



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

HABITUACIÓN EN LA PUPA DEL GUSANO DE LA HARINA (*Tenebrio*

***molitor*): UN ESTUDIO PRELIMINAR**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

Licenciado en Psicología

PRESENTA

Juan Jesús García Salazar

Director: Dr. Luis Rodolfo Bernal Gamboa
Revisor: Dr. Javier Nieto Gutiérrez
Comité: Dra. Patricia Romero Sánchez
Lic. Raúl Reyes Contreras
Lic. Rafael Cruz Velázquez

Esta Tesis contó con el apoyo del proyecto DGAPA-PAPIIT IN306020

Ciudad Universitaria, CDMX, 2021





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

Quiero agradecer a mis padres que me han apoyado para poder estudiar la licenciatura en psicología, a mis tías y abuelos por interesarse también en mi educación, a mis hermanos y al “joven” por compartirme su conocimiento de sus respectivas áreas.

Al Dr. Rodolfo, por haberme aceptado en el laboratorio, apoyarme y confiar en mí para la realización de este proyecto. También quiero agradecer a mis compañeros del laboratorio: Lalo, Mariel, Diana y Yanni, los cuales son grandes amigos y maestros.

Un agradecimiento especial a la Licenciada Tere Almazán Mason por su apoyo en asesoría metodológica.

Por último, quiero agradecer a los tenebrios que participaron en este proyecto, son una especie fascinante que, a pesar de ser pequeños, tienen el potencial para mejorar el mundo.

ÍNDICE

Resumen.....	1
Introducción.....	2
Relevancia teórica.....	3
Características conductuales de la habituación.....	5
Habituación en insectos	8
Abejas	8
Mosquitos.....	9
Tenebrio molitor como modelo de estudio.....	10
Hollis 1963	12
Askew y Kurtz, 1974.....	12
Somberg et al., 1973	13
Método	14
Sujetos	14
Materiales y aparatos	15
Procedimiento.....	16
Resultados y Discusión	18
Conclusión	23
Referencias	28

Resumen

La disminución en la respuesta que ocurre con la presentación repetida de un estímulo se conoce como efecto de habituación. El objetivo del presente experimento fue evaluar la respuesta de habituación de las contracciones abdominales en la pupa del *Tenebrio molitor*. Para ello se emplearon dos fases. En la fase 1 todos los grupos fueron expuestos a 13 minutos de luz continua. Durante esta fase, todas las pupas mostraron un alto número de contracciones abdominales en los primeros minutos, pero que se fueron reduciendo conforme avanzaron los minutos. En la siguiente fase, el Grupo 1 recibió un periodo de 1 hora de descanso, el cual fue seguido por otros 13 minutos de luz continua. Para los otros tres grupos, la fase 2 se condujo inmediatamente después de la fase 1. El Grupo 2 recibió 13 minutos de luz parpadeante, el Grupo 3 fue expuesto a 13 minutos de estimulación vibratoria y el Grupo 4 recibió 13 minutos de luz continua. Los resultados de la fase 2 mostraron que los grupos 1,2 y 3 tuvieron un aumento significativo en sus contracciones abdominales, después de un periodo sin estimulación o cambiando de estímulo, descartando la fatiga y adaptación sensorial como posible explicación.

Palabras clave: Deshabitación, Habituación, Holometábolos, Recuperación espontánea.

Introducción

Una de las formas relativamente más simples de aprendizaje es la habituación, en la cual se observa un decremento en la respuesta debido a la presentación repetida de un estímulo. Sin embargo, es importante contar con los controles adecuados debido a que el decremento en la respuesta puede ser causado por factores diferentes al aprendizaje, por ejemplo, la adaptación sensorial (en el cual la estimulación constante reduce la sensibilidad para responder a un estímulo), o de manera semejante puede existir fatiga motora ocasionando la reducción en la respuesta. Dado que se ha reportado el efecto de habituación en organismos tan distintos como los humanos (Geer 1966) y las moscas de la fruta (Duerr y Quinn 1982), se ha reconocido la relevancia evolutiva de la habituación, es decir, la evidencia de que este fenómeno se extienda en animales tan diversos y cuyos entornos de vida son muy distintos sugiere que la conservación de la habituación en el repertorio conductual de los organismos ha facilitado la adaptación de los mismos a lo largo de los años.

El estudio en insectos ha tenido un auge en los últimos años debido a que dicho modelo presenta algunas ventajas, tales como un sistema nervioso central menos complejo, facilitando el estudio de diversos fenómenos de aprendizaje (Frost y Megalou, 2009). Existen reportes sobre la habituación en algunos insectos como avispa (Barrass, 1961), en la abeja melífera (Braun y Bicker, 1992) y en mosca de la fruta (Duerr y Quinn, 1982). No obstante, la información que se tiene sobre la habituación en insectos es escasa. Por ejemplo, en el orden de los coleópteros, únicamente existen tres investigaciones sobre la habituación en pupas del escarabajo de la harina (*Tenebrio molitor*; Askew y Kurtz, 1974; Hollis, 1963; Somberg et al., 1973) algunas de las cuales

presentan serias limitaciones metodológicas (i.e., omisión de información procedimental importante, ausencia de grupos control y escasa replicación de los hallazgos). Con lo cual, es necesario continuar estudiando el efecto de habituación de forma más sistemática y controlada en la pupa del *Tenebrio molitor*.

Por tanto, en la primera parte de la presente tesis se presenta la definición del fenómeno de habituación así como algunas cuestiones teóricas y aplicadas derivadas de su estudio. En la siguiente sección se presentan brevemente los principales hallazgos de la habituación en insectos enfatizando lo reportado en el *Tenebrio molitor*, lo que da paso al objetivo y al diseño experimental realizado para la presente tesis. Finalmente, se presenta una conclusión basada en los hallazgos del experimento.

Relevancia teórica

La capacidad de un organismo para modificar su comportamiento debido a la experiencia es el resultado de un aprendizaje. Se suele dividir a los procesos de aprendizaje en 2 categorías: aprendizaje asociativo y no asociativo. El primero hace referencia al establecimiento de asociaciones entre dos estímulos o entre un comportamiento y un estímulo, mientras que el aprendizaje no asociativo se refiere a la presentación repetida de estímulos, dentro de esta categoría se encuentran los fenómenos de sensibilización y habituación (e. g., Domjan, 2016; ver también, Baglan, Lazzari y Guerrieri, 2017).

La sensibilización es un aumento en la respuesta conductual debido a la presentación de un estímulo de mayor magnitud o novedoso, por otro lado, Harris (1943) define operacionalmente la habituación como la “disminución de la respuesta como resultado de la estimulación repetida (p. 385)”, posteriormente en una revisión hecha por

Ranklin et al, (2009) definen a la habituación como una disminución gradual de la respuesta causada por la presentación repetida de un estímulo y se puede diferenciar de la adaptación sensorial o fatiga motora. Debido a que la habituación es un fenómeno bastante extendido en los animales, se ha propuesto que una de las principales funciones de dicho efecto es que evita que los animales hagan un gasto innecesario de tiempo y energía en conductas que no son funcionales (Bouton, 2019).

Aunque es relativamente común que en la literatura se presente al fenómeno de habituación como un proceso no asociativo, en realidad no hay un consenso general. Varios autores han reportado estudios que demuestran que durante la habituación se pueden establecer asociaciones que pueden ser evaluadas subsecuentemente (e.g., Reyes-Jiménez, Iglesias-Parro y Paredes-Olay, 2020). En particular, el hallazgo de que la respuesta habituada puede estar controlada por el contexto se ha utilizado como evidencia consistente con aproximaciones teóricas que proponen que el resultado de una exposición repetida a un estímulo involucra el aprendizaje asociativo, es decir, se ha propuesto que los efectos de cambio de contexto se deben a que se han establecido asociaciones entre el estímulo y el contexto, con lo cual, los organismos tendrán una respuesta de habituación al estímulo sólo en el contexto asociado a la presentación repetida de dicho estímulo, pero no tendrán una respuesta de habituación al estímulo si se presenta en un contexto sin esa asociación previa (*sometimes opponent process* (SOP) model, Wagner, 1981; ver también, Vogel, Ponce y Wagner, 2019).

Otro punto referente al efecto de habituación que se sigue discutiendo en la literatura es el mecanismo responsable de dicho efecto. Por un lado, ciertas perspectivas teóricas le dan más peso a algún proceso de memoria (e.g., Wagner, 1981), mientras

que en otras la disminución en la transmisión de información es más relevante (Groves y Thompson, 1970). Adicionalmente, las investigaciones han utilizado distintos sistemas de respuesta para evaluar las predicciones de las diferentes aproximaciones teóricas lo que dificulta una comparación más directa entre las predicciones de los modelos (Thompson, 2009). No obstante, el largo camino avanzado en el estudio de la habituación ha dejado ciertas certezas, como son sus características conductuales, las cuales se presentan a continuación.

Características conductuales de la habituación

El decremento en la respuesta debido a la repetición continua de algún estímulo no siempre es causado por un efecto de habituación, por ejemplo, el organismo puede presentar adaptación sensorial, en la cual los órganos implicados en la detección del estímulo tienen una disminución en su sensibilidad, por otro lado, si los músculos implicados quedan agotados debido a la estimulación repetida puede causar fatiga motora. Sin embargo, existen características específicas de la habituación que permiten descartar diversas explicaciones alternativas (Rankin et al., 2009; Thompson y Spencer, 1966).

Característica 1: La repetida exposición de un estímulo resulta en un decremento progresivo en la frecuencia y/o magnitud de una respuesta a un nivel asintótico.

Característica 2: La habituación se disipa con el paso del tiempo. Si el estímulo es retenido después del decremento en la respuesta, la respuesta se recupera al menos parcialmente (recuperación espontánea).

Característica 3: Después de varias series de repeticiones del estímulo y recuperación espontánea, el decremento de respuesta se vuelve sucesivamente más rápido y/o más pronunciado.

Característica 4: La magnitud de la habituación depende del intervalo entre estímulos (IEE), es decir, IEE cortos producirán una habituación más rápida, pero menos resistente, comparada con una habituación producida por IEE largos.

Característica 5: La habituación es dependiente de la intensidad del estímulo, es decir, un estímulo menos intenso producirá un decremento en la respuesta más rápido y pronunciado.

Característica 6: El efecto de la estimulación repetida puede continuar de forma acumulada incluso después de que la respuesta haya alcanzado su nivel asintótico.

Característica 7: Dentro de la misma modalidad de estímulo, el decremento en la respuesta muestra cierta especificidad de estímulo.

Característica 8: La presentación de un estímulo diferente (generalmente fuerte) resulta en la recuperación de la respuesta al estímulo original (deshabitación).

Característica 9: Tras la aplicación repetida del estímulo deshabitado, la cantidad de deshabitación producida disminuye (habituación de la deshabitación).

Característica 10: Existen dos tipos de habituación: habituación a corto plazo (HCP) y habituación a largo plazo (HLP), los cuales dependen del IEE. La HCP se refiere a la disminución de la respuesta dentro de una sesión de prueba y puede durar desde

unos segundos hasta minutos u horas. La HLP puede persistir durante horas, días o semanas y se produce por protocolos específicos de repetición que generalmente requieren IEE más largos que los que producen la HCP.

Éstas diez características identificadas por Harris (1943) y Thompson (2009) sintetizan el esfuerzo de casi un siglo estudiando el efecto de habituación. Actualmente, sirven como base para continuar distintas líneas de investigación que involucran la habituación. Por ejemplo, algunos autores emplean la información de estas características para comprender los mecanismos neurales subyacentes a la habituación (e. g., Ardeil y Rankin, 2010; Byrne, Antzoulatos y Fioravante, 2009; McDiarmid, Yu y Rankin, 2019). Otras investigaciones utilizan el conocimiento de las características conductuales para contrastar las predicciones de distintas teorías (e.g, Hall y Rodríguez, 2017; Thompson, 2009). Adicionalmente, varios autores han señalado que el conocimiento de las características conductuales de la habituación puede favorecer la comprensión de situaciones complejas humanas tales como la alimentación (para una revisión ver, Epstein, Temple, Roemmich y Bouton, 2009), la conducta sexual y el abuso de sustancias (Domjan, 2016). Finalmente, existen autores que sugieren que la aplicación de las características conductuales de la habituación puede ser un buen punto de partida para el desarrollo de investigaciones sobre aprendizaje en especies de animales poco estudiadas (e. g., Prados, Fisher, Moreno-Fernández, Tazumi y Urcelay, 2020; Reyes-Jiménez et al., 2020). Debido a que la presente tesis se centra en esta línea de investigación, a continuación, se mencionan los estudios más representativos sobre habituación en insectos.

Habitación en insectos

La investigación realizada sobre la habitación se ha extendido a una gran variedad de organismos, desde los humanos (Geer 1966) hasta alcanzar a organismos no neurales como el moho del limo (Boisseau et al., 2016). En el caso de los insectos se ha podido demostrar habitación en la hormiga (Wiel y Weeks, 1996), la abeja melífera (Braun y Bicker, 1992) y en la mosca de la fruta (Duerr y Quinn, 1982). Varios investigadores han resaltado diferentes características que hacen de los insectos un modelo animal atractivo. Por ejemplo, dado su tamaño, no es necesario contar con amplios laboratorios, y su mantenimiento es más sencillo que el de otros animales. Para las investigaciones sobre neurociencia cognitiva, los insectos se han convertido en modelos de interés debido a que cuentan con neuronas de mayor tamaño y con un sistema nervioso menos complejo que el de los mamíferos (Frost & Megalou, 2009). Adicionalmente, varios autores han resaltado que dado que los insectos comprenden el grupo de animales más diversos de nuestro planeta, utilizarlos como modelo de estudio puede brindar mucha información acerca de la evolución de los diferentes procesos conductuales (Perry, Barron y Cheng, 2013).

Abejas

Götz Braun y Gerd Bicker en 1992, evaluaron el efecto de habitación de la respuesta de extensión de la probóscide en abejas. Para ello, colocaron de forma individual a las abejas en un tubo de metal que cubría todo su cuerpo (excepto la cabeza) y las mantenía inmóviles. El estímulo empleado fue una solución azucarada (al 5% de azúcar) al cual las abejas eran expuestas a través de gotas que se dejaban caer en una de las antenas. Para contabilizar el movimiento de la probóscide se introdujo un

electrodo en la cabeza de la abeja que permitía registrar la contracción del músculo involucrado en los movimientos de la probóscide. Los autores mostraron la habituación de la respuesta después de exponer a las abejas en 20 ocasiones al agua azucarada. Asimismo, los autores reportaron un efecto de deshabituación cuando colocaron en la otra antena de las abejas gotas de una solución azucarada más dulce (al 50% de azúcar).

Abejorros

En 2004, Virginia Simonds y Catherine Plowright realizaron un estudio para explorar la habituación de una respuesta de exploración en abejorros. Las autoras utilizaron un laberinto radial de 12 brazos, al final de 6 brazos se encontraba el estímulo prueba que era un disco de 12 cm de diámetro con un particular patrón visual (e. g., círculos concéntricos). El entrenamiento consistió exponer durante 60 ocasiones a los abejorros al estímulo, lo cual produjo un decremento en la respuesta de elección del brazo que contenía el estímulo prueba (las cuales se contaban cuando el abejorro atravesaba todo el brazo). Después de habituada la respuesta, las autoras expusieron a los abejorros a un estímulo nuevo (e. g., triángulos radiales). Dado que los abejorros mostraron un incremento de la respuesta de elección de los brazos que contenían el estímulo nuevo comparado con el estímulo original, se concluyó que dichos hallazgos eran evidencia de habituación y no de fatiga.

Mosquitos

Los investigadores franceses, Hugo Baglan, Claudio Lazzari y Fernando Guerrieri (2017) estaban interesados en conocer si la larva del mosquito (*Aedes aegypti*) se podía habituar bajo condiciones de laboratorio. Por esta razón los experimentadores le

presentaron un estímulo visual (sombra) el cual causaba una respuesta de escape, para evitar las explicaciones de fatiga o adaptación sensorial a un grupo se le presentó un nuevo estímulo (vibraciones) después de los ensayos de habituación. Los resultados mostraron una disminución en el nivel de respuesta de escape del 73% y cuando se les presentó el nuevo estímulo hubo una recuperación en la respuesta, lo cual refleja que las larvas dejaron de responder específicamente al estímulo visual.

***Tenebrio molitor* como modelo de estudio**

Los párrafos anteriores muestran que existen algunas investigaciones sobre la habituación en insectos, no obstante, la información sigue siendo escasa. Por ejemplo, una gran parte de dichos estudios no cuentan con un seguimiento reciente. Adicionalmente, comparado con el número de especies que existen, el mayor número de investigaciones sobre habituación se han centrado en el orden de los dípteros (e. g., moscas, mosquitos; ver, Corfas y Dudai, 1989; Duerr y Quinn, 1982) e himenópteros (e. g., abejas, hormigas, abejorros, avispas; ver, Barrass, 1961; Simonds y Plowright, 2004). Adicionalmente, la mayoría de las investigaciones se han enfocado en los estados de desarrollo larval o adulto, dejando de lado el estado de desarrollo pupal del insecto con poca información. Por tanto, estudiar un insecto en un orden distinto y en una etapa de desarrollo diferente a lo mencionado anteriormente es necesario.

El orden que más especies contiene comparado con cualquier otro en el reino animal es el de los coleópteros. Dentro de este orden se encuentra el escarabajo *Tenebrio molitor*, el cual presenta una metamorfosis completa (holometábolo), dicho escarabajo pasa por las etapas de embrión, larva, pupa y finalmente en adulto (Ver

Figura 1). Durante la etapa pupal es susceptible a ser atacado por diversos depredadores sin embargo cuenta con diversas estrategias para defenderse, una de ellas es la rotación circular de los segmentos abdominales para su defensa (Ichikawa y Kurauchi, 2009), además se ha demostrado que las rotaciones abdominales tienen una función para escapar de estímulos luminosos que producen calor (Askew y Kurtz, 1974), por este motivo se ha podido utilizar esta conducta en la fase pupal para estudiar el efecto de habituación. A continuación, se presentan los tres estudios sobre habituación en la pupa del *Tenebrio molitor*.



Figura 1. Etapas del *Tenebrio molitor*. Larva (izquierda) Pupa (centro) y Adulto (Derecha). Imagen obtenida de

<https://www.facebook.com/114797113248843/posts/308163797245506/>

Hollis 1963

En 1936, John Hollis condujo el primer experimento que estudió la habituación de la respuesta de “reflejo abdominal” que consistió en medir los movimientos abdominales en diferentes direcciones realizados por la pupa. Las pupas se colocaron en un aparato construido por Hollis y Chester (1961). Se emplearon dos tipos de estimulación: 1) estimulación eléctrica (i. e, descargas eléctricas administradas en los lados de la cabeza) y 2) estimulación táctil (i.e, frotar con un cepillo de pelo de camello el cuerpo de la pupa de la cabeza al tórax). La primera fase del estudio consistió en una línea base, en la cual se determinó el nivel de movimiento del reflejo abdominal en ausencia de estimulación. En la siguiente fase, todas las pupas recibieron descargas eléctricas hasta que se obtuvo el criterio de habituación (10 ensayos consecutivos en los que no se presentó la respuesta del reflejo abdominal). En la tercera fase, a las pupas se les presentó de forma alternada la estimulación eléctrica y la estimulación táctil. Los resultados mostraron que el nivel de respuesta del reflejo abdominal fue mayor cuando las pupas fueron expuestas al nuevo estímulo (estimulación táctil) comparado con la estimulación eléctrica. Así, los datos de Hollis, muestran la habituación y deshabituación en la pupa del *Tenebrio molitor*.

Askew y Kurtz, 1974

En 1974, Henry Askew y Perry Kurtz lograron replicar y extender los resultados de Hollis (1963) al mostrar que la habituación de la respuesta del reflejo abdominal producida por descargas eléctricas fue más lenta cuando se empleó una estimulación eléctrica más intensa (50 μ A) comparada con una estimulación eléctrica menos intensa (4 μ A; Experimento 3). Adicionalmente, dichos autores también demostraron que la respuesta de habituación se recuperó de forma espontánea cuando se introdujo un

periodo de descanso de 120 minutos comparado con un periodo de descanso de 0 minutos (Experimento 4).

Somberg et al., 1973

Por otro lado, John Somberg, George Happ, y Allen Schneider (1973) también condujeron una serie experimental en donde evaluaron el decremento gradual en las contracciones abdominales en la pupa del escarabajo *Tenebrio molitor*, sin embargo, dichos autores utilizaron estimulación lumínica para producir los movimientos abdominales. La fase de habituación en el experimento de Somberg et al. (1973) consistió en exponer a las pupas durante 13 minutos a una luz continua. Posteriormente se dividieron a las pupas en 2 grupos. Uno de ellos, recibió inmediatamente después de la fase de habituación 13 minutos de luz parpadeante, mientras que el otro grupo permaneció 60 minutos en oscuridad, y posteriormente recibió otros 13 minutos de luz continua. Los autores reportaron que ambos grupos mostraron un incremento en la respuesta de contracciones abdominales, por tanto, dichos hallazgos demuestran que la habituación es específica del estímulo y que la respuesta habituada se puede recuperar espontáneamente.

Aunque los estudios brevemente descritos presentan hallazgos sobre el efecto de habituación en la pupa del *Tenebrio molitor*, es importante tomar en cuenta los siguientes puntos: 1) Los experimentos tienen bastante tiempo de reportados y el seguimiento ha sido casi escaso, es decir, los efectos provocados por la estimulación eléctrica se reportaron en 1963 y desde su replicación en 1974, no existe investigación subsecuente. En el caso del efecto de habituación provocado por la estimulación lumínica la situación involucra su reporte en 1973 y nula replicación. 2) Si bien los resultados muestran

algunas características conductuales de la habituación, es necesario evaluar si el resto de las características propuestas como generales, pueden encontrarse en este tipo de insecto. 3) La evidencia disponible en la literatura está en un nivel descriptivo del efecto, es decir, los mecanismos (neurobiológicos y psicológicos) involucrados en la habituación de la pupa del *Tenebrio molitor*, todavía son ignorados.

Por lo tanto, la propuesta de este trabajo fue dar seguimiento al estudio de la habituación en la pupa del *Tenebrio molitor*. Dado que de los resultados de Somberg et al. (1973) no han sido replicados, su procedimiento se tomó como base para desarrollar un paradigma experimental que sienta las bases que permitan establecer a la pupa de este insecto como un modelo sólido para el estudio de las características y factores involucrados en la habituación. Debido a que Somberg et al., no describen de forma detallada el aparato experimental empleado, se construyó una cámara experimental para colocar a los insectos de forma segura, y en la cual recibieron la presentación de los estímulos empleados, además de emplear el estímulo luminoso añadimos un nuevo estímulo vibratorio (ver Vácha, 2007).

Método

Sujetos

Se usaron 52 pupas de la especie *Tenebrio molitor* (13 por grupo) las cuales se tomaron de un cultivo de larvas. Las pupas tenían aproximadamente 5 horas al inicio del experimento. Las larvas fueron alimentadas con salvado de trigo, avena y fragmentos de zanahoria, posteriormente se alojaron de forma individual en compartimentos de plástico (3.3 x 3.3 x 2.5 cm, alto x ancho x profundidad). Las larvas se mantuvieron en una

habitación cuya temperatura oscilaba entre 20-25 °C, mientras que el nivel de humedad era del 45-60%.

Materiales y aparatos

Se construyó una cámara de madera MDF 4 mm con melamina blanca de 4 x 7.2 x 5.5 cm (A x L x A), la pared frontal se eliminó para las grabaciones de las contracciones y el techo era desmontable, la base era de cartulina la cual estaba a 1 cm de altura y sobre ella se pegó una plataforma de foami de 1.1 x 2 x 2 cm (A x L x A) en la cual se sujetó a las pupas con cinta adhesiva transparente. Para la estimulación vibratoria se colocó 1 mini motor vibratorio (3Vdc, 90mA, 12000 ± 2500 RPM, 10 mm diámetro, 3 mm ancho) conectado a un potenciómetro de 1 KΩ debajo de la base para poder regular la intensidad de las vibraciones.

Para la estimulación con luz continua se usaron 2 leds blancos cada uno con una resistencia de 330Ω, para las luces parpadeantes se construyó un circuito eléctrico en una protoboard capaz de controlar a los 2 leds, el cual estaba formado por 1 circuito integrado N555, 1 resistencia de 330, 560, 1KΩ, 1 transistor 2N2222A, 1 condensador de 100mF y 1 potenciómetro de 5KΩ. Todos los leds se encontraban a una distancia de 1.5 cm de la pupa. Se contó con un interruptor individual para los leds y el mini motor vibrador, la fuente de alimentación fue de 9Vdc 300mA (ver Figura 2).

Todas las sesiones se grabaron con una cámara digital compacta (Sony DSC-W800) montada en un tripié de metal de 22 cm de alto (Solidex TR-1). Las sesiones se condujeron en una habitación iluminada por un foco de luz fluorescente blanca de 23W para su posterior análisis.

El experimento consistió en dos fases, las cuales se describen a continuación (ver Tabla 1):

Fase 1. Todas las pupas se colocaron en el aparato experimental en el cual recibieron de forma interrumpida 13 minutos de estimulación lumínica (2 leds blancos se mantuvieron prendidos de forma constante durante esta fase).

Fase 2. Para los Grupos 2, 3 y 4, esta fase se condujo inmediatamente después del último minuto de la fase anterior; mientras que las pupas en el Grupo 1 fueron expuestas a esta fase después de transcurridos 60 minutos sin estimulación (las luces se apagaron y se dejaron quietas en el aparato experimental). Tanto el Grupo 1 como el Grupo 4 fueron expuestos en esta segunda a la misma estimulación que en la fase previa (i. e., 13 minutos de luz continua). Por su parte, las pupas del Grupo 2 recibieron 13 minutos de estimulación lumínica, pero a diferencia de la Fase 1, en esta segunda fase experimental la luz no era fija, sino intermitente (i. e., los 2 focos parpadeaban). Finalmente, la Fase 2 para el Grupo 3 consistió en recibir 13 minutos únicamente de estimulación vibratoria (ya no se encendieron los focos para estas pupas).

Así, el Grupo 1 y el Grupo 2 replican los grupos experimentales empleados por Somberg et al (1973), mientras que los grupos 3 y 4 son grupos añadidos para el presente trabajo de investigación.

Tabla 1.

Diseño experimental

Grupo	Fase 1	Intervalo de retención	Fase 2
Grupo 1	L	60 minutos	L
Grupo 2	L	0 minutos	LP
Grupo 3	L	0 minutos	V
Grupo 4	L	0 minutos	L

Nota. Estímulos: L = luz continua, LP = luz parpadeante, V = vibraciones.

Resultados y Discusión

Se registraron las contracciones abdominales y se convirtieron en contracciones por minuto, las cuales se compararon entre los grupos en las distintas condiciones del experimento con un análisis de varianza mixto (ANOVA), utilizando un criterio de rechazo de la hipótesis nula de $p < 0.05$. Cuando no se cumplió el supuesto de esfericidad se empleó la corrección Greenhouse-Geisser.

La figura 3 muestra el promedio de contracciones abdominales por minuto para los cuatro grupos la Fase 1 (panel izquierdo) y la Fase 2 (panel derecho; para ver el desempeño por grupo ver la figura 4). Un ANOVA mixto 4 Grupo x 2 Fase x 13 Minuto arrojó un efecto principal de Fase, $[F(1, 48) = 41.67, p < .001]$, y de minuto, $[F(5.73, 275.21) = 44.41, p < .001]$. También resultaron significativas las interacciones grupo x fase, $[F(3, 48) = 12.26, p < .001]$, grupo x minuto, $[F(36, 576) = 1.60, p = .016]$, fase x

minuto, $[F(7.75, 372.08) = 6.10, p < .001]$, y lo más importante, la triple interacción grupo x fase x minuto $[F(23.25, 372.08) = 2.90, p < .001]$.

Para el análisis detallado de esa triple interacción empezamos con el análisis de la Fase 1. En la figura 3 podemos observar que en los cuatro grupos se produce un patrón similar de respuesta: el número de contracciones va descendiendo a medida que pasan los minutos. Un ANOVA mixto 4 Grupo x 13 Minuto llevado a cabo sólo con los datos de la fase 1 arrojó un efecto principal de minuto significativo, $[F(6.29, 302.34) = 43.18, p < .001]$, mientras que no lo fueron el efecto principal de grupo ni la interacción grupo x minuto, $[F(3, 48) = 1.32, p = .278]$, y $[F(18.89, 302.34) = 1.55, p = .068]$, respectivamente.

En relación con el análisis de la Fase 2, en la figura 3 se aprecia que el número de contracciones es distinto en función del grupo del que se trate, sobre todo en los primeros minutos de esta fase. Un ANOVA mixto 4 Grupo x 13 Minuto realizado con los datos de la fase 2 encontró que los efectos principales de grupo y de minuto fueron significativos, $[F(3, 48) = 15.57, p < .001]$, y $[F(7.39, 354.98) = 12.72, p < .001]$, respectivamente. Más importante, también lo fue la interacción grupo x minuto, $[F(22.18, 354.98) = 2.77, p < .001]$. En el análisis detallado de esta interacción, un ANOVA unifactorial encontró un efecto simple de Grupo significativo en el minuto 1, $[F(3, 48) = 16.01, p < .001]$, pero no en el minuto 13, $[F(3, 48) = 1.95, p = .134]$, lo que indica que el número de contracciones durante el primer minuto de la fase 2 difirió entre los grupos, mientras que en el minuto 13 este número fue similar entre los grupos.

En el análisis de los resultados de cada grupo, empleando los datos del grupo 1 encontramos un aumento significativo del número de contracciones en el minuto 1 de la fase 2 respecto del último minuto de la fase 1, [$F(1, 12) = 15.92, p = .002$]. Esto es, se produjo una recuperación espontánea de la respuesta de contracción como consecuencia del periodo de tiempo transcurrido entre las dos fases. También se encontró una diferencia significativa en el número de contracciones entre fases en el grupo 2, [$F(1, 12) = 5.82, p = .033$]. Es decir, utilizar una luz intermitente en lugar de una luz continua en la fase 2 llevó a un aumento de la respuesta de contracción, aunque las dos fases se llevaron a cabo de forma ininterrumpida. A juzgar por la figura 5, en el grupo 3 se produjo un aumento mucho mayor del número de contracciones entre el final de la fase 1 y el principio de la fase 2, [$F(1, 12) = 21.84, p < .001$], como consecuencia de pasar de la luz continua a la vibración. Por último, tal y como esperábamos, no se observaron diferencias significativas entre ambas fases en el grupo 4

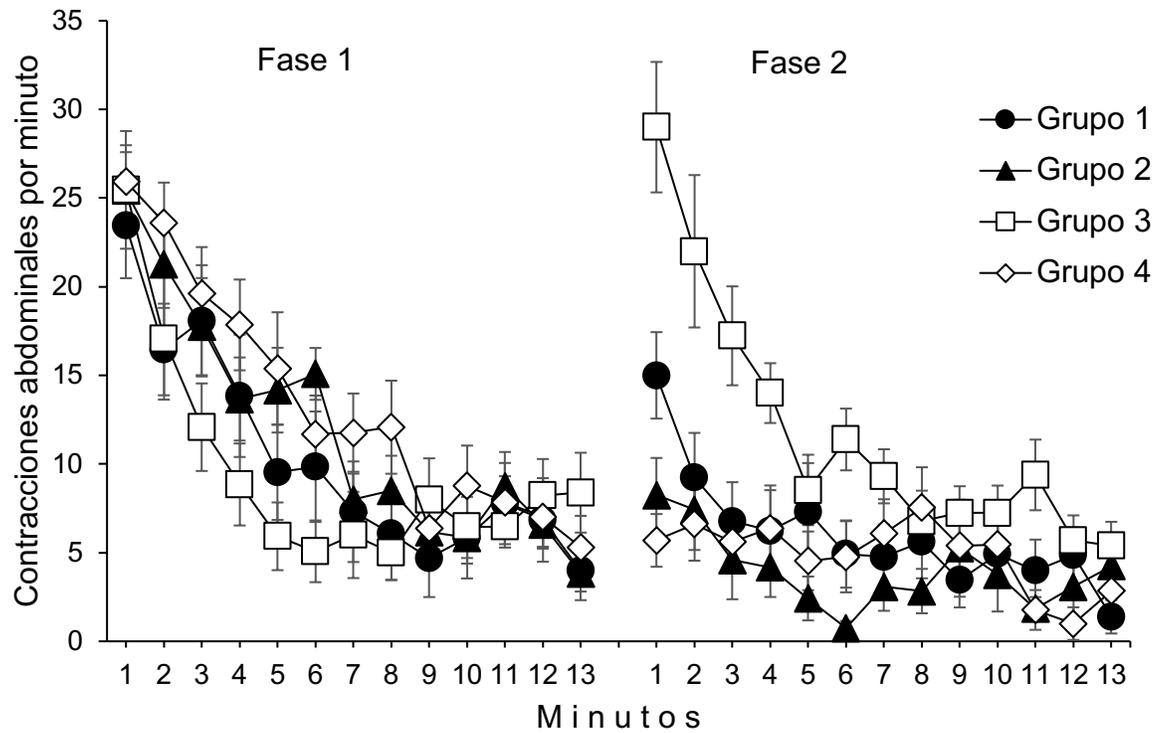


Figura 3. Promedio de contracciones abdominales para todos los grupos durante los 13 minutos de la Fase 1 (panel izquierdo) y los 13 minutos de la Fase 2 (panel derecho). Las líneas verticales representan el error estándar de la media.

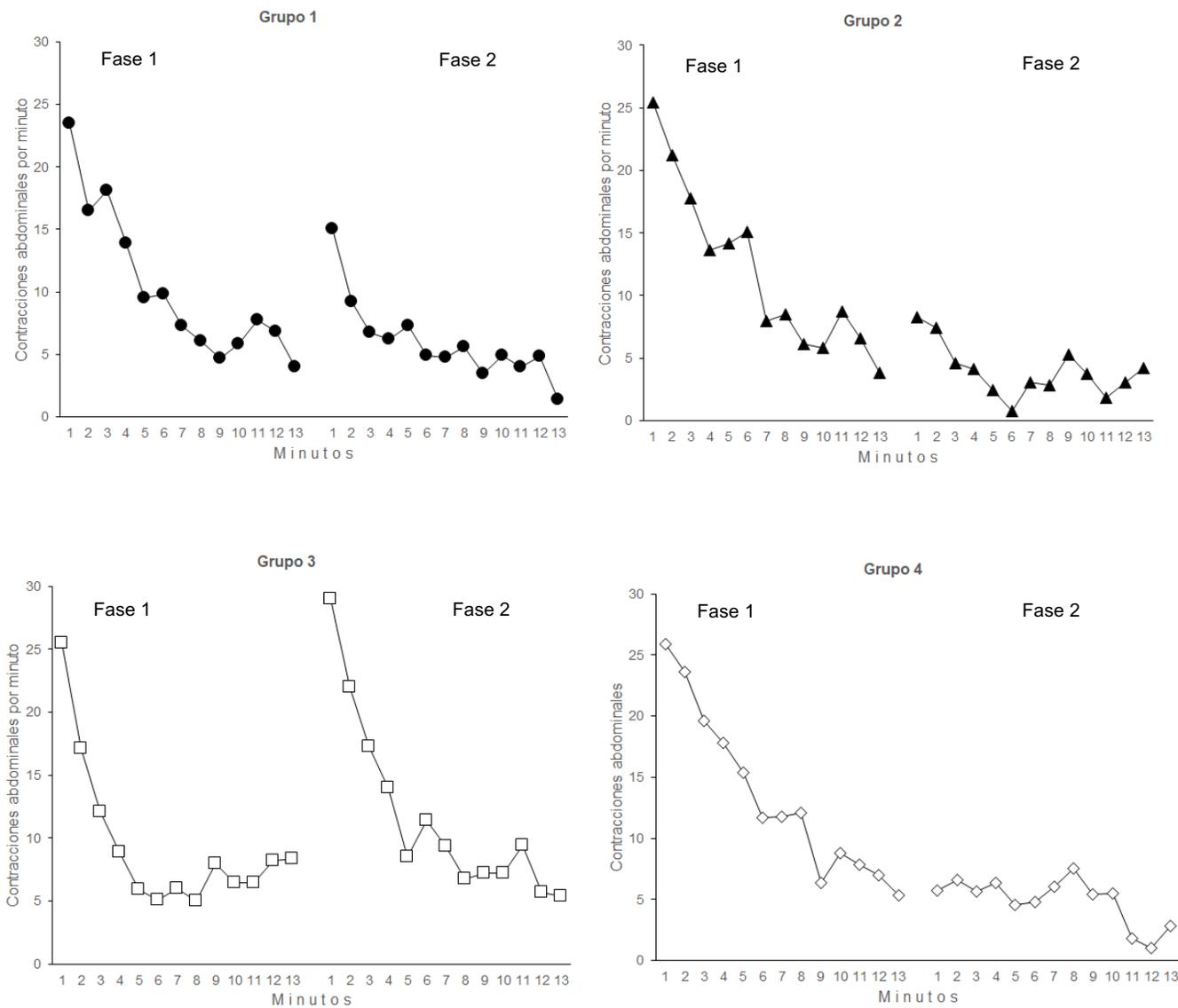


Figura 4. Promedio de contracciones abdominales para cada grupo durante la Fase 1 y la Fase 2.

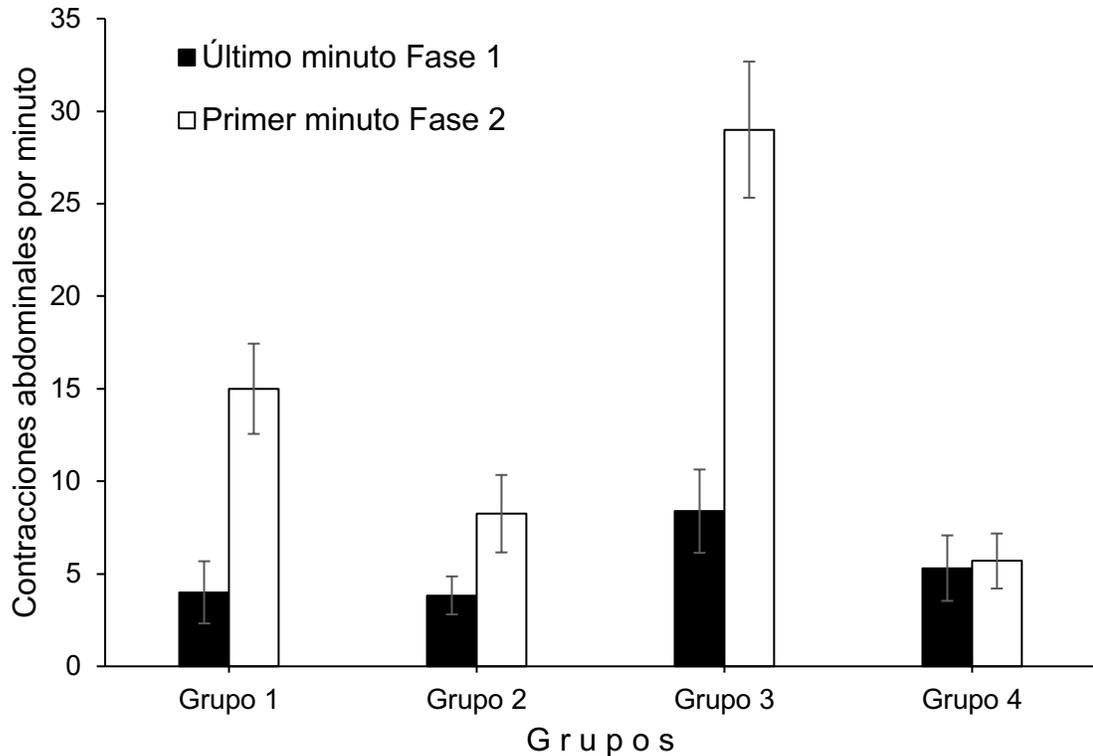


Figura 5. Promedio de contracciones abdominales para todos los grupos durante el último minuto de la Fase 1 (barras negras) y el primer minuto de la Fase 2 (barras blancas). Las líneas verticales representan el error estándar de la media.

Conclusión

El presente estudio tuvo como objetivo contribuir a la literatura sobre habituación en insectos a través de replicar y extender los hallazgos reportados por Somberg et al. (1973). Así, se mostró la habituación de las contracciones abdominales producidas por la exposición a una estimulación lumínica y a una estimulación vibratoria en la pupa del *Tenebrio molitor*. Los presentes datos son consistentes con la perspectiva que sugiere que la *universalidad de la habituación* (que sea un efecto presentado por todos los

animales) implica que la habituación juega un rol importante en la supervivencia de las especies (e.g., Álvarez, Loy y Prados, 2017).

Los presentes resultados se unen a otros datos que evalúan el efecto de habituación en otros insectos en el orden de los coleópteros (DuPorte, 1916). Adicionalmente, el experimento reportado en la presente tesis es consistente con otros experimentos que muestran que las contracciones abdominales pueden ser empleadas como una respuesta confiable para estudiar el efecto de habituación en la fase pupal de los tenebrios (e. g., Askew y Kurtz, 1974; Hollis, 1963).

Como se mencionó anteriormente, el presente trabajo replica los resultados de Somberg et al. (1973), no obstante, es importante resaltar que, dado que dichos autores no describen ni el aparato ni la intensidad de los estímulos lumínicos empleados, los detalles metodológicos reportados aquí, tales como las características del aparato experimental y de los estímulos empleados, pueden favorecer el estudio sistemático de la habituación en la pupa del tenebrio.

Dada la relevancia de las características conductuales de la habituación descritas al inicio del escrito, a continuación, se mencionan cuáles son las características que se obtienen con los grupos de nuestro experimento, así como con los grupos empleados por Somberg et al. (1973). Tanto el Grupo 1 de la presente tesis como su equivalente en el estudio de Somberg et al., cumplen con la *Característica 1*, es decir, se observó un decremento progresivo en las contracciones abdominales de la pupa como consecuencia de una exposición repetida al estímulo luminoso. Adicionalmente, los sujetos de nuestro Grupo 3, también mostraron esta característica

en la fase 2 cuando recibieron exposición repetida a la estimulación vibratoria. La *Característica 2* de la habituación también se obtuvo con nuestro Grupo 1 y el equivalente en el experimento de Somberg et al., ya que se reportó la recuperación espontánea de las contracciones abdominales.

Los datos de la fase 2 en los Grupos 2 y 3 de nuestro experimento son consistentes con la *Característica 5*, ya que se pueden interpretar que la estimulación lumínica de la luz parpadeante es menos intensa que la estimulación vibratoria, con lo cual, el decremento en las contracciones abdominales producido por la luz parpadeante es más rápida que el decremento observado en las contracciones abdominales producido por la vibración. Los resultados de nuestro Grupo 4, pueden ser utilizados para ejemplificar la *Característica 6*, porque si bien se puede considerar que el nivel de contracciones abdominales llegó a una asíntota (entre el último ensayo de la fase 1 y los diez primeros ensayos de la fase 2 las contracciones abdominales se mantuvieron en valores cercanos a 5), se observó todavía un mayor decremento en los últimos ensayos de la fase 2 (las contracciones abdominales estuvieron por debajo del valor 2 en los ensayos 11 y 12).

La *Característica 7*, puede observar en nuestro Grupo 2 y el equivalente en el experimento de Somberg et al. (1973), ya que al presentar un estímulo diferente pero dentro de la misma modalidad (de luz constante se pasó a luz parpadeante) en la fase 2, las contracciones abdominales incrementaron. Finalmente, los resultados obtenidos en la fase 2 de nuestro Grupo 3 son consistentes con el llamado efecto de deshabitación (*Característica 8*), pues al exponer a las pupas a un estímulo diferente (vibraciones) se reportaron incrementos en las contracciones abdominales. Por tanto,

este estudio preliminar sobre la habituación en las pupas del tenebrio permitió reportar 6 de las 10 características conductuales del efecto de habituación. Investigaciones futuras podrían emplear el método desarrollado aquí para continuar evaluando el resto de las características conductuales (*Características 3, 4, 9 y 10*) de la habituación de contracciones abdominales en el tenebrio en etapa pupal.

Nuestros datos también contribuyen al estudio sistemático de la habituación en insectos al incorporar controles que permiten descartar que factores diferentes a la habituación son los responsables del decremento en la respuesta (Rankin et al., 2009). Por ejemplo, el decremento en las contracciones abdominales de las pupas difícilmente puede explicarse como adaptación sensorial debido a que las pupas en el Grupo 3 mostraron un incremento en el número de contracciones abdominales en la fase 2 al ser expuestas a estimulación vibratoria. De forma similar, la posibilidad de explicar el decremento en las contracciones abdominales debido a fatiga sensorial y/o fatiga motora queda descartada al observar que las pupas muestran la respuesta de contracciones abdominales ante otros estímulos, uno dentro de la misma modalidad sensorial (Grupo 2) y el otro en una modalidad sensorial diferente (Grupo 3).

Nuestros hallazgos son consistentes con la perspectiva que subraya la relevancia biológica del aprendizaje (i. e., Álvarez et al., 2017), porque muestran la capacidad de aprendizaje ante tres estímulos diferentes (luz continua, luz parpadeante y vibraciones) en el estado de desarrollo pupal que frecuentemente se considera como un punto de transición inactivo (e. g., Hawes, 2019). El presente experimento puede favorecer que posteriores estudios utilicen el procedimiento aquí descrito para evaluar los mecanismos cognitivos (a través de la contrastación entre teorías) y/o

neurobiológicos que subyacen a la habituación en coleópteros. Adicionalmente, dado que la metodología empleada en el presente trabajo muestra que las pupas del tenebrio pueden emitir niveles de respuestas relativamente estables ante tres diferentes estímulos (luz continua, luz parpadeante y vibraciones), futuras investigaciones pueden continuar desarrollando un método que permita que se desarrolle una tarea de condicionamiento pavloviano, lo cual favorecería el inicio de una línea de investigación con estos insectos.

Referencias

- Álvarez, B., Loy, I. & Prados, J. (2017). Evolución y distribución del aprendizaje en el árbol filogenético. En J. Nieto y R. Bernal-Gamboa (Eds.). *Estudios Contemporáneos en Cognición Comparada*, pp. 251-315. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ardiel, E. L., & Rankin, C. H. (2010). An elegant mind: Learning and memory in *Caenorhabditis elegans*. *Learning & Memory*, 17, 191–201.
- Askew, H. R., & Kurtz, P. J. (1974). Studies on the function of the abdominal rotation response in pupae of *Tenebrio molitor*. *Behaviour*, 50(1), 152–172.
- Baglan, H., Lazzari, C., & Guerrieri, F. (2017). Learning in mosquito larvae (*Aedes aegypti*): Habituation to a visual danger signal. *Journal of insect physiology*, 98, 160–166.
- Barrass, R. (1961). A quantitative study of the behaviour of the male *Mormoniella vitripennis* (Walker) (Hymenoptera, Pteromalidae) towards two constant stimulus-situations. *Behaviour*, 18, 288–312.
- Boisseau, R. P., Vogel, D., & Dussutour, A. (2016). Habituation in non-neural organisms: evidence from slime moulds. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1829), 20160446.
- Bouton, M. E. (2016). *Learning and behavior: A contemporary synthesis* (2nd ed). Sunderland, MA: Sinauer Associates.

- Braun, G., & Bicker, G. E. R. D. (1992). Habituation of an appetitive reflex in the honeybee. *Journal of Neurophysiology*, 67(3), 588-598.
- Byrne, J. H., Antzoulatos, E. G., & Fioravante, D. (2009). Learning and memory in invertebrates: Aplysia. In L. R. Squire (Ed.), *Encyclopedia of neuroscience* (Vol. 5, pp. 405–412). New York, NY: Academic Press.
- Corfas, G., & Dudai, Y. (1989). Habituation and dishabituation of a cleaning reflex in normal and mutant *Drosophila*. *Journal of Neuroscience*, 9, 56–62.
- Duerr, J. S., & Quinn, W. G. (1982). Three *Drosophila* mutations that block associative learning also affect habituation and sensitization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 79(11), 3646-3650.
- Domjan, M. (2016). *Principios de aprendizaje y conducta* (7ª edición). Cengage Learning. México
- Duporte, E. M. (1916). Death feigning reactions in *Tychius Picirostris*. *Journal of Animal Behavior*, 6(2), 138-149.
- Epstein, L. H., Temple, J. L., Roemmich, J. N., & Bouton, M. E. (2009). Habituation as a determinant of human food intake. *Psychological review*, 116(2), 384–407.
- Frost, W. N., & Megalou, E. V. (2009). *Learning and Memory in Invertebrate Models: Tritonia*.

- Geer, J. H. (1966). Effect of interstimulus intervals and rest-period length upon habituation of the orienting response. *Journal of Experimental Psychology*, 72(4), 617.
- Groves, P. M., & Thompson, R. F. (1970). Habituation: A dual-process theory. *Psychological Review*, 77, 419–450.
- Hall, G., & Rodriguez, G. (2017). Habituation and conditioning: Salience change in associative learning. *Journal of Experimental Psychology: Animal Learning and Cognition*, 43, 48-61.
- Harris, J. D. (1943). Habitatory response decrement in the intact organism. *Psychological bulletin*, 40(6), 385-422.
- Hawes, T. C. (2019). 'Awareness' in metamorphosing pupae (Lepidoptera: Pieridae). *Fragmenta entomologica*, 51(2), 153-159.
- Hollis, J. H. (1963). Habitatory response decrement in pupae of *Tenebrio molitor*. *Animal Behavior*, 11(1), 161-163.
- Hollis, J. H., & Chester, A. C. (1961). An invertebrate stimulator. *Psychological Reports*, 8(1), 148.
- Ichikawa, T., & Kurauchi, T. (2009). Larval cannibalism and pupal defense against cannibalism in two species of tenebrionid beetles. *Zoological science*, 26(8), 525-529.

- Langen, T.A., Tripet, F., & Nonacs, P. (2000). The red and the black: habituation and the dear-enemy phenomenon in two desert Pheidole ants. *Behav Ecol Sociobiol*, 48, 285–292.
- McDiarmid, T. A., Yu, A. J., & Rankin, C. H. (2019). Habituation is more than learning to ignore: Multiple mechanisms serve to facilitate shifts in behavioral strategy. *BioEssays*, 41(9), e1900077.
- Perry, C. J., Barron, A. B., & Cheng, K. (2013). Invertebrate learning and cognition: Relating phenomena to neural substrate. *WIREs: Cognitive Science*, 4, 561–582.
- Prados, J., Fisher, C. T. L., Moreno-Fernández, M. M., Tazumi, T., & Urcelay, G. P. (2020). Short- and long-term habituation of photonegative and exploratory responses in the flatworm planaria (*Dugesia*). *Journal of Experimental Psychology: Animal Learning and Cognition*, 46(3), 354–365.
- Rankin, C. H., Abrams, T., Barry, R. J., Bhatnagar, S., Clayton, D. F., Colombo, J., Coppola, C., Geyer, M. A., Glanzman, D. L., Marsland, S., McSweeney, F. K., Wilson, D. A., Chun-Fang Wu., Thompson, R. F. (2009). Habituation revisited: an updated and revised description of the behavioral characteristics of habituation. *Neurobiology of learning and memory*, 92(2), 135-138.
- Reyes-Jiménez, D., Iglesias-Parro, S., & Paredes-Olay, C. (2020). Contextual specificity of habituation in earthworms. *Journal of Experimental Psychology: Animal Learning and Cognition*, 46(3), 341–353.

- Simonds, V., & Plowright, C.M.S. (2004) How do bumblebees first find flowers?
Unlearned approach responses and habituation. *Animal Behavior*, 67, 379–386.
- Somberg, J. C., Happ, G. M., & Schneider, A. M. (1973). Habituation of mealworm pupae, *Tenebrio molitor*. *Annals of the Entomological Society of America*, 66(3), 704-706.
- Thompson, R. F. (2009). Habituation: A history. *Neurobiology of Learning and Memory*, 92, 127–134.
- Thompson, R. F., & Spencer, W. A. (1966). Habituation: A model phenomenon for the study of neuronal substrates of behavior. *Psychological Review*, 73, 16–43.
- Vácha, M. (2007). *Tenebrio* beetle pupae show a conditioned behavioural response to pulse rotations of a geomagnetic field. *Physiological Entomology*, 32(4), 336-342.
- Vogel, E. H., Ponce, F. P., & Wagner, A. R. (2019). The development and present status of the SOP model of associative learning. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 72, 346–374.
- Wagner, A. R. (1981). SOP: A model of automatic memory processing in animal behavior. *Information Processing in Animals: Memory Mechanisms*, 1981, 5–47.
- Wiel, D. E., & Weeks, J. C. (1996). Habituation and dishabituation of the proleg withdrawal reflex in larvae of the sphinx hawk, *Manduca sexta*. *Behavioral Neuroscience*, 110(5), 1133–1147