2.3: Modulación de la FB-DOE y locomoción durante la totalidad del experimento. Se muestran el zscore de la FB-DOE (A) y tiempo en movimiento (B) medias en intervalos de veinte minutos durante la totalidad del experimento. Cada punto es la media poblacional y la región sombreada para cada punto es el error estándar entre individuos. En verde se somborean los tiempos donde se da el encendido intermitente del estímulo abiótico. Bajo cada gráfica se muestran las horas de luz (recuadro blanco) y de oscuridad (recuadro negro). En el panel derecho se muestra el análisis estadístico realizado para cada serie temporal. A partir de 40 minutos luego del apagado de la luz se observa un descenso significativo de la FB-DOE respecto a valores iniciales. La FB-DOE vuelve a aumentar de forma significativa a las 04:00

donde se mantiene hasta el final del registro (A). No se encontraron diferencias significativas en el tiempo en movimiento durante el registro (B).

Por otro lado, no se observan diferencias significativas en el tiempo de movimiento durante la duración del registro (figura 2.3B). Este resultado es consistente con la homogeneidad observada en los mapas de tiempo de visita presentados en la sección anterior.

Basado en estos resultados, se propuso evaluar conjuntamente el efecto de la luz con la presencia del estímulo sobre la locomoción. Para esto se colapsó lo observado en la figura 2.3B en 6 grupos según la presencia o no de luz, y estado del objeto (apagado o intermitente). El tiempo en movimiento de los individuos durante las horas de estimulación sin luz, para ambos periodos (noche y mañana) fue significativamente mayor que el tiempo en movimiento basal en presencia de luz (*test de Wilcoxon pareado*, $p=0.009$ y $p=0.03$, para cada periodo de estimulación). No se encontraron diferencias significativas en el tiempo en movimiento entre el resto de las condiciones.

En esta figura es importante notar el bajo porcentaje de tiempo que emplean en movimiento en estas condiciones experimentales. Todos los grupos presentan menos de un 2.5% del tiempo en movimiento. Los grupos donde el objeto no se encontraba encendido, particularmente, menos de 0.5%. Por referencia, un 1% del tiempo total de registro equivale a 10.2 minutos.

En este sentido, estos resultados sugieren que las condiciones experimentales empleadas en esta tesis conllevan una baja actividad locomotora basal en esta especie. De todas maneras, si se combina la luz apagada y la presencia de un objeto novedoso, se da un aumento significativo de la locomoción.

Dada la poca actividad locomotora observada bajo este diseño experimental muchos de los análisis realizados en el capítulo anterior no son aplicables. En este sentido, no se lograron identificar patrones locomotores vinculados a la conducta exploratoria.

Ante estos resultados, hipotetizamos que la ausencia de patrones locomotores se puede deberse a que: el estímulo y/o condiciones experimentales no logran evocar el despliegue de una exploración locomotora; o que dado el poco movimiento que realiza el animal no es capaz de sensor el objeto novedoso en su entorno.

Para discernir entre estas dos posibilidades, se evaluó la presencia de aumentos transitorios de FB-DOE que coincidan con el encendido del estímulo. Específicamente, se estudió la respuesta del órgano eléctrico de *G. omarorum* para cada periodo de estimulación y su relación con la luz ambiental.

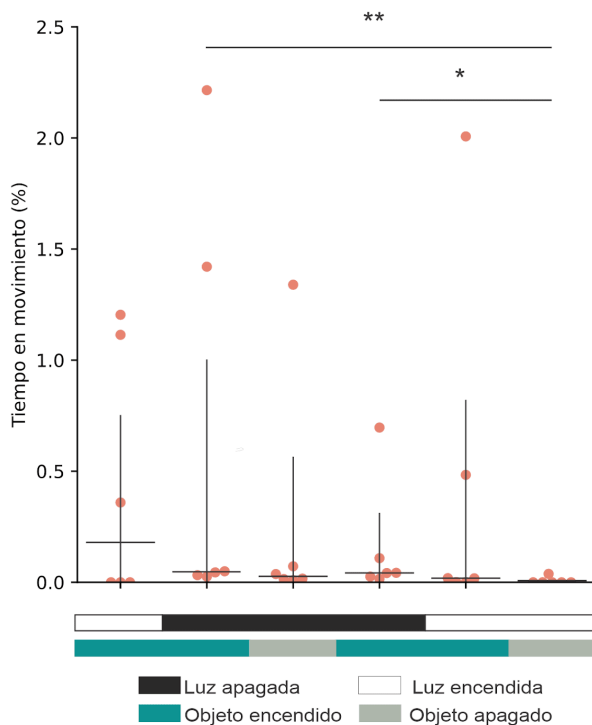


Figura 2.4: Tiempo en movimiento. Se muestra el tiempo en movimiento (%) promedio para diferentes combinaciones de luz-oscuridad y presencia-ausencia de objeto. Las barras debajo del gráfico ilustran la condición de cada grupo. Se observa un aumento significativo del tiempo en movimiento en las condiciones con luz apagada y objeto encendido en comparación con el grupo con luz encendida y objeto apagado. Estas condiciones son parte de la sesión del atardecer (19:00-21:00; Wilcoxon, $p=0.009$) y la sesión del amanecer (05:00-07:00; Wilcoxon, $p=0.03$).

La respuesta del OE se definió bajo un índice de respuesta: porcentaje de instancias de encendido del objeto donde se observan eventos de alta frecuencia. Los eventos de alta frecuencia, a su vez, se definieron según un umbral determinado de z-score en la DOE, que se sostenga por al menos tres descargas consecutivas (ver sección métodos: Análisis de la conducta eléctrica). Los valores basales de presencia de eventos de alta frecuencia fueron calculados a partir de ventanas aleatorias de 10 segundos tomadas de las horas de registro donde no se enciende el objeto, distinguiendo entre las horas en ausencia de luz (21:00 y 05:00) y en presencia de luz (09:00 y 11:00). De esta forma, se calcula el índice de respuesta en los casos basales como el porcentaje de ventanas aleatorias que presentan eventos de alta frecuencia.

Por un lado, se observa que el índice de respuesta no se relaciona significativamente con la presencia de luz. Para ambas sesiones (tarde y mañana), el índice de respuesta de las horas con luz y sin luz no varía significativamente (Test de comparaciones múltiples de Dunn, $p=1$ y $p=0.7836$, respectivamente). Por esta razón pasamos a

comparar el índice de respuesta por sesión, independientemente de la luz, con valores basales (figura 2.4)

No se encontraron diferencias significativas entre sesiones (Test de múltiples comparaciones de Dunn, $p=0.13$), y la sesión 1 (17:00-21:00) no presentó diferencias significativas con los valores basales de eventos de alta frecuencia en ausencia (Dunn, $p=0.11$) y presencia de luz (Dunn, $p=0.369$). Sin embargo, la sesión 2 (5-9am) presentó un aumento significativo respecto a valores basales de eventos de alta frecuencia en la noche (Dunn, $p=0.001$) y respecto a valores basales con luz encendida (Dunn, $p=0.016$). Los valores basales no presentaron diferencias significativas entre sí (Dunn, $p=0.487$), sugiriendo que no hay un efecto de la luz sobre la presencia de eventos de alta frecuencia.

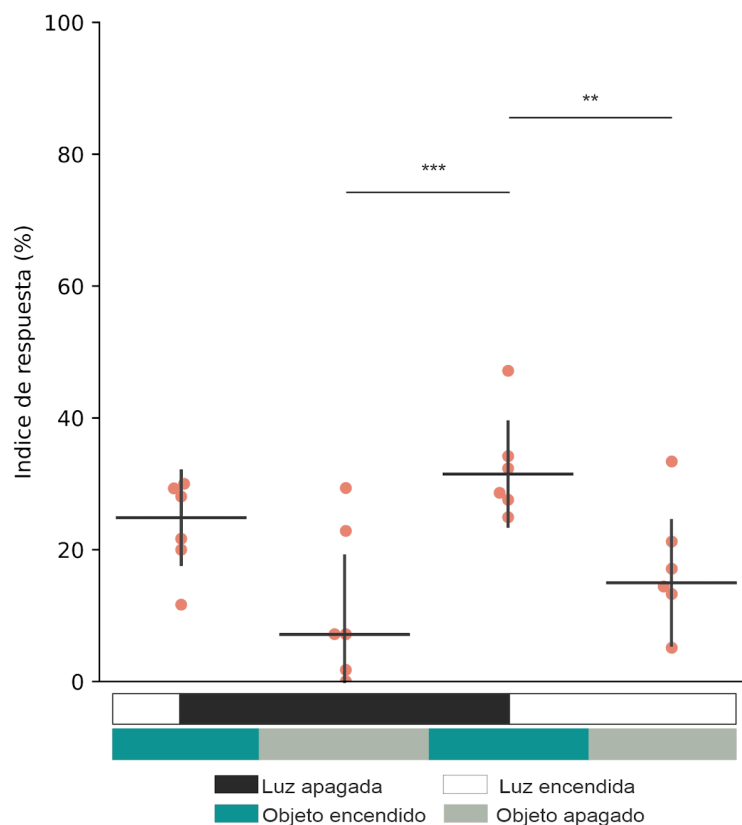


Figura 2.5: Índice de respuesta. El índice de respuesta es el porcentaje de encendidas de objeto para el cual se observa al menos un evento de alta frecuencia, para el trial 1 (17:00-21:00) y para el trial 2 (5:00-9:00). Los índices de respuesta basales se obtienen a partir de ventanas aleatorias durante las horas de no estimulación, como el porcentaje de estas ventanas donde se observan eventos de alta frecuencia. Se observa un aumento significativo en el índice de respuesta del trial 2 respecto a valores basales en presencia (Dunn, $p=0.016$) y ausencia (Dunn, $p=0.001$) de luz.

Estos resultados soportan la primera opción, sugiriendo que, si bien el individuo es capaz de sentir que hay un objeto novedoso en su entorno, el mismo no es suficientemente "interesante" para evocar un despliegue conductual exploratorio. O, dicho de otra

manera, para este estímulo la exploración eléctrica es suficiente para obtener la información que el individuo necesita de este estímulo presente en la arena experimental. A su vez, de forma consistente con lo observado para la locomoción, la respuesta es mayor en la sesión de la mañana que en la sesión del atardecer.

Discusión

En el capítulo 2 de esta tesis se utilizó un diseño experimental basado en lo que se ha utilizado previamente en *G. petersii* para describir la conducta exploratoria. Se observaron sutiles respuestas electromotoras al estímulo presentado a los animales, que variaron según el momento del día en el que el estímulo fue presentado. De acuerdo a lo esperado, los períodos de baja iluminación fueron los que presentaron mayor respuesta tanto locomotora como eléctrica, lo cual refuerza la idea de que la luz es una señal aversiva para esta especie (Camargo y cols., 2023).

En particular, se observó que las sesiones en la mañana presentan un índice de respuesta mayor que las sesiones del atardecer, lo cual puede ser contraintuitivo dada la naturaleza nocturna de esta especie (Migliaro y cols., 2018). Sin embargo, es de notar que la mayoría de los estudios sobre respuesta de novedad en esta especie han sido llevados a cabo durante el día (por ej. ver Caputi y cols, 2003; Aguilera y Caputi, 2003). Sería interesante evaluar si un estado más alerta del individuo amortigua la respuesta a estímulos de su entorno dado que la novedad que estos generan es menor en tal contexto.

Si bien se observaron tendencias generales a aumentar la locomoción y eventos de alta frecuencia ante el estímulo presentado y en oscuridad, no se observaron patrones locomotores de exploración como los descritos en el capítulo 1 para *G. petersii*. En este sentido, se proponen a continuación posibles caminos a seguir para el diseño de protocolos experimentales para observar la conducta exploratoria en esta especie.

Por un lado, un diseño más apropiado para esta especie puede que involucre un entorno más enriquecido, dado que el comportamiento natural de muchas especies suele verse amortiguado en condiciones de laboratorio.

Otro posible camino para una inicial descripción de patrones locomotores ante estímulos abióticos puede involucrar un diseño experimental donde el individuo se enfrente al estímulo por un período más corto de tiempo. Por ejemplo, Toerring y Moller (1984) presentan estímulos de diferentes propiedades físicas a mormiridos en sesiones de aproximadamente 25 minutos. Una presentación más puntual puede que elicitte mayor novedad en el individuo. A su vez, modificaciones en el estímulo presentado puede que sean necesarias para que se despliegue una conducta exploratoria. El objeto utilizado en esta tesis, igual para ambos capítulos, posee propiedades eléctricas cuya capacidad de evocar respuestas de novedad en *G. omarorum* inmovilizados decae a menos de un 20% a distancias mayores a 0.8 cm (Pereira y cols., 2012). Suponemos que usar objetos de las mismas características, pero más grandes aumentarán la probabilidad de que el individuo los sense y, a su vez, que despliegue estrategias electromotoras para explorarlo.

Por otro lado, se deberán considerar otros parámetros del diseño experimental, como el tamaño de la arena, el tiempo de aclimatación en la misma y el horario de alimentación. Estos tres parámetros son relevantes en modular la motivación del animal por explorar su entorno. Aumentar el tamaño de la arena, a la vez que disminuir el tiempo de aclimatación van de la mano para hacer del espacio un lugar interesante para el animal. Dado que en este trabajo aclimatamos a los animales por 24hs, es posible que la primera noche en la arena experimental se dé la mayor exploración y que días consecutivos esta disminuya. Esto explicaría el bajo tiempo en movimiento que se observó durante el registro, es decir, el segundo día en la arena experimental. A su vez, el horario de alimentación puede ser un importante modulador de la motivación del individuo por salir de su refugio y navegar su entorno. Esto va de la mano con lo antes discutido sobre los ritmos de actividad de esta especie, ya que la disponibilidad de alimento ha sido descrita como un sincronizador de los períodos de actividad y reposo en varias especies (por ej. ver Hau y Gwinner, 1996; Sánchez-Vazquez y cols, 1997).

En conclusión, en este capítulo se describe un primer acercamiento al estudio de la conducta exploratoria en *G. omarorum*. En este sentido, se delinean posibles caminos a seguir para ser capaces de describir posibles estrategias electromotoras que esta especie emplee durante la exploración de objetos en su entorno.

Conclusiones

En esta tesis se avanzó el conocimiento de la conducta exploratoria en dos especies de pez eléctrico de descarga débil pertenecientes a familias evolutivas diferentes. En ambos casos se enfoca en huecos importantes en los antecedentes de cada especie. Para *G. petersii*, la relevancia de la señales sociales y comunicacionales se explora de forma novedosa en el estudio de la conducta exploratoria, donde el foco se ha puesto históricamente en el sensado de estímulos inanimados. En el caso de *G. omarorum*, sin embargo, poco se conoce sobre su conducta exploratoria en libre movimiento, y esta tesis espera ser un punto de partida para el estudio de la misma.

Los dos capítulos de esta tesis se alimentan de forma teórica entre sí, haciendo uso de lo que conocemos para una especie para hipotetizar lo que sucede en la otra. En este sentido, los vastos antecedentes de exploración en libre movimiento de estímulos abióticos para *G. petersii* se han usado como punto de partida para diseñar los experimentos en *G. omarorum*. Por otro lado, lo mucho que conocemos sobre las conductas agonísticas y territorialidad en *G. omarorum* nos sirve para hipotetizar sobre las respuestas observadas ante estímulos de valencia social en *G. petersii*.

En conclusión, esta tesis avanza el conocimiento por un lado de la socialidad de *G. petersii*, y por otro del estudio de la conducta exploratoria de *G. omarorum*. En este sentido, esta tesis presenta diversas nuevas líneas de estudio relacionadas a la exploración y la relevancia de señales sociales sobre la misma.

Referencias

- Aguilera, P. A., & Caputi, A. A. (2003). Electoreception in *G. carapo*: Detection of changes in waveform of the electrosensory signals. *Journal of Experimental Biology*, 206(6), 989-998. <https://doi.org/10.1242/jeb.00198>
- Barrio, L. C., Caputi, A., Crispin, L., & Buño, W. (1991). Electric organ discharge frequency modulation evoked by water vibration in *Gymnotus carapo*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 100(3), 555-562. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(91\)90369-N](https://doi.org/10.1016/0300-9629(91)90369-N)
- Bässler, G., Hilbig, R., & Rahmann, H. (1979). Untersuchungen zur circadianen Rhythmik der elektrischen und motorischen Aktivität von *Gnathonemus petersii* (Mormyridae, Pisces). *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 49(2), 156-163.
- 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(4), 398-410. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2012.02022.x>
- Bauer, R. (1979). Electric Organ Discharge (EOD) and Prey Capture Behaviour in the Electric Eel, *Electrophorus electricus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 4(4), 311-319.
- Bell, C. C. (1989). Sensory coding and corollary discharge effects in mormyrid electric fish. *Journal of Experimental Biology*, 146(1), 229-253. <https://doi.org/10.1242/jeb.146.1.229>
- Bell CC, Han V, Sawtell NB. (2008). Cerebellum-like structures and their implications for cerebellar function. *Annu Rev Neurosci* 31:1–24.
- Bennett, M. V. L. (1971). Electoreception. En W. S. Hoar & D. J. Randall (Eds.), *Fish Physiology* (Vol. 5, pp. 493-574). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)60052-7](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)60052-7)
- Bennett, M. V., Pappas, G. D., Giménez, M., & Nakajima, Y. (1967). Physiology and ultrastructure of electrotonic junctions. IV. Medullary electromotor nuclei in gymnotid fish. *Journal of Neurophysiology*, 30(2), 236-300. <https://doi.org/10.1152/jn.1967.30.2.236>
- Bhadra, U., Thakkar, N., Das, P., & Pal Bhadra, M. (2017). Evolution of circadian rhythms: From bacteria to human. *Sleep Medicine*, 35, 49-61. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2017.04.008>
- Borde, M., Curti, S., Comas, V., & Rivero, C. (2004). Modulación central de un sistema sensorial por un comando motor. Una intención con dos resultados. *Revista de Neurología*, 38(03), 253. <https://doi.org/10.33588/rn.3803.2004006>

Bridgeman, B. (1995). A review of the role of efference copy in sensory and oculomotor control systems. *Annals of Biomedical Engineering*, 23(4), 409-422. <https://doi.org/10.1007/BF02584441>

Bullock, T. H., Hopkins, C. D., Popper, A. N., & Fay, R. R. (Eds.). (2006). *Electroreception* (Vol. 21). Springer New York. <https://doi.org/10.1007/0-387-28275-0>

Camargo, A. S., Caputi, A. A., & Aguilera, P. A. (2023). The sensory effects of light on the electric organ discharge rate of *Gymnotus omarorum*. *Journal of Experimental Biology*, 226(17), jeb245489. <https://doi.org/10.1242/jeb.245489>

Campello, R. J. G. B., Moulavi, D., & Sander, J. (2013). Density-Based Clustering Based on Hierarchical Density Estimates. En J. Pei, V. S. Tseng, L. Cao, H. Motoda, & G. Xu (Eds.), *Advances in Knowledge Discovery and Data Mining* (pp. 160-172). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-37456-2_14

Caputi, A. A. (2004). Contributions of electric fish to the understanding sensory processing by refferent systems. *Journal of Physiology-Paris*, 98(1), 81-97. <https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2004.03.002>

Caputi, A. A., Aguilera, P. A., Carolina Pereira, A., & Rodríguez-Cattáneo, A. (2013). On the haptic nature of the active electric sense of fish. *Brain Research*, 1536, 27-43. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2013.05.028>

Caputi, A. A., Aguilera, P. A., & Castelló, M. E. (2003). Probability and amplitude of novelty responses as a function of the change in contrast of the refferent image in *G. carapo*. *Journal of Experimental Biology*, 206(6), 999-1010. <https://doi.org/10.1242/jeb.00199>

Caputi, A. A., & Budelli, R. (2006). Peripheral electrosensory imaging by weakly electric fish. *Journal of Comparative Physiology. A, Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 192(6), 587-600. <https://doi.org/10.1007/s00359-006-0100-2>

Caputi, A. A., Budelli, R., Grant, K., & Bell, C. C. (1998). The Electric Image in Weakly Electric Fish: Physical Images of Resistive Objects in *Gnathonemus Petersii*. *Journal of Experimental Biology*, 201(14), 2115-2128. <https://doi.org/10.1242/jeb.201.14.2115>

Caputi, A. A., Carlson, B. A., & Macadar, O. (2005). Electric Organs and Their Control. En T. H. Bullock, C. D. Hopkins, A. N. Popper, & R. R. Fay (Eds.), *Electroreception* (pp. 410-451). Springer. https://doi.org/10.1007/0-387-28275-0_14

Castelló, M. E., 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*. *Journal of Comparative Neurology*, 401(4), 549-563. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(19981130\)401:4<549::AID-CNE7>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(19981130)401:4<549::AID-CNE7>3.0.CO;2-H)

- Chase, J., Small, M. Y., Weiss, E. A., Sharma, D., & Sharma, S. (1991). Crepuscular Activity of *Molossus molossus*. *Journal of Mammalogy*, 72(2), 414-418. <https://doi.org/10.2307/1382116>
- Crampton, W. G. R. (2019). Electoreception, electrogenesis and electric signal evolution. *Journal of Fish Biology*, 95(1), 92-134. <https://doi.org/10.1111/jfb.13922>
- Crapse, T. B., & Sommer, M. A. (2008). Corollary discharge across the animal kingdom. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(8), 587-600. <https://doi.org/10.1038/nrn2457>
- Crockett, D. P. (1986). Agonistic behavior of the weakly electric fish, *Gnathonemus petersii* (Mormyridae, Osteoglossomorpha). *Journal of Comparative Psychology*, 100(1), 3.
- Dall, S. R. X., Giraldeau, L.-A., Olsson, O., McNamara, J. M., & Stephens, D. W. (2005). Information and its use by animals in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(4), 187-193. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.01.010>
- Danchin, É., Giraldeau, L.-A., Valone, T. J., & Wagner, R. H. (2004). Public Information: From Nosy Neighbors to Cultural Evolution. *Science*, 305(5683), 487-491. <https://doi.org/10.1126/science.1098254>
- de-Forges, M. M., Crampton, W. G., & Albert, J. S. (2009). A new species of *Gymnotus* (Gymnotiformes, Gymnotidae) from Uruguay: description of a model species in neurophysiological research. *Copeia*, 2009(3), 538-544.
- Dudchenko, P. A., & Wallace, D. (2018). Neuroethology of spatial cognition. *Current Biology*, 28(17), R988-R992. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.04.051>
- Engelmann, J., Nöbel, S., Röver, T., & Emde, G. V. D. (2009). The Schnauzenorgan-response of *Gnathonemus petersii*. *Frontiers in zoology*, 6, 1-15.
- Falconi, A., Borde, M., Hernández-Cruz, A., & Morales, F. R. (1995). Mauthner cell-initiated abrupt increase of the electric organ discharge in the weakly electric fish *Gymnotus carapo*. *Journal of Comparative Physiology A*, 176, 679-689.
- Falconi, A., Lorenzo, D., Curti, S., Morales, F. R., & Borde, M. (1997). Mauthner cell-evoked synaptic actions on pacemaker medullary neurons of a weakly electric fish. *Journal of Comparative Physiology A*, 181, 143-151.
- Fotowat, H., Lee, C., Jun, J. J., & Maler, L. (2019). Neural activity in a hippocampus-like region of the teleost pallium is associated with active sensing and navigation. *Elife*, 8, e44119.

Fukutomi, M., & Carlson, B. A. (2020). A History of Corollary Discharge: Contributions of Mormyrid Weakly Electric Fish. *Frontiers in Integrative Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/fnint.2020.00042>

Gascue, V., Silva, A., & Migliaro, A. (2020). Social modulation on daily variability in electric behavior. *Sleep Science*. <https://doi.org/10.5935/1984-0063.20200012>

Gegenfurtner, K. R. (2016). The Interaction Between Vision and Eye Movements. *Perception*, 45(12), 1333-1357. <https://doi.org/10.1177/0301006616657097>

Gibson, J. J. (1962). Observations on active touch. *Psychological Review*, 69(6), 477-491. <https://doi.org/10.1037/h0046962>

Godsil, B. P., & Fanselow, M. S. (2004). Light stimulus change evokes an activity response in the rat. *Learning & Behavior*, 32(3), 299-310. <https://doi.org/10.3758/BF03196029>

Grau, H. J., & Bastian, J. (1986). Neural correlates of novelty detection in pulse-type weakly electric fish. *Journal of Comparative Physiology A*, 159(2), 191-200. <https://doi.org/10.1007/BF00612302>

Grant, R. A., Mitchinson, B., Fox, C. W., & Prescott, T. J. (2009). Active touch sensing in the rat: anticipatory and regulatory control of whisker movements during surface exploration. *Journal of neurophysiology*, 101(2), 862-874.

Hau, M., & Gwinner, E. (1992). Circadian entrainment by feeding cycles in house sparrows, *Passer domesticus*. *Journal of Comparative Physiology A*, 170(4), 403-409. <https://doi.org/10.1007/BF00191457>

Hau, M., & Gwinner, E. (1996). Food as a Circadian Zeitgeber for House Sparrows: The Effect of Different Food Access Durations. *Journal of Biological Rhythms*, 11(3), 196-207. <https://doi.org/10.1177/074873049601100302>

Heiligenberg, W. (1989). Coding and processing of electrosensory information in gymnotiform fish. *Journal of Experimental Biology*, 146(1), 255-275. <https://doi.org/10.1242/jeb.146.1.255>

Heiligenberg, W., Finger, T., Matsubara, J., & Carr, C. (1981). Input to the medullary pacemaker nucleus in the weakly electric fish, *Eigenmannia* (sternopygidae, gymnotiformes). *Brain Research*, 211(2), 418-423. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)90966-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)90966-5)

Heiligenberg, W., & Partridge, B. L. (1981). How electroreceptors encode JAR-eliciting stimulus regimes: Reading trajectories in a phase-amplitude plane. *Journal of Comparative Physiology*, 142(3), 295-308. <https://doi.org/10.1007/BF00605443>

Hofmann, V., Sanguinetti-Scheck, J. I., Gómez-Sena, L., & Engelmann, J. (2013). From static electric images to electric flow: Towards dynamic perceptual cues in active electroreception. *Journal of Physiology-Paris*, 107(1), 95-106. <https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2012.06.003>

Hofmann V, Geurten BRH, Sanguinetti-Scheck JI, Gómez-Sena L, Engelmann J. (2014). Motor patterns during active electrosensory acquisition. *Front Behav Neurosci* 8.

Hofmann V, Sanguinetti-Scheck JI, Gómez-Sena L, Engelmann J. (2017). Sensory Flow as a Basis for a Novel Distance Cue in Freely Behaving Electric Fish. *J Neurosci* 37:302–312.

Hopkins, C. D. (1974). Electric communication in fish. *American Scientist*, 62(4), 426-437.

Hopkins, C. D. (1988). Neuroethology of electric communication. *Annual Review of Neuroscience*, 11, 497-535. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.11.030188.002433>

Hopkins, C. D., Comfort, N. C., Bastian, J., & Bass, A. H. (1990). Functional Analysis of Sexual Dimorphism in an Electric Fish, *Hypopomus pinnicaudatus*, Order Gymnotiformes (Part 2 of 2). *Brain, behavior and evolution*, 35(6), 359-367.

Hopkins, C. D., Comfort, N. C., Bastian, J., & Bass, A. H. (2010). Functional Analysis of Sexual Dimorphism in an Electric Fish, *Hypopomus pinnicaudatus*, Order Gymnotiformes (Part 2 of 2). *Brain Behavior and Evolution*, 35(6), 359-367. <https://doi.org/10.1159/000316075>

Hsu, A. I., & Yttri, E. A. (2021). B-SOiD, an open-source unsupervised algorithm for identification and fast prediction of behaviors. *Nature communications*, 12(1), 5188.

Hupé, G. J., & Lewis, J. E. (2008). Electrocommunication signals in free swimming brown ghost knifefish, *Apteronotus leptorhynchus*. *Journal of Experimental Biology*, 211(10), 1657-1667. <https://doi.org/10.1242/jeb.013516>

Ishida, N., Kaneko, M., & Allada, R. (1999). Biological clocks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(16), 8819-8820. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.16.8819>

Institute of Laboratory Animal Resources (US). Committee on Care and Use of Laboratory Animals, 1986. Guide for the care and use of laboratory animals (No. 86). US Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health.

Jabbur, M. L., Dani, C., Spoelstra, K., Dodd, A. N., & Johnson, C. H. (2024). Evaluating the Adaptive Fitness of Circadian Clocks and their Evolution. *Journal of Biological Rhythms*, 39(2), 115-134. <https://doi.org/10.1177/07487304231219206>

Jun, J. J., Longtin, A., & Maler, L. (2014). Long-term behavioral tracking of freely swimming weakly electric fish. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (85), 50962.

Jun, J. J., Longtin, A., & Maler, L. (2016). Active sensing associated with spatial learning reveals memory-based attention in an electric fish. *Journal of Neurophysiology*, 115(5), 2577-2592. <https://doi.org/10.1152/jn.00979.2015>

Kalmijn, Ad. J. (1974). The Detection of Electric Fields from Inanimate and Animate Sources Other Than Electric Organs. En T. H. Bullock, A. Fessard, P. H. Hartline, Ad. J.

Kalmijn, P. Laurent, R. W. Murray, H. Scheich, E. Schwartz, T. Szabo, & A. Fessard (Eds.), *Electroreceptors and Other Specialized Receptors in Lower Vertebrates* (pp. 147-200). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-65926-3_5

Kramer, B., & Bauer, R. (1976). Agonistic behaviour and electric signalling in a mormyrid fish, *Gnathonemus petersii*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 1(1), 45-61. <https://doi.org/10.1007/BF00299952>

Kramer, B. (1979). Electric and motor responses of the weakly electric fish, *Gnathonemus petersii* (Mormyridae), to play-back of social signals. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 6, 67-79.

Kramer, B., & Kramer, B. (1990). Communicating with Electric Organ Discharges. *Electrocommunication in Teleost Fishes: Behavior and Experiments*, 111-215.

Lack, D. (1956). A Review of the Genera and Nesting Habits of Swifts. *The Auk*, 73(1), 1-32. <https://doi.org/10.2307/4081635>

Lee, D. (2013). Decision Making: From Neuroscience to Psychiatry. *Neuron*, 78(2), 233. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.04.008>

Linsker, R. (1994). Sensory Processing and Information Theory. En P. Grassberger & J.-P. Nadal (Eds.), *From Statistical Physics to Statistical Inference and Back* (pp. 237-247). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1068-6_15

Longden, K. D., & Krapp, H. G. (2011). Sensory Neurophysiology: Motion Vision during Motor Action. *Current Biology*, 21(17), R650-R652. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.07.016>

Lorenz, K. Z. (1958). The Evolution of Behavior. *Scientific American*, 199(6), 67-82.

MacIver, M. A., Patankar, N. A., & Shirgaonkar, A. A. (2010). Energy-Information Trade-Offs between Movement and Sensing. *PLOS Computational Biology*, 6(5), e1000769. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000769>

MacIver, M. A., Patankar, N. A., & Shirgaonkar, A. A. (2010). Energy-information trade-offs between movement and sensing. *PLoS computational biology*, 6(5), e1000769.

Mathis, A., Mamidanna, P., Cury, K. M., Abe, T., Murthy, V. N., Mathis, M. W., & Bethge, M. (2018). DeepLabCut: markerless pose estimation of user-defined body parts with deep learning. *Nature neuroscience*, 21(9), 1281-1289.

McInnes, L., Healy, J., & Melville, J. (2018). Umap: Uniform manifold approximation and projection for dimension reduction. *arXiv preprint arXiv:1802.03426*.

Merčnik, N., Prevolnik Povše, M., Škorjanc, D., & Skok, J. (2023). Chronobiology of free-ranging domestic cats: Circadian, lunar and seasonal activity rhythms in a wildlife corridor. *Applied Animal Behaviour Science*, 269, 106094. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2023.106094>

Migliaro, A., Moreno, V., Marchal, P., & Silva, A. (2018). Daily changes in the electric behavior of weakly electric fish naturally persist in constant darkness and are socially synchronized. *Biology Open*, 7(12), bio036319.

Migliaro, A. (2018). *Modulación ambiental y hormonal del ritmo circadiano de la conducta eléctrica*.

Moller, P. (1995). *Electric fishes: History and behavior* (1st ed). Chapman & Hall. <http://catalog.hathitrust.org/api/volumes/oclc/33100429.html>

Moller, P., Serrier, J., Squire, A., & Boudinot, M. (1982). Social spacing in the mormyrid fish *Gnathonemus petersii* (Pisces): a multisensory approach. *Animal Behaviour*, 30(3), 641-650.

Newcomb, J. M., Lawrence †, K. A., & Watson, W. H. (2004). The influence of light on locomotion in the gastropod *melibe leonina*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 37(4), 253-269. <https://doi.org/10.1080/10236240400016629>

Nelson ME, MacIver MA. (2006). Sensory acquisition in active sensing systems. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol* 192:573–586.

Nogueira, J., & Caputi, Á. A. (2011). Timing Actions to Avoid Refractoriness: A Simple Solution for Streaming Sensory Signals. *PLOS ONE*, 6(7), e22159. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022159>

Novak, C. M., Harris, J. A., Smale, L., & Nunez, A. A. (2000). Suprachiasmatic nucleus projections to the paraventricular thalamic nucleus in nocturnal rats (*Rattus norvegicus*) and diurnal Nile grass rats (*Arvicapthis niloticus*). *Brain Research*, 874(2), 147-157. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02572-5](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02572-5)

Pedraja, F., Aguilera, P., Caputi, A. A., & Budelli, R. (2014). Electric Imaging through Evolution, a Modeling Study of Commonalities and Differences. *PLOS Computational Biology*, 10(7), e1003722. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003722>

Pedraja F, Hofmann V, Lucas KM, Young C, Engelmann J, Lewis JE. (2018). Motion parallax in electric sensing. *Proc Natl Acad Sci* 115:573– 577.

Pedraja, F., Hofmann, V., Goulet, J., & Engelmann, J. (2020). Task-related sensorimotor adjustments increase the sensory range in electrolocation. *Journal of Neuroscience*, 40(5), 1097-1109.

Pedraja, F., & Sawtell, N. B. (2024). Collective sensing in electric fish. *Nature*, 628(8006), 139-144. <https://doi.org/10.1038/s41586-024-07157-x>

Pereira, A. C., Aguilera, P., & Caputi, A. A. (2012). The active electrosensory range of *Gymnotus omarorum*. *Journal of Experimental Biology*, 215(18), 3266-3280. <https://doi.org/10.1242/jeb.070813>

Perrone, R., Macadar, O., & Silva, A. (2009). Social electric signals in freely moving dyads of *Brachyhypopomus pinnicaudatus*. *Journal of comparative physiology. A, Neuroethology, sensory, neural, and behavioral physiology*, 195(5), 501–514. <https://doi.org/10.1007/s00359-009-0427-6>

Perrone, R., Hurtado, A., Silva, A., & Black-Décima, P. (2024). Characterization of the agonistic behavior of the weakly electric fish *Gymnotus sylvius*. *Ethology*, 130(5), e13447. <https://doi.org/10.1111/eth.13447>

Perrone, R., Pedraja, F., Valiño, G., Tassino, B., & Silva, A. (2019). Non-breeding territoriality and the effect of territory size on aggression in the weakly electric fish, *Gymnotus omarorum*. *Acta Ethologica*, 22(2), 79-89. <https://doi.org/10.1007/s10211-019-00309-7>

Pittendrigh, C. S. (1981). Circadian Systems: General Perspective. En J. Aschoff (Ed.), *Biological Rhythms* (pp. 57-80). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6552-9_5

Post, N., & von der Emde, G. (1999). The “novelty response” in an electric fish: Response properties and habituation. *Physiology & Behavior*, 68(1), 115-128. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(99\)00153-5](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(99)00153-5)

Reader, S. M. (2015). Causes of Individual Differences in Animal Exploration and Search. *Topics in Cognitive Science*, 7(3), 451-468. <https://doi.org/10.1111/tops.12148>

Refinetti, R. (2006). Variability of diurnality in laboratory rodents. *Journal of Comparative Physiology A*, 192(7), 701-714. <https://doi.org/10.1007/s00359-006-0093-x>

Roenneberg, T., & Foster, R. G. (1997). Twilight Times: Light and the Circadian System. *Photochemistry and Photobiology*, 66(5), 549-561. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1997.tb03188.x>

Sánchez-Vázquez, F. J., Madrid, J. A., Zamora, S., & Tabata, M. (1997). Feeding entrainment of locomotor activity rhythms in the goldfish is mediated by a feeding-entrainable circadian oscillator. *Journal of Comparative Physiology A*, 181(2), 121-132. <https://doi.org/10.1007/s003590050099>

Sawtell, N. B., Williams, A., Roberts, P. D., von der Emde, G., & Bell, C. C. (2006). Effects of sensing behavior on a latency code. *Journal of Neuroscience*, 26(32), 8221-8234.

Sawtell NB, Williams A, Bell CC. (2005). From sparks to spikes: Information processing in the electrosensory systems of fish. *Curr Op Neurobiol* 15:437-443.

Schnitzler, H. U. (1968). The ultrasonic sounds of horseshoe bats (Chiroptera-Rhinolophidae) in different orientation situations. *Zeitschrift für vergleichende Physiologie*, 57, 376-408.

Schnitzler, H. U., Menne, D., Kober, R., & Heblich, K. (1983). The acoustical image of fluttering insects in echolocating bats. In *Neuroethology and behavioral physiology: roots and growing points* (pp. 235-250). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Silva, A., Quintana, L., Ardanaz, J. L., & Macadar, O. (2002). Environmental and hormonal influences upon EOD waveform in gymnotiform pulse fish. *Journal of Physiology-Paris*, 96(5), 473-484. [https://doi.org/10.1016/S0928-4257\(03\)00003-2](https://doi.org/10.1016/S0928-4257(03)00003-2)

Silva, A., Quintana, L., Galeano, M., & Errandonea, P. (2003). Biogeography and breeding in Gymnotiformes from Uruguay. *Environmental Biology of Fishes*, 66, 329-338.

Silva, A. C., Perrone, R., Zubizarreta, L., Batista, G., & Stoddard, P. K. (2013). Neuromodulation of the agonistic behavior in two species of weakly electric fish that display different types of aggression. *Journal of Experimental Biology*, 216(13), 2412-2420.

Simmons, J. A., Fenton, M. B., & O'Farrell, M. J. (1979). Echolocation and pursuit of prey by bats. *Science*, 203(4375), 16-21.

Sperry, R. W. (1950). Neural basis of the spontaneous optokinetic response produced by visual inversion. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 43(6), 482-489. <https://doi.org/10.1037/h0055479>

Straka, H., Simmers, J., & Chagnaud, B. P. (2018). A New Perspective on Predictive Motor Signaling. *Current Biology*, 28(5), R232-R243. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.01.033>

Terleph, T. A., & Moller, P. (2003). Effects of social interaction on the electric organ discharge in a mormyrid fish, *Gnathonemus petersii* (Mormyridae, Teleostei). *Journal of Experimental Biology*, 206(14), 2355-2362. <https://doi.org/10.1242/jeb.00437>

Terleph, T. A. (2004). The function of agonistic display behaviours in *Gnathonemus petersii*. *Journal of Fish Biology*, 64(5), 1373-1385.

Toerring MJ, Belbenoit P. (1979) Motor programmes and electroreception in mormyrid fish. *Behav Ecol Sociobiol* 4:369–379.

Toerring, M.-J., & Moller, P. (1984). Locomotor and electric displays associated with electrolocation during exploratory behavior in mormyrid fish. *Behavioural Brain Research*, 12(3), 291-306. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(84\)90155-4](https://doi.org/10.1016/0166-4328(84)90155-4)

Ulanovsky, N., & Moss, C. F. (2008). What the bat's voice tells the bat's brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(25), 8491-8498.

von der Emde, G. & Bleckmann, H. (1998). Finding food: senses involved in foraging for insect larvae in the electric fish *Gnathonemus petersii*. *Journal of Experimental Biology*, 201(7), 969-980.

von der Emde, G., Amey, M., Engelmann, J., Fetz, S., Folde, C., Hollmann, M., Metzen, M., & Pusch, R. (2008). Active electrolocation in *Gnathonemus petersii*: Behaviour, sensory performance, and receptor systems. *Journal of Physiology-Paris*, 102(4), 279-290. <https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2008.10.017>

von Holst, E., & Mittelstaedt, H. (1950). Das Reafferenzprinzip. *Naturwissenschaften*, 37(20), 464-476. <https://doi.org/10.1007/BF00622503>

Warrant, E. J. (2016). Sensory matched filters. *Current Biology*, 26(20), R976-R980. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2016.05.042>

Warthen, D. M., Wiltgen, B. J., & Provencio, I. (2011). Light enhances learned fear. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(33), 13788-13793. <https://doi.org/10.1073/pnas.1103214108>

Waxman, S. G., Pappas, G. D., & Bennett, M. V. (1972). Morphological correlates of functional differentiation of nodes of Ranvier along single fibers in the neurogenic electric organ of the knife fish *Stern archus*. *The Journal of Cell Biology*, 53(1), 210-224. <https://doi.org/10.1083/jcb.53.1.210>

Westneat, D., & Fox, C. (2010). *Evolutionary Behavioral Ecology*. Oxford University Press, Incorporated. <http://ebookcentral.proquest.com/lib/bu/detail.action?docID=1507495>

YDENBERG, R. C., & KREBS, J. R. (1987). The Tradeoff Between Territorial Defense and Foraging in the Great Tit (*Parus major*)¹. *American Zoologist*, 27(2), 337-346. <https://doi.org/10.1093/icb/27.2.337>

Yovel, Y., Falk, B., Moss, C. F., & Ulanovsky, N. (2010). Optimal localization by pointing off axis. *Science*, 327(5966), 701-704.

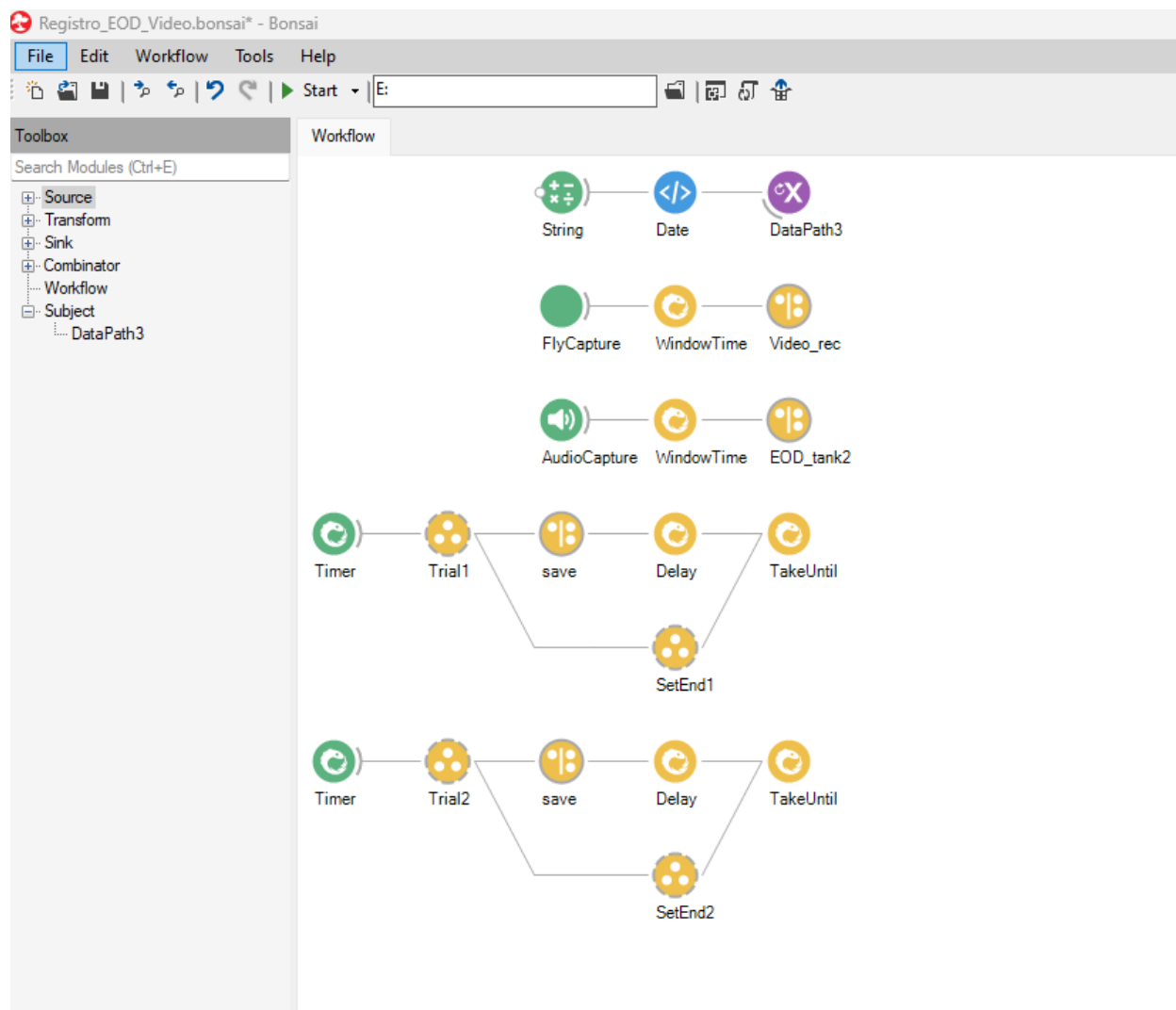
ANEXOS

A1. **Materiales y métodos**

A1.1 Workflow de registro:

La siguiente figura muestra la organización del workflow de Bonsai rx utilizado para el registro de la señal eléctrica (tercera línea desde arriba), y video (segunda línea desde arriba). También se puede observar los nodos utilizados para la activación y desactivación del objeto inanimado. Todos los parámetros utilizados en cada nodo, así como las particularidades de cada sección se pueden ver accediendo al archivo. El mismo se encuentra en el [repositorio](#) adjunto a esta tesis en la siguiente ubicación:

Análisis estación > Bonsai > Registro_EOD_Video.bonsai



A1.2 Descripción del repositorio generado por esta tesis.

A continuación, se adjunta el archivo README del repositorio generado en esta tesis, al cual se puede acceder por el siguiente link:

https://github.com/vgascue/analisis_peces_electricos

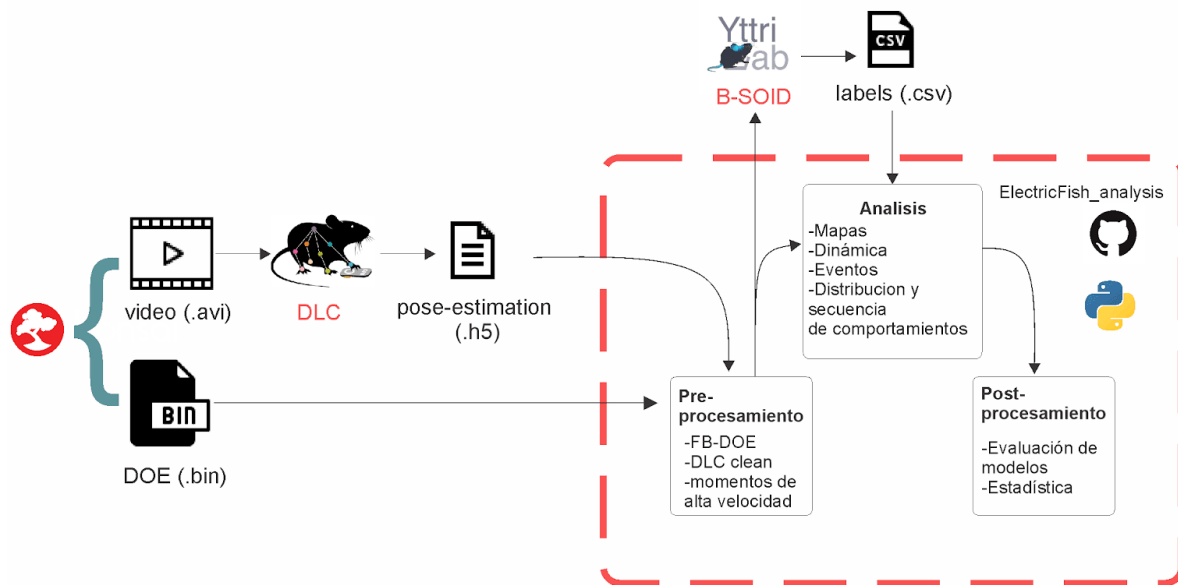
Análisis Comportamental en Peces eléctricos

Introducción

Este repositorio contiene scripts para analizar los datos obtenidos de la estación conductual de peces eléctricos de la Facultad de Ciencias. Contiene análisis exploratorios, así como más generales para los registros eléctricos y el trackeo realizado por DeepLabCut sobre los videos. Cada archivo está comentado y con una breve introducción al comienzo. Los detalles de funcionamiento de cada script se encontrarán en los comentarios, en este documento hacemos una recorrida general por el repositorio.

A su vez contiene scripts utilizados para el análisis de datos conductuales obtenidos en el laboratorio de Nate Sawtell (Columbia University) de individuos de la especie *Gnathonemus Petersii* (carpeta *Gnathonemus Petersii*). Estos scripts están comentados, pero no serán descritos en esta guía.

El siguiente diagrama esquematiza el funcionamiento de este repositorio y el tipo de datos que toma y que devuelve:



Como se muestra en el diagrama, los datos de la estación conductual son obtenidos mediante Bonsai rx. (Lopes et al, 2015). El workflow correspondiente se encuentra en la carpeta "registro". De esta manera se obtienen archivos de video en formato ".avi" y archivos numéricos que contienen el registro eléctrico en formato ".bin". Los archivos de registro eléctrico pasan directamente a ser analizados por código de este repositorio (en el esquema: todo lo que se encuentra dentro del recuadro rojo). Los videos son procesados inicialmente por DeepLabCut (Mathis et al., 2018) , por un modelo entrenado por la autora de este repositorio con datos generados para su tesis de maestría (carpeta "DeepLabCut"). Se aconseja para futuros experimentos entrenar un nuevo modelo con los videos generados en ese momento, para asegurar un buen seguimiento. Luego de trackear al animal utilizando DeepLabCut (u otro sistema de tracking), los archivos ".h5" con las posiciones de cada punto serán utilizados para análisis generales, como los que se describen en esta guía y tutorial; así como para otros análisis que no se describen, pero se puede encontrar ejemplos en la carpeta de *G. petersii*.

A continuación, se detalla la funcionalidad de cada archivo y un sugerido workflow para comenzar el análisis de datos conductuales de la estación.

Funcionalidades

Pre-Procesamiento

Este repositorio incluye código de "evaluación" y de "limpieza".

El código de *evaluación* son cuadernos de jupyter organizados en celdas para un mejor troubleshooting de los análisis, así como la organización de los datos. Tenemos dos rutinas de este tipo, que se describen a continuación.

- *Exploracion_DOE.ipynb*: Esta rutina lee un archivo '.bin' conteniendo registro eléctrico y otros parámetros como el número de canales de registro (2) y la frecuencia de muestreo (definida según el experimento). Luego, a lo largo de las celdas se irá analizando el registro eléctrico para evaluar la relación señal-ruido y, últimamente, determinar el umbral a utilizar para detectar las descargas del órgano eléctrico para un determinado pez. Al final encuentra los picos en el registro para un determinado umbral y grafica la Frecuencia instantánea en función del tiempo para corroborar la correcta detección.
- *Exploracion_DLC.ipynb*: Esta rutina toma un archivo '.h5', salida de DeepLabCut y otros parámetros como el número de partes del cuerpo trackeadas y el número de capturas por segundo a las cuales se registra el video.

El código de *limpieza* tiene la funcionalidad de suavizar el trackeo generado por DeepLabCut. En la carpeta "Limpieza" se encuentran dos rutinas, con la misma funcionalidad, pero a escalas distintas.

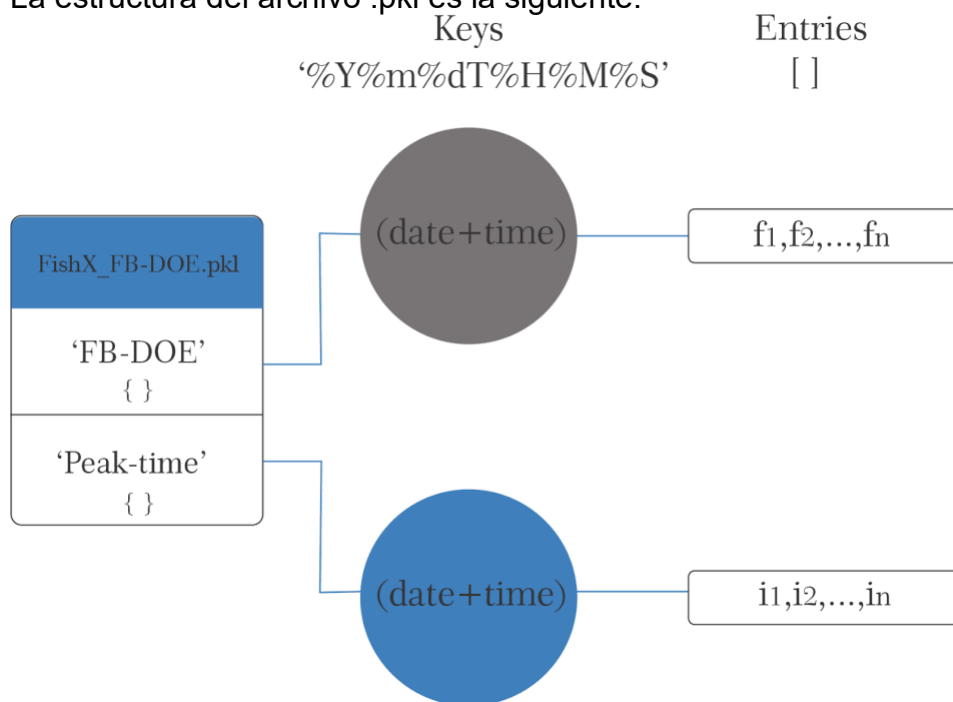
- *limpiar_pose.ipynb*: Este código permite estudiar el funcionamiento del suavizado para un solo video trackeado. Toma un archivo '.h5' y grafica las posiciones en x y en y de todas las partes del cuerpo, posterior al suavizado, para corroborar que no haya saltos inesperados en la posición. El suavizado consiste en eliminar todos los datos donde la 'likelihood' (o probabilidad) de una parte del cuerpo es menor a 0.99, y luego interpolar mediante sus valores vecinos la posición de esa parte del cuerpo en esa captura.
- *limpiar_pose.py*: Este código tiene la misma funcionalidad que el anterior, pero realiza el suavizado para todos los archivos de trackeo en una determinada carpeta. Aquí se puede brindar carpetas por pez o una carpeta conteniendo todos los archivos '.h5' del experimento. La salida es la generación de los archivos '.h5' actualizados, con la adición del sufijo '_clean', los cuales se guardarán en la misma carpeta.

Análisis

Estas rutinas generan la estructura de datos que analizaremos a partir de los datos crudos.

- *Adquisicion_FBDOE.py*: Este script tiene la misma funcionalidad que 'Exploracion_DOE.ipynb' pero para todos los archivos en una carpeta. Genera un diccionario con la FB-DOE y el tiempo de cada pico. El diccionario que guarda es un diccionario que contiene dos diccionarios: FB-DOE y Peak-time. Cada uno de estos diccionarios cuenta con un elemento por archivo cuya key es el nombre del archivo y el valor es un vector de FB-DOE y Peak-Time de cada archivo, respectivamente. Luego, este diccionario se utiliza en otros scripts para no re-detectar DOEs ni re-calcular la frecuencia basal. Por cada pez se tendrá un archivo '.pkl' salido de este script que guarda el diccionario generado.

La estructura del archivo .pkl es la siguiente:



- *Adquisicion_locomocion.py*: Este script genera el análisis inicial de la locomoción. Para esto suaviza el trackeo y calcula el tiempo en movimiento del animal a lo largo del registro brindado. A su vez genera los mapas de distribución espacial del tiempo de visita, frecuencia de descarga y densidad de muestreo.

Post-procesamiento

Una vez se obtiene el archivo pkl de actividad eléctrica y el análisis locomotor inicial, se puede seguir con otros procesamientos. Esto incluye la evaluación de los modelos entrenados, análisis estadísticos de variables relevantes, etc. En este repositorio se provee un script para analizar el rendimiento de DeepLabCut (eval_DLC.py). Ejemplos de otros procesamientos, como la segmentación de unidades comportamentales se pueden acceder en la carpeta G. petersii

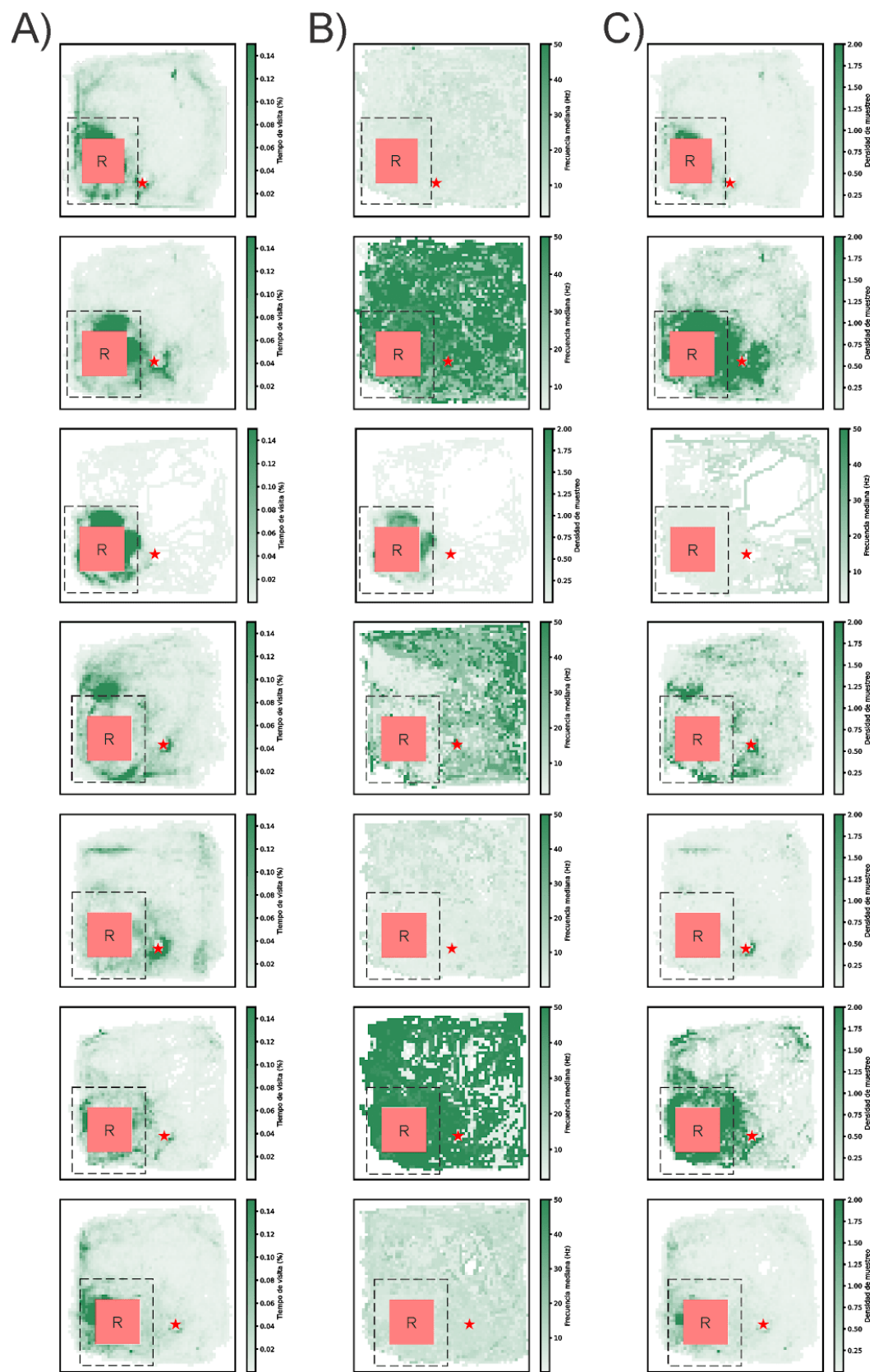
Workflow sugerido

Una vez obtenidos los archivos de video y de registro eléctrico de la estación conductual, se sugiere comenzar con el análisis de la Frecuencia Basal de la Descarga del Órgano Eléctrico (FBDOE). Para esto, se recomienda comenzar con la exploración ("*Exploracion_DOE.ipynb*") para cada pez. Luego de explorar los registros para cada pez y determinar los umbrales apropiados para la detección de las descargas, pasar a "*Adquisicion_FBDOE.py*".

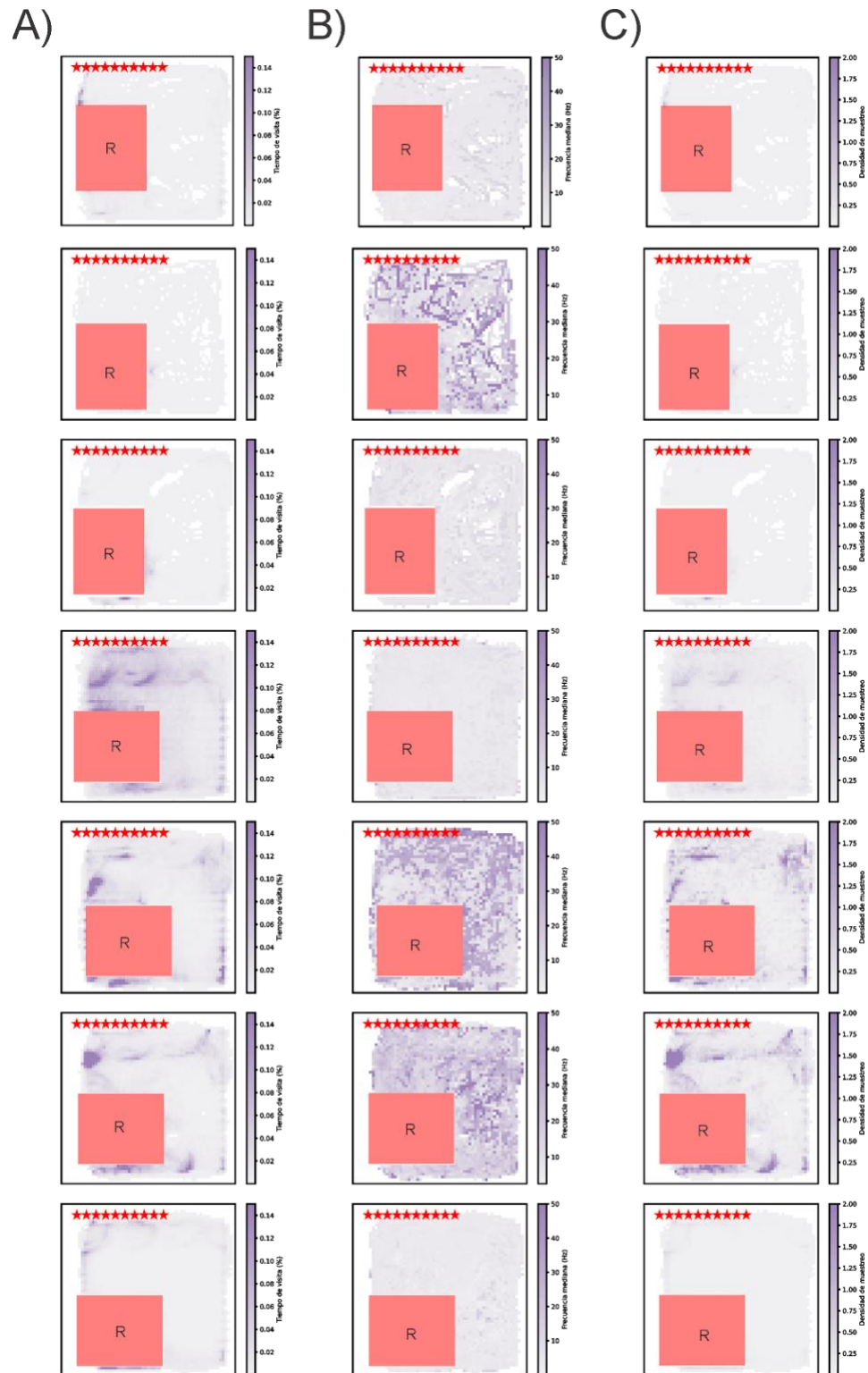
Para el análisis de la actividad locomotora, se debería obtener el seguimiento del animal utilizando algún sistema de tracking. Si se utiliza DeepLabCut, se puede pasar directamente a utilizar el código aquí publicado. En caso de utilizar otro sistema de tracking, el código aquí presente ha de ser modificado como sea apropiado.

A2. Capítulo 1

A2.1 Mapas de distribución espacial para el estímulo abiótico



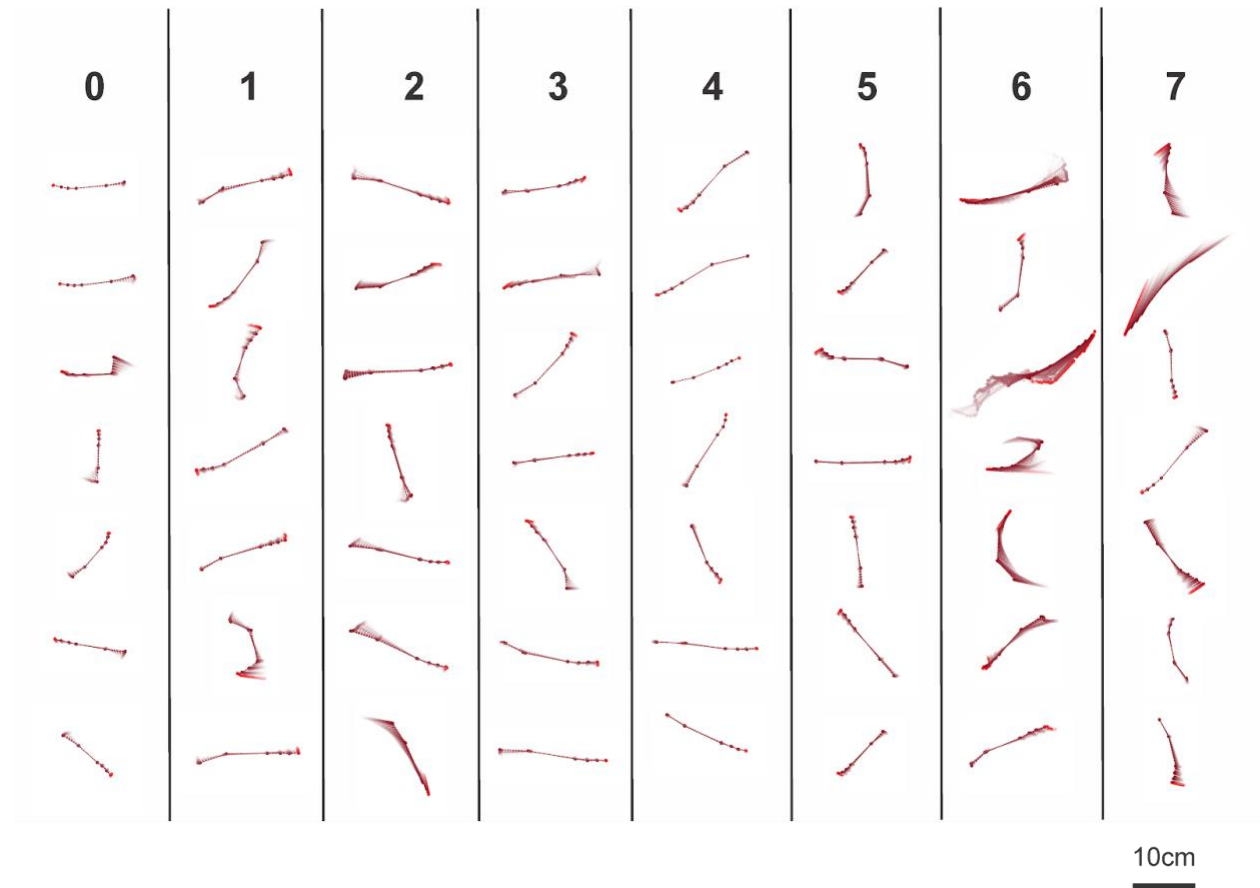
A2.2 Mapas de distribución espacial para el estímulo biótico descargando (social)



A2.3 Mapas de distribución espacial para el estímulo biótico silenciado



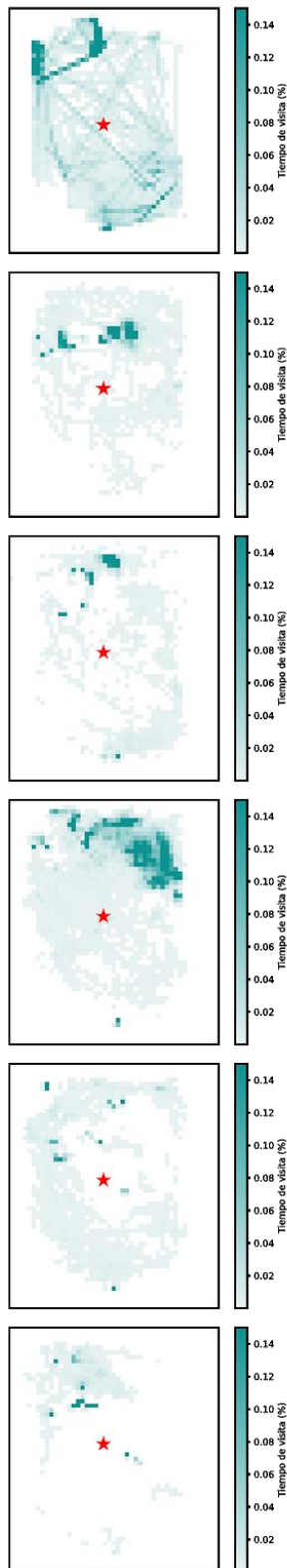
A2.4 Ejemplos B-Soid



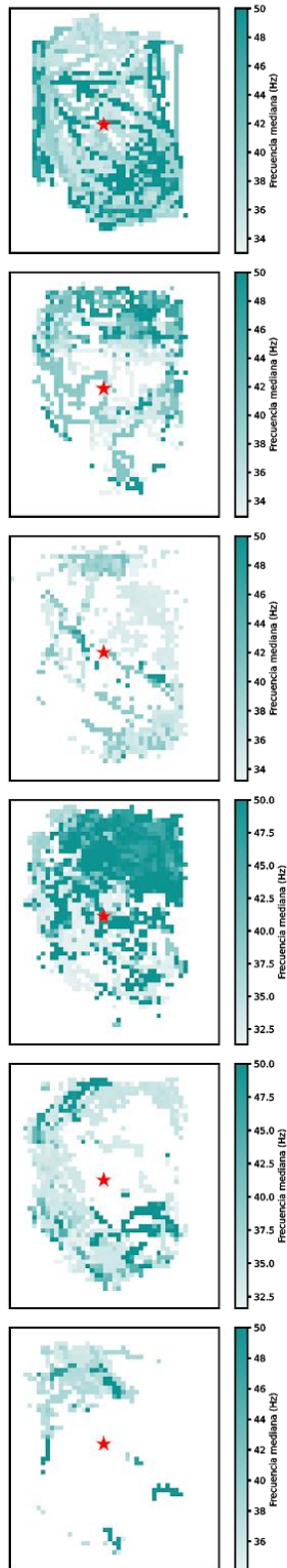
A3. Capítulo 2

A3.1 Mapas de distribución espacial para la sesión del atardecer

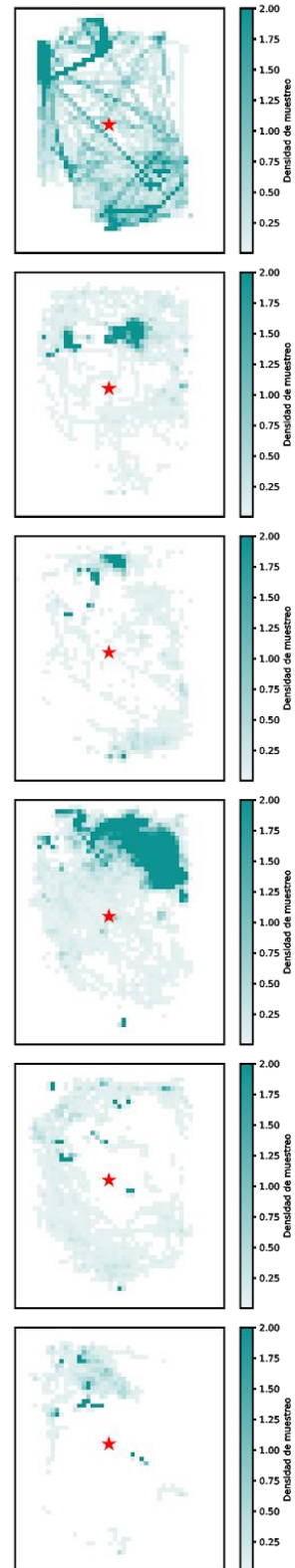
A)



B)



C)



A3.2 Mapas de distribución espacial para la sesión del amanecer

A)

B)

C)

