



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE MEDICINA
ECOLOGÍA

**EVALUACIÓN DE LA MEMORIA ESPACIAL ALOCÉNTRICA EN
EL CANGREJO ERMITAÑO TERRESTRE *COENOBITA
COMPRESSUS***

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

M. EN C. VARGAS VARGAS ILSE LORENA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

DR. GABRIEL ROLDÁN ROLDÁN
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DR. JORGE CONTRERAS GARDUÑO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, MORELIA, UNAM
DR. ALEJANDRO EMMANUEL GONZÁLEZ VOYER
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. FEBRERO, 2025





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.

**PROTESTA UNIVERSITARIA DE INTEGRIDAD Y
HONESTIDAD ACADÉMICA Y PROFESIONAL**
(Graduación con trabajo escrito)

De conformidad con lo dispuesto en los artículos 87, fracción V, del Estatuto General, 68, primer párrafo, del Reglamento General de Estudios Universitarios y 26, fracción I, y 35 del Reglamento General de Exámenes, me comprometo en todo tiempo a honrar a la institución y a cumplir con los principios establecidos en el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente con los de integridad y honestidad académica.

De acuerdo a lo anterior, manifiesto que el trabajo escrito titulado:

EVALUACIÓN DE LA MEMORIA ESPACIAL ALOCÉNTRICA EN EL CANGREJO ERMITAÑO TERRESTRE
Coenobita compressus

Que presenté para obtener el grado de DOCTOR(A) EN CIENCIAS, es original, de mí autoría y lo realicé con rigor metodológico exigido por el Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas, citando las fuentes de ideas, textos, imágenes, gráficos u otro tipo de obras empleadas para su desarrollo.

En consecuencia, acepto que la falta de cumplimiento de las disposiciones reglamentarias y normativas de la Universidad, en particular las ya referenciadas en el Código de Ética, llevará a la nulidad de los actos de carácter académico administrativo del proceso de obtención de mi grado académico.

Atentamente



VARGAS VARGAS ILSE LORENA
No. de cuenta UNAM: 306675593

(Nombre, firma y número de cuenta del estudiante)





UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE MEDICINA
ECOLOGÍA

**EVALUACIÓN DE LA MEMORIA ESPACIAL ALOCÉNTRICA EN
EL CANGREJO ERMITAÑO TERRESTRE *COENOBITA
COMPRESSUS***

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:

M. EN C. VARGAS VARGAS ILSE LORENA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:
DR. GABRIEL ROLDÁN ROLDÁN
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DR. JORGE CONTRERAS GARDUÑO
ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES, MORELIA, UNAM
DR. ALEJANDRO EMMANUEL GONZÁLEZ VOYER
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. FEBRERO, 2025





COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ENTIDAD (FACULTAD DE MEDICINA)
OFICIO: CGEP/CPCB/FMED/0835/2024
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **29 de enero de 2024** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la estudiante **VARGAS VARGAS ILSE LORENA** con número de cuenta **306675593** con la tesis titulada **“EVALUACIÓN DE LA MEMORIA ESPACIAL ALOCÉNTRICA EN EL CANGREJO ERMITAÑO TERRESTRE *Coenobita compressus*”**, realizada bajo la dirección del **DR. GABRIEL ROLDÁN ROLDÁN**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. MARÍA DE LA LUZ NAVARRO ANGULO
Vocal: DRA. PILAR DURÁN HERNÁNDEZ
Vocal: DRA. SYLVIA LETICIA VERDUGO DÍAZ
Vocal: DRA. ELIZABETH IBARRA CORONADO
Secretario: DR. ALEJANDRO EMMANUEL GONZÁLEZ VOYER

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 12 de noviembre de 2024

COORDINADOR DEL PROGRAMA

DR. ARTURO CARLOS II BECERRA BRACHO



c. c. p. Expediente del alumno

ACBB/RCHT/EARR/rcht

Agradecimientos

Deseo expresar mi profundo agradecimiento al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por brindarme la invaluable oportunidad de llevar a cabo mis estudios de Doctorado y por permitirme concluir este trabajo en este prestigioso ambiente académico.

También quiero extender mi sincero agradecimiento al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (conahcyt) por la generosa beca otorgada durante el período comprendido entre agosto de 2017 y julio de 2021. Esta beca fue fundamental para mi desarrollo académico y la realización de esta tesis.

Este trabajo de investigación representa el resultado de un esfuerzo constante en colaboración con mi asesor, el Dr. Gabriel Roldán Roldán. Le estoy profundamente agradecida por brindarme la oportunidad de unirme a su grupo de investigación, por su apoyo inquebrantable, su infinita paciencia, su inspiración constante y su capacidad para motivarme a continuar con mis estudios. Sus conocimientos, orientación precisa y sabios consejos han sido invaluable en este proceso.

Quiero expresar mi más sincero reconocimiento a los distinguidos miembros del Comité tutorial, el Dr. Jorge Contreras Garduño y el Dr. Alejandro González Voyer, por sus valiosos comentarios, su apoyo incondicional, sus asesorías y su disposición para enriquecer este trabajo. Su experiencia y dedicación han contribuido significativamente a la calidad de esta investigación.



Agradecimientos personales

Deseo expresar mi gratitud a la Universidad Nacional Autónoma de México y a las Facultades de Ciencias y Medicina por brindarme una formación académica excepcional.

Quiero dedicar un profundo agradecimiento al Dr. Marcos Rosetti, al Dr. Carlos Cordero y al Dr. Daniel González por su apoyo constante, paciencia, y valiosos consejos. Su disposición para ayudarme ha sido extraordinaria.

Asimismo, deseo extender mi gratitud al comité de candidatura por su respaldo y comprensión, los cuales han contribuido significativamente a enriquecer el contenido de este trabajo.

A mi querida familia y amigos, les agradezco de todo corazón por su constante motivación y por creer en el impacto de la investigación en la sociedad. Su apoyo incondicional ha sido mi principal fuente de inspiración.

Finalmente, deseo agradecer de todo corazón a los integrantes del jurado, cuyos nombres son María de la Luz Navarro Angulo, Pilar Durán Hernandez, Sylvia Leticia Verdugo Díaz, Elizabeth Ibarra Coronado, Alejandro González Voyer. Aprecio mucho su amabilidad al revisar y comentar esta tesis. Sus aportaciones han sido fundamentales para mejorar la calidad y el rigor de este trabajo académico.

Finalmente, quiero reconocer y agradecer a todas las personas que de alguna manera han formado parte de este proceso, permitiendo que este trabajo llegara a su culminación. Su contribución ha sido inestimable.



Índice

Resumen	1
Abstract	2
Introducción General	3
Conceptos de aprendizaje y memoria	4
Generalidades de aprendizaje en crustáceos	11
Conducta espacial y aprendizaje en crustáceos	24
Modelo de Estudio	35
Pregunta de investigación y Objetivos	42
Pregunta de Investigación	42
Racionalización del Método	43
Objetivo General	43
Objetivos Particulares	44
Hipótesis	46
Métodología	47
Obtención de ejemplares biológicos	47
Consideraciones éticas	47
Diseño Experimental: Prueba de Preferencia de Alimento	50
Diseño Experimental: Prueba de Localización de Alimento	52
Diseño Experimental: Análisis Estadístico	57
Resultados	59
Resultados: Prueba de Preferencia de Alimento	59
Resultados: Prueba de Localización de Alimento	60
Discusión General y Perspectivas a Futuro	65
Conclusiones	82
Referencias Bibliográficas	83
Anexo (Artículo requisito para la obtención de grado)	104



Resumen en español

El aprendizaje espacial es un rasgo de gran complejidad y relevancia ecológica que ha sido escasamente investigado en crustáceos. El objetivo central de esta tesis consistió en evaluar la capacidad de aprendizaje espacial aloentrnico a largo plazo en el cangrejo ermitaño semiterrestre del Pacífico, conocido como *Coenobita compressus*. Para llevar a cabo esta evaluación, se diseñó una prueba que involucró la memoria espacial y la utilización de un alimento novedoso como recompensa. Diferenciándose de otras pruebas aloentrnicas espaciales, nuestro enfoque se mantuvo en la distribución de seÑales visuales dentro de la arena experimental, replicando así las condiciones de vida en su hábitat natural.

En un primer paso, realizamos un análisis destinado a estandarizar la prueba y a determinar el alimento preferido por *C. compressus*. En una segunda etapa, los cangrejos ermitaño fueron sometidos a un entrenamiento consistente en 11 ensayos, con el propósito de que aprendieran la ubicación precisa la recompensa alimenticia. Posteriormente, se evaluó su capacidad de retención tanto en el corto como en el largo plazo.

Los resultados del primer estudio revelaron que los cangrejos ermitaño terrestres mostraron una preferencia por alimentos ricos en proteínas, lípidos y carbohidratos, con aromas intensos, siendo la crema de cacahuete uno de los favoritos. En cuanto a los resultados del segundo estudio, sugirieron que estos cangrejos desarrollan una memoria visuo-espacial fortalecida por seÑales olfativas. Esto se tradujo en una reducción del tiempo requerido para resolver una prueba de orientación a medida que avanzaban los ensayos. Además, demostraron la capacidad de formar una memoria visuo-espacial sobre la ubicación del alimento, manteniéndola incluso hasta 7 días después del entrenamiento y después de tres ensayos sin la recompensa. Esto se manifestó en un mayor tiempo de permanencia en la ubicación exacta del alimento, en comparación con el punto de inicio o cualquier otra parte del entorno experimental. Asimismo, los cangrejos exhibieron una disminución en el tiempo necesario para encontrar el alimento cuando éste estaba presente, lo que sugiere que su resolución de la prueba fue dirigida por estímulos visuo-espaciales y/o olfativos.

Este estudio representa la primera descripción del aprendizaje espacial aloentrnico en un cangrejo ermitaño semiterrestre, evaluando además la memoria a largo plazo. El conocimiento adquirido sobre este rasgo adaptativo en este grupo de crustáceos puede enriquecer nuestra comprensión de la explotación de recursos por parte de los crustáceos terrestres y su función ecológica.

Palabras clave: cangrejos ermitaño, *Coenobita compressus*, aprendizaje aloentrnico, memoria espacial, condicionamiento operante, invertebrados, crustáceos.



Abstract

Spatial learning is a complex trait of great ecological significance that has been scarcely studied in crustaceans. The central objective of this thesis was to assess the long-term allocentric spatial learning capability in the terrestrial Pacific hermit crab, *Coenobita compressus*. To carry out this evaluation, a test involving spatial memory and the use of a novel food item as a reward was designed. Distinguishing itself from other allocentric spatial tests, our approach maintained the distribution of visual cues within the experimental environment, thus replicating the conditions of their natural habitat.

In the first step, we conducted an analysis aimed at standardizing the test and determining the preferred food for *C. compressus*. In the second phase, hermit crabs underwent an 11-trial training program to learn the precise location of the food reward. Subsequently, their retention capacity was assessed both in the short and long term.

The results of the first study revealed that terrestrial hermit crabs exhibited a preference for food items rich in proteins, lipids, and carbohydrates, with intense aromas, peanut butter being a favorite. As for the results of the second study, they suggested that these crabs develop a visuo-spatial memory strengthened by olfactory cues. This was reflected in a reduction in the time required to solve the test as the trials progressed. Furthermore, they demonstrated the ability to form a visuo-spatial memory of the food's location, maintaining it even up to 7 days after training and after three unreinforced trials. This was evident in their prolonged presence in the learned food location compared to the starting point or any other part of the experimental environment. Additionally, the crabs exhibited a decrease in the time it took to find the food when it was present, indicating that their test resolution was guided by visuo-spatial and olfactory cues.

This study provides the first description of allocentric spatial learning in a terrestrial hermit crab, while also assessing long-term memory. The knowledge gained about this adaptive trait in this group of crustaceans can enhance our understanding of resource exploitation by terrestrial crustaceans and their ecological roles. Furthermore, it paves the way for future comparative studies in this research field.

Keywords: hermit crabs, *Coenobita compressus*, allocentric learning, spatial memory, operant conditioning, invertebrates, crustaceans



Introducción General

La neurobiología se enfrenta a uno de los desafíos más profundos: entender cómo los procesos que subyacen a la percepción, las emociones y el aprendizaje influyen en el comportamiento de los organismos (Staddon, 2016). El comportamiento es la manifestación de diferentes respuestas (principalmente motrices) observables que surgen de la interacción de los organismos con su entorno en un momento específico. De hecho, es considerado la característica fenotípica más adaptable, lo que significa que los organismos pueden ajustarlo a medida que cambian sus circunstancias (Hazlett, 1995; Briffa *et al.*, 2008). Esta adaptabilidad en el comportamiento es lo que permite a los organismos responder a cambios ambientales, ya sea debido a alteraciones en su hábitat o cambios en la distribución de recursos. Cuando una fuente de alimento u otros recursos se torna inaccesible, el proceso de aprendizaje, (Domjan, 2007), se convierte en una herramienta esencial para que los organismos encuentren nuevas fuentes de recursos basándose en sus experiencias previas. Esta flexibilidad es la que les permite a los animales enfrentar exitosamente las presiones de selección y mejorar su adaptación al entorno (Owens, 2006). En la base de la comprensión del comportamiento se encuentra una teoría clave: Una característica importante que deriva de la función principal del sistema nervioso y en particular del aprendizaje es actuar como un puente que conecta la percepción de un organismo con su respuesta conductual.



1.1 Conceptos de aprendizaje y memoria

La comprensión de los conceptos fundamentales de aprendizaje y memoria es esencial para desentrañar los mecanismos que subyacen a la capacidad de los organismos para adquirir, almacenar y utilizar información. Según los principios de la biología cognitiva, se postula que todos los seres vivos, independientemente de su complejidad, poseen la capacidad intrínseca de obtener información sobre sí mismos y su entorno a través de mecanismos de percepción (Beecher, 1989), y se espera que regulen su comportamiento en concordancia con esta información (Bechtel, 2013). La respuesta de los organismos ante los estímulos ambientales puede manifestarse a nivel morfológico, fisiológico (Shan et al., 2023) o conductual (Wong & Candolin, 2015, de Wilde, 1973). Estos estímulos pueden originarse tanto en interacciones bióticas, como la competencia intraespecífica o la depredación, como en factores abióticos, tales como las variaciones de luz, temperatura y disponibilidad de recursos, entre otros.

La respuesta conductual ante estímulos únicos, conceptualizada como el reflejo local según Sherrington (1952), encuentra su unidad básica en los sistemas motores. Sin embargo, las respuestas más complejas exhiben una notable plasticidad conductual, un fenómeno intrínsecamente ligado al aprendizaje. La plasticidad conductual se manifiesta en la capacidad de los organismos para ajustar sus respuestas en entornos espacial o temporalmente cambiantes (Wong & Candolin, 2015), siendo este proceso esencial para la adquisición de nuevas habilidades y la adaptación a distintas situaciones (Snell-Rood, 2013, Miner et al., 2005). Dentro de los estímulos relevantes que desencadenan esta plasticidad conductual, se destacan aquellos relacionados con la obtención de recursos, así como el reconocimiento de depredadores, conoespecíficos o familiares (Jakob et al., 2011; Mery & Burns, 2010; Miner et al., 2005). En el marco del aprendizaje, entendido como el proceso mediante el cual las experiencias modelan el sistema nervioso, incluyendo sus conexiones sinápticas, la capacidad de un organismo para ajustar su comportamiento en función de la información adquirida se vuelve evidente (Gottlieb, 1976).



El aprendizaje modela una variedad de comportamientos, desde la coordinación motriz para llevar a cabo acciones específicas hasta el desarrollo de habilidades especializadas, como la destreza en la identificación y manipulación de presas u otros recursos. Asimismo, el reconocimiento de situaciones, objetos u organismos, junto con el establecimiento de jerarquías, se revelan como manifestaciones concretas del aprendizaje en la conducta (Croll & Chase, 1980; Drummond, 2006).

Las propiedades fisicoquímicas de los estímulos se interiorizan a través de procesos electroquímicos que, mediante la percepción sensorial, desencadenan un flujo de corriente a lo largo de las redes neuronales. Estas redes, interconectadas mediante estructuras especializadas llamadas sinapsis, se comunican mediante neurotransmisores endógenos. Los cambios en el sistema nervioso surgen como consecuencia de excitaciones repetidas y persistentes entre neuronas, desencadenando tanto el crecimiento como alteraciones metabólicas en al menos una de las neuronas involucradas, optimizando así su capacidad de activación (Laming et al., 2000).

Este proceso dinámico no solo tiene implicaciones a nivel neuronal, sino que también se proyecta en la capacidad de almacenar experiencias y evocarlas a través de un proceso intrínsecamente ligado al aprendizaje, conocido como memoria (Shepherd, 1988). La base neurológica del aprendizaje radica en la formación de la memoria, siendo esencialmente la creación de "representaciones internas" que codifican el conocimiento adquirido. Las interconexiones neuronales estables resultantes de este aprendizaje son denominadas "engramas" de memoria (Monserat, 2001).

A través de la internalización de la información, los organismos adquieren la capacidad de anticipar el resultado de una conducta específica y de comprender el significado o la consecuencia de una configuración particular de estímulos (Mackintosh, 1975). Es esencial destacar que el aprendizaje abarca tanto procesos ejecutores como inhibidores, ya que la capacidad de aprender a abstenerse de ciertas respuestas es igualmente crucial que aprender a llevar a cabo determinadas acciones (Domjan, 2007). En conjunto, estos procesos neurocognitivos subyacentes revelan la complejidad y la riqueza de la interacción entre el ambiente, la percepción, el aprendizaje y la memoria en el funcionamiento cerebral (Figura 1).



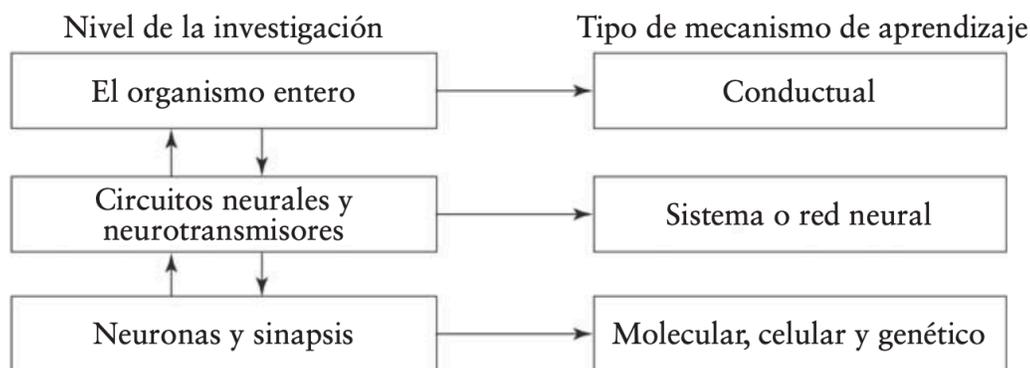


Figura1. Niveles de análisis del aprendizaje. Los mecanismos del aprendizaje pueden investigarse a nivel del organismo, a nivel de los circuitos neuronales y los sistemas transmisores, y al nivel de las células nerviosas o neuronas. Tomado de Domjan (2007).

A nivel neural, la memoria se configura principalmente mediante modificaciones en las conexiones sinápticas entre los circuitos vinculados a la percepción y la codificación de las experiencias (Feld *et al.*, 2003). Este proceso dinámico implica una constante reorganización de la información almacenada, adaptándose a nuevas adquisiciones y, al mismo tiempo, enfrentándose al inevitable decaimiento temporal (Aguado-Aguilar, 2001). Este declive conduce a la disminución o pérdida de respuestas previamente efectivas (Domjan, 2007). La extinción, identificada como el mecanismo subyacente al olvido o a la formación de nuevos "engramas" de memoria, representa una característica universal en el aprendizaje asociativo (Fustiñana *et al.*, 2013).

En consonancia con la perspectiva de Hazlett (1995), las limitaciones de la memoria están intrínsecamente ligadas al periodo temporal durante el cual puede evocarse información sin necesidad de refuerzo, así como al número limitado de acciones consecutivas que se pueden recordar. Por otro lado, limitaciones próximas, como las referentes a capacidades sensoriales (obtención de información), límites de las estructuras cognitivas (procesamiento de información) y limitaciones en sus capacidades fisiológicas y morfológicas generales, afectan los umbrales de aprendizaje y memoria tanto a nivel individual como poblacional (Briffa *et al.*, 2008; Dall *et al.*,



2004). En este sentido, Briffa *et al.* (2008) sugieren que los costos asociados con la producción o el mantenimiento de los mecanismos sensoriales y de procesamiento de información podrían actuar como limitantes significativas de la plasticidad conductual.

En líneas generales, el proceso de aprendizaje se conceptualiza como una secuencia que abarca diversas fases, siguiendo una estructura más o menos lineal. Estas etapas, ampliamente reconocidas, son cruciales para comprender el complejo fenómeno del aprendizaje (Figura 2).

1. La primera fase, conocida como adquisición, implica la percepción, codificación y asociación de estímulos relevantes en un entorno específico. Durante esta etapa, el sujeto logra discernir y aprehender los estímulos, así como comprender el contexto en el que se desarrollan, siendo la relación temporal entre eventos un factor crítico para el éxito del condicionamiento, según los postulados de Pavlov (1927).

2. La segunda fase, consolidación, emerge como un proceso trascendental donde la información inicialmente almacenada en la memoria de corto plazo (MCP) se estabiliza y transfiere a la memoria de largo plazo (MLP). Esta transición es esencial para la duración y subsistencia de la memoria en el tiempo, siendo un fenómeno que trasciende las barreras taxonómicas, evidente tanto en vertebrados (Cahill & McGaugh, 1996) como en invertebrados (Vu & Krasne, 1993). La consolidación, intrínsecamente vinculada a la síntesis proteica y a la remodelación sináptica (Fustiñana *et al.*, 2013), depende de un proceso llamado potenciación a largo plazo, fundamental para la plasticidad neuronal y el almacenamiento duradero de la información. La persistencia de la memoria, a su vez, se halla directamente correlacionada con el grado de consolidación, siendo proporcional a la relevancia de los estímulos para la supervivencia del organismo, lo que puede traducirse en memorias de larga duración, incluso a lo largo de toda la vida.

3. Finalmente, la tercera fase, la evocación, representa el acceso consciente o reflejo a la información almacenada en la memoria (Sara & Hans, 2006). Este



proceso, que puede desencadenarse en cualquier momento posterior a la adquisición, se inicia a menudo a partir de estímulos presentes durante el aprendizaje. La evocación no solo induce el recuerdo, sino que también puede desencadenar la expresión o inhibición de una conducta.

Trestman (2013) propone que, a lo largo de la historia evolutiva, los artrópodos, cordados y cefalópodos destacan como los únicos phyla que han desarrollado "cuerpos

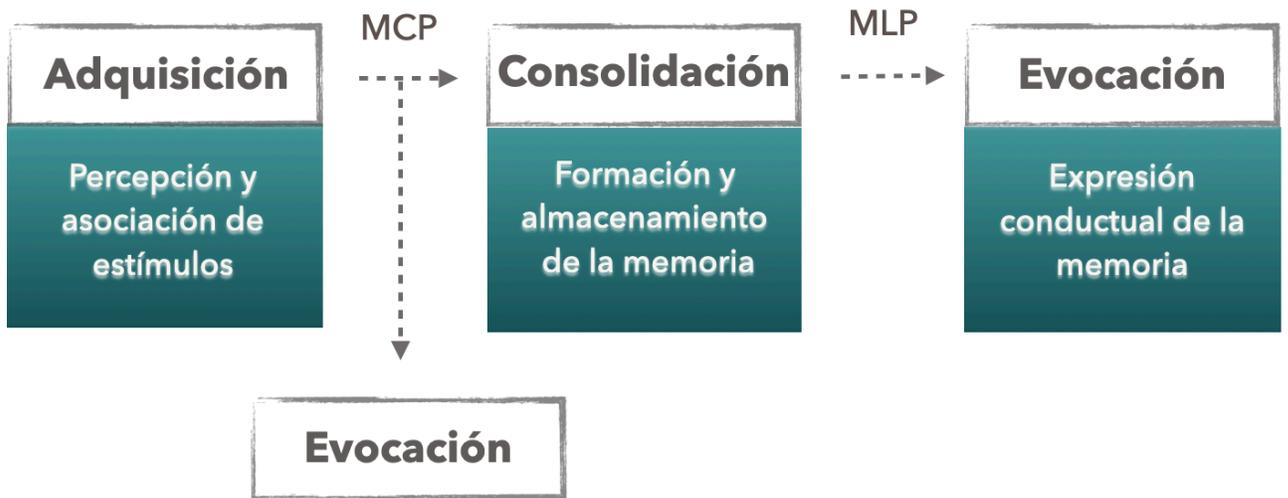


Figura 2. Etapas fisiológicas del aprendizaje. MCP = Memoria de corto plazo. MLP = Memoria de largo plazo.

activos y complejos". Estos cuerpos, caracterizados por apéndices móviles en diversas direcciones y órganos sensoriales como los ojos para rastrear objetos distantes, han sido moldeados por la selección natural a lo largo de su evolución para enfrentar desafíos ecológicos (Bueno-Guerra & Amici, 2018; Shettleworth, 2010). Las capacidades perceptuales y motrices desempeñan un papel crucial en la adquisición de información y la evocación de la memoria, dando lugar a formas especializadas de cognición (Shettleworth, 2010). Además, la percepción está intrínsecamente ligada a los órganos especializados en la recepción de señales ambientales, generando una variabilidad significativa en las habilidades de aprendizaje entre diferentes taxa (Godfrey-Smith,



2016).

Aunque la habilidad de percibir y responder a estímulos está presente incluso en organismos unicelulares, en los animales, este proceso se ha vuelto más complejo con mecanismos perceptuales y respuestas conductuales que dependen de una maquinaria más elaborada. Esta maquinaria, a su vez, tiene la capacidad de vincular la información percibida con respuestas conductuales más sofisticadas (Godfrey-Smith, 2016). Se ha sugerido que el fortalecimiento del vínculo entre los mecanismos de percepción y el control motor ha dado origen a la complejidad observada en el sistema nervioso de los animales.

Los distintos tipos de memoria pueden clasificarse de dos maneras fundamentales, proporcionando un marco integral para comprender la complejidad de los procesos mnésicos:

- 1) Por el tipo de información almacenada (implícita y explícita).
- 2) Por la duración del almacenamiento (memoria de corto plazo (MCP), memoria de largo plazo (MLP)).

La memoria de trabajo es un tipo de memoria de corto plazo que se encuentra activa durante el proceso de aprendizaje, es decir, que se está utilizando para poder aprender y desempeña un papel crucial en la representación y manipulación de información, permitiendo la ejecución eficiente de procesos de aprendizaje. En este contexto, la memoria implícita se origina a partir de aprendizajes elementales, como la habituación, la sensibilización, los aprendizajes perceptuales y motores, así como el



condicionamiento clásico e instrumental (Squire & Dede, 2015). Este tipo de memoria se centra en patrones motores y respuestas automáticas, desarrollándose gradualmente a través de ejecuciones repetidas. Por otro lado, la memoria explícita se enfoca en el almacenamiento de hechos y eventos significativos (Squire & Wixted, 2011). Es importante destacar que la memoria espacial, un subtipo de la memoria explícita, se especializa en el procesamiento de información relacionada con rutas, configuraciones y ubicaciones en uno o varios planos (Chersi & Burgess, 2015).

En consonancia con la clasificación centrada en la duración de la memoria, la memoria de corto plazo facilita el acceso a la información adquirida en lapsos que oscilan desde segundos hasta horas. La relevancia de la información, por su parte, determina la consolidación de la memoria de corto plazo mediante la síntesis de proteínas y cambios estructurales a nivel sináptico, dando lugar a la formación de la memoria de largo plazo, la cual puede evocarse desde horas hasta años después de la percepción inicial (Kandel & Pittenger, 1999).

En diversas especies, los procesos fisiológicos no abarcan la totalidad de las funciones adaptativas necesarias, y aquellos procesos que ya son eficientes a menudo son perfeccionados mediante el aprendizaje, como es evidente en el caso del cortejo (Domjan, 2005). Este fenómeno se erige como un proceso biológico clave que facilita la adaptación al entorno (Domjan, 2007). El valor adaptativo del aprendizaje puede manifestarse a nivel individual, intraespecífica o interespecífica, según señalan estudios relevantes (Zwoinska *et al.*, 2016). Sin embargo, a pesar de las diversas ventajas adaptativas que ofrecen el aprendizaje y la memoria, las respuestas aprendidas presentan desventajas frente a las respuestas instintivas, tales como el tiempo



necesario para la formación de cada memoria y el número de repeticiones requeridas para alcanzar un patrón conductual óptimo en la resolución de una tarea.

En estudios comparativos sobre el tamaño del cerebro y las capacidades conductuales en animales, se han encontrado discrepancias que desafían las expectativas filogenéticas, especialmente al contrastar invertebrados con vertebrados (Chittka & Niven, 2009). Las diferencias en el comportamiento de los insectos en comparación con los vertebrados son menores a lo esperado si solo se considera la masa cerebral como medida (Changizi, 2013). A pesar de tener estructuras cerebrales pequeñas y simples en comparación con los vertebrados, invertebrados, como los insectos, exhiben capacidades cognitivas y toma de decisiones que les permiten un variado repertorio conductual para resolver situaciones novedosas y mantener estructuras sociales. (Roth, 2015). Chittka & Niven (2009) sugieren que los circuitos neuronales pueden ser la clave para explicar estas capacidades conductuales.

1.2 Generalidades del aprendizaje en crustáceos

La investigación de los umbrales de aprendizaje en diversas especies, ya sea dentro de una misma categoría taxonómica o en diferentes taxas, proporciona una comprensión más profunda de la ecología y la evolución de dichos organismos. Este enfoque no solo contribuye al conocimiento fundamental de la biología, sino que también tiene aplicaciones potenciales en la resolución de problemas clínicos humanos, especialmente para comprender el funcionamiento del sistema nervioso (Domjan, 2007).

Para alcanzar estos objetivos, la neurobiología utiliza diversas aproximaciones,



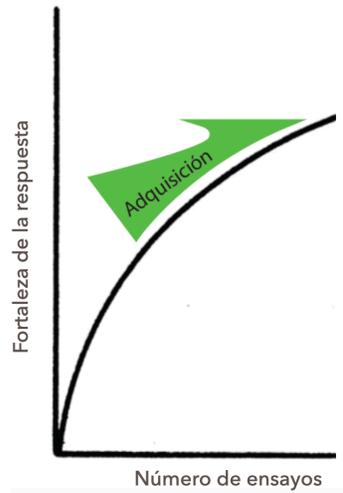


Figura 3. Curva de aprendizaje. Eje X = Número de ensayos. Eje Y = Fortaleza de la respuesta. A mayor número de ensayos asociados a un refuerzo, la fortaleza de la respuesta es mayor.

como las moleculares, bioquímicas, electrofisiológicas, anatómicas, teóricas y conductuales. Dentro de este contexto, las investigaciones conductuales se destacan al emplear modelos que simulan situaciones y desafíos encontrados por las especies en su entorno natural. Estos modelos proporcionan variables medibles para evaluar el aprendizaje, como el tiempo de respuesta y el número de aciertos, los cuales son fundamentales para la construcción de curvas de aprendizaje y otras representaciones gráficas útiles en la validación de otras aproximaciones (Roth, 2015) (Figura 3).

Un aspecto destacado de las pruebas conductuales radica en su capacidad para obtener información valiosa de manera menos invasiva, minimizando el estrés en comparación con otras estrategias. Este enfoque nos permite explorar la plasticidad del sistema nervioso, la duración de las respuestas aprendidas y las circunstancias que facilitan u obstaculizan el acceso a la información aprendida (Domjan, 2007).



Es esencial abordar el estudio de los factores que influyen en el aprendizaje considerando las presiones ecológicas y la complejidad del entorno natural que condujo al desarrollo de comportamientos específicos como soluciones adaptativas (Tomsic *et al.*, 2017; Tano, 2013). Además, es necesario que las variables manipuladas en las investigaciones sean pertinentes para los modos de ajuste del modelo biológico en cuestión (Morrow & Smithson, 1969). Este enfoque garantiza una comprensión más precisa y aplicable de los procesos de aprendizaje en el contexto específico de la especie estudiada.

Aunque se ha investigado menos el aprendizaje en invertebrados en comparación con los vertebrados, hay áreas de investigación sólidas en grupos como los moluscos y artrópodos, que proporcionan información valiosa sobre la evolución del aprendizaje (Shettleworth, 2010). El interés en el estudio del aprendizaje en invertebrados ha experimentado un notable aumento reciente, proporcionando indicios sobre los límites de sus capacidades cognitivas. En su mayoría, los estudios de aprendizaje en invertebrados recurren a experiencias apetitivas o aversivas utilizando el alimento como estímulo condicionante (Klappenbach *et al.*, 2017).

En particular, los insectos, dentro del grupo de invertebrados artrópodos, han sido el foco principal de estudios sobre aprendizaje, con una tradición que abarca más de un siglo con un desarrollo mas o menos constante (Chittka & Niven, 2009). En cambio, en el caso de los crustáceos, otro subconjunto de artrópodos, la proliferación de estudios es un fenómeno más reciente, con un incremento sostenido en las últimas décadas. Trabajos como los de Gherardi *et al.* (1990), Vannini & Ruwa (1994), Cannicci *et al.* (1996) y Vannini (1976) han sugerido la presencia de habilidades de aprendizaje



complejo en este grupo. Hasta 1995, se destacaba la necesidad no solo de comprender los mecanismos fisiológicos asociados con la conducta, sino también de explorar el alcance mismo del comportamiento en los crustáceos (Vannini & Cannicci, 1995).

La investigación en el ámbito del aprendizaje en artrópodos ha sido predominantemente centrada en procesos de aprendizaje asociativo simple, como la memorización de patrones visuales, colores y lugares (Menzel, 1993). A pesar de que en los últimos 15 años ha habido un notable aumento en la indagación sobre la función cognitiva en insectos, especialmente en procesos atencionales (Swinderen & Greenspan, 2003), categorización de estímulos visuales (Menzel & Giurfa, 2001), aprendizaje contextual (Dale *et al.*, 2005), aprendizaje secuencial (Colett *et al.*, 1993), aprendizaje social (Alem *et al.*, 2016; Leadbeater & Chittka, 2007), predicciones de eventos basadas en la experiencia (Boisvert & Sherry, 2006), recuerdo asociativo (Reinhard *et al.*, 2004), y la percepción de la numerosidad (MaBouDi *et al.*, 2020; Dacke & Srinivasan, 2008), se observa una notable ausencia de desarrollo equivalente en el ámbito del aprendizaje espacial (Loukola *et al.*, 2017). Probablemente, uno de los hitos más destacados en la exploración de la complejidad conductual de insectos y artrópodos en general ha sido el descubrimiento de conductas sociales derivadas de la coordinación entre múltiples organismos, como se evidencia en abejas y termitas (Godfrey-Smith, 2016).

A pesar de que los estudios enfocados en el aprendizaje y la memoria en crustáceos decápodos son menos numerosos que los realizados en insectos, estos se perfilan como un modelo sumamente atractivo para examinar las habilidades relacionadas con el aprendizaje en invertebrados. La simplicidad de sus sistemas nerviosos, el tamaño relativamente grande de sus neuronas en comparación con otros



grupos, la facilidad de su mantenimiento en cautiverio, y la flexibilidad ética asociada con su uso en experimentación, han convertido a los crustáceos en una propuesta relevante como modelo para investigaciones en este ámbito (Elwood & Appel, 2009).

Desde la perspectiva de la neurobiología, los modelos que poseen una mayor simplicidad, son más fáciles de controlar y presentan menores costos de mantenimiento son particularmente atractivos. Es importante aclarar que la validez de un modelo radica en su capacidad para ser comparado con el objetivo de referencia en términos de las características o funciones estudiadas (Domjan, 2007). En este sentido, los crustáceos decápodos emergen como sujetos de estudio que cumplen con estos criterios, consolidándose como valiosos modelos experimentales para la investigación en neurobiología.

En la investigación sobre el aprendizaje y la memoria en crustáceos decápodos, se han desarrollado diversas líneas desde 1989, centrándose en cinco grupos que se nombran a continuación en un orden de acuerdo a la cantidad de trabajos dedicados a su estudio. Estos grupos son: cangrejos (Infraorden Brachyura), acociles (Infraorden Astacidea), cangrejos ermitaño (Infraorden Anomura), camarones (Infraorden Caridea) y langostas (Familia Palinura). Según la clasificación de Scholtz & Richter (1995), Anomura y Brachyura son considerados taxa hermanos, siendo los únicos grupos de crustáceos decápodos que han evolucionado hacia formas terrestres y semiterrestres, (Hartnoll, 1988). Esta evolución hacia ambientes terrestres sugiere la presencia de adaptaciones morfológicas, fisiológicas y conductuales específicas, las cuales se espera estén relacionadas con los desafíos inherentes a la vida en tierra firme (de Wilde, 1973).



Los estudios centrados en el aprendizaje en crustáceos han mostrado un marcado sesgo hacia los cangrejos braquiuros, destacando su papel como modelos de estudio (Tomsic *et al.*, 2003; Roudez *et al.*, 2008, Davies, 2009). Este enfoque podría atribuirse a los intereses económicos y ecológicos asociados con los braquiuros, que a menudo son considerados especies invasoras. De acuerdo a una exploración en la plataforma Web of Science, el 85% de los estudios en este campo han surgido después del año 2000, y alrededor del 40% se ha llevado a cabo después del año 2010. Esta distribución temporal sugiere un crecimiento constante de la investigación en memoria de crustáceos braquiuros a lo largo del siglo XXI, señalando un área en continua expansión. Este grupo taxonómico ha revelado notables diferencias interespecíficas en sus tasas de aprendizaje (Roudez *et al.*, 2008). Además, se ha identificado evidencia tanto neural como conductual que respalda la presencia de centros de memoria superiores (ganglios) en estos crustáceos, facilitando una mejora en el desempeño de nuevas tareas a lo largo del tiempo (Maza *et al.*, 2016; Chittka & Niven, 2009).

Las estructuras relacionadas con la memoria en crustáceos incluyen principalmente el cerebro, o ganglio supraesofágico, que actúa como el principal centro de procesamiento de información y contiene áreas especializadas para el aprendizaje y la memoria, facilitando el manejo de información sensorial y el control del comportamiento. Además, los ganglios nerviosos, distribuidos a lo largo del cuerpo, están involucrados en la coordinación de movimientos y respuestas a estímulos, contribuyendo al procesamiento de información en diferentes contextos. Los lóbulos ópticos, que se asocian con la visión, también desempeñan un papel importante en el aprendizaje y la memoria relacionada con estímulos visuales. La acción de neurotransmisores como la serotonina y la dopamina es crucial para la mediación de procesos de aprendizaje y memoria, modulando la actividad neuronal en las áreas



pertinentes.

De acuerdo a la exploración documental realizada, las investigaciones relacionadas con el aprendizaje y la memoria en anomuros, como el cangrejo ermitaño *Coenobita compressus*, son escasas en comparación con sus contrapartes braquiuras. Sin embargo, los estudios existentes han revelado la sorprendente capacidad de los anomuros para modificar diversos aspectos de su comportamiento como resultado de aprendizajes previos (Hazlett, 1995; Gherardhi *et al.*, 2005). Este carácter no solo subraya la adaptabilidad de estos crustáceos, sino también su capacidad para gestionar eficientemente recursos como las conchas de las cuales dependen.

Uno de los fenómenos conductuales aprendidos de mayor simplicidad, ampliamente observado en animales, es la habituación, un proceso que implica la disminución gradual de una respuesta conductual frente a un estímulo presentado repetidamente con las mismas consecuencias (Rankin *et al.*, 2009). Este fenómeno conduce a la formación de una memoria que percibe la inocuidad o irrelevancia del estímulo, generando una reacción de indiferencia por parte del organismo (Durrieu, 2021). En este sentido, la habituación compara la respuesta a un estímulo o evento en una ocasión con respecto a la respuesta anterior. En el contexto de los crustáceos, se ha estudiado este proceso en el cangrejo *Neohelice granulata*, perteneciente al Infraorden Brachyura, utilizando un modelo de habituación a un estímulo visual inicialmente asociado al peligro (Fusitiñana *et al.*, 2013). Sin embargo, otros crustáceos, como el cangrejo ermitaño *Pagurus bernhardus*, del Infraorden Anomura, exhiben conductas más complejas que parecen tener su base en la habituación (Crump *et al.*, 2022). La capacidad de distinguir estímulos novedosos de los familiares en estos organismos



sugiere la existencia de memoria episódica, la cual les permite ubicar espacio-temporalmente experiencias pasadas. La memoria episódica, asociada a sucesos derivados de la información provista por estímulos ambientales, se considera comúnmente como un proceso cognitivo propio de animales superiores (Dere *et al.*, 2006).

El aprendizaje abarca una amplia gama de estímulos, que pueden variar desde incentivos hasta experiencias aversivas. Un ejemplo de esto es la respuesta a estímulos aversivos, como una descarga eléctrica, que puede ser identificada como un estímulo novedoso significativo. En este contexto, la función principal de estos estímulos es permitir que el animal retenga en su memoria las circunstancias que lo provocaron, facultándolo así para evitar dichas situaciones en el futuro (Bateson, 1991). Investigaciones realizadas por Elwood & Appel (2009) han revelado que la aplicación de una descarga eléctrica en la concha de un cangrejo ermitaño desencadena la formación de una memoria asociada a la experiencia aversiva. Esta memoria se manifiesta en una disminución de la latencia para aproximarse a una concha disponible y en un menor tiempo de exploración antes de cambiar de concha. Estos cambios en las variables conductuales indican claramente que los cangrejos ermitaño perciben el estímulo nociceptivo del choque eléctrico y que este tiene un impacto duradero en su comportamiento futuro con respecto a la selección de conchas. Esta capacidad de aprendizaje está respaldada por la arquitectura cerebral de los crustáceos decápodos, que presenta conexiones directas desde los nociceptores hasta los centros de aprendizaje (Sandeman *et al.*, 1992). El fenómeno de aprendizaje aversivo no es exclusivo de los cangrejos ermitaño; estudios en acociles, como el *Procambarus clarkii* del Infraorden Astacidea, también han demostrado la capacidad de estos crustáceos



para aprender a evitar compartimentos asociados con choques eléctricos (Kawai *et al.*, 2004).

La evidencia acumulada sugiere una convergencia en la capacidad de aprendizaje aversivo en diferentes especies de crustáceos, destacando la importancia de comprender las generalidades del aprendizaje en este grupo taxonómico. El análisis conductual en cangrejos ermitaño revela indicadores que sugieren la existencia de memoria episódica, destacando su eficiencia para el intercambio de conchas. En este sentido, los estudios llevados a cabo por Hazlett (1995) han proporcionado valiosa información al utilizar estímulos apetitivos, como las conchas disponibles, para evaluar la influencia de experiencias previas en el proceso de cambio de conchas. Los resultados indican que el tiempo empleado en realizar un cambio forzado hacia una concha novedosa disminuye significativamente cuando se presentan conchas de especies previamente conocidas en comparación con especies desconocidas. Adicionalmente, se ha planteado la hipótesis de que estos cangrejos poseen la capacidad de discernir entre su propio olor y el de otros individuos. Esta diferenciación se manifiesta aún más al asociar, después de un periodo de familiarización, el olor de un cangrejo conocido con los atributos de su concha, especialmente en términos de calidad (Gherardi *et al.*, 2005). Estas observaciones revelan comportamientos complejos que sugieren la existencia de habilidades cognitivas altamente desarrolladas en estos crustáceos, lo que, a su vez, implica la presencia de una notoria flexibilidad conductual en su repertorio.

En relación al aprendizaje episódico, específicamente en el cangrejo ermitaño *Coenobita compressus*, se ha observado una interacción social entre los individuos de esta especie. Este proceso de aprendizaje se manifiesta cuando los cangrejos



comparten su entorno con dos conoespecíficos familiares simultáneamente, destacando similitudes con el modelo de condicionamiento clásico observado en abejas para la localización de alimentos (Menzel, 1999). En este contexto, el estímulo condicionado que los cangrejos memorizan es el olor del coespecífico, asociado a la calidad de la concha que habita. Este olor actúa como el punto de referencia para la toma de decisiones, mientras que el estímulo incondicionado proporciona información relevante sobre la posible recompensa, es decir, la oportunidad de obtener una concha de alta calidad. Esta asociación desencadena una respuesta condicionada, representada por el tiempo dedicado a investigar la concha (Gherardi *et al.*, 2005). No obstante, a pesar de esta capacidad para asociar el olor con la calidad de la concha, que no son capaces de reconocer características, como la familiaridad o la calidad de una concha vacía, utilizando únicamente estímulos olfativos. Aquí surge la relevancia de las modalidades sensoriales adicionales, como la vista y el tacto, que desempeñan un papel crucial en el proceso de toma de decisiones de estos crustáceos. Estas modalidades complementan y enriquecen la información disponible para el cangrejo, permitiéndole realizar elecciones más asertivas en su entorno. En este contexto, la presente investigación se propuso explorar la influencia de estas modalidades sensoriales adicionales en el aprendizaje espacial allocéntrico del cangrejo ermitaño.

Uno de los grupos estudiados en el contexto de la memoria olfativa de reconocimiento son los acociles pertenecientes a la familia Cambridae, incluyendo especies como *Orconectes virilis*, *O. rusticus* y *Cambarus robustus*, (Hazlett, 1994). En este trabajo, se examinó específicamente la memoria olfativa de reconocimiento en estos crustáceos, revelando un fenómeno asociado con la experiencia previa con los olores de las presas que consumen. Los resultados indican que la presentación del olor aislado no evoca una respuesta inmediata, lo que sugiere la existencia de un



aprendizaje asociativo. Los acociles demostraron la necesidad de entrenamientos sucesivos para desarrollar conductas alimenticias desencadenadas por el olor de sus presas. Este proceso de aprendizaje gradual culminó en el establecimiento de una memoria olfativa que sorprendentemente perduró por más de tres semanas. Estos hallazgos resaltan la plasticidad cognitiva y la capacidad de estos crustáceos para formar asociaciones significativas entre diferentes estímulos y comportamientos alimenticios.

A pesar de que se ha señalado la relevancia de diversos estímulos en el aprendizaje de los crustáceos, la literatura ha prestado una atención limitada al papel crucial desempeñado por la visión y el tacto en comparación con los estudios centrados en estímulos olfativos. En este contexto, el trabajo de Pérez-Cuesta & Maldonado (2009) se destaca al examinar minuciosamente la influencia de los estímulos visuales en el aprendizaje de los cangrejos, centrándose específicamente en el cangrejo *N. granulata*. Sus resultados revelan que incluso las variaciones visuales más sutiles, como los cambios en la iluminación, son capaces de inducir respuestas en el organismo, interpretadas como si fueran distintos contextos de aprendizaje.

Adicionalmente, los estudios llevados a cabo por Elwood y Appel (2009) aportan una perspectiva valiosa al explorar la percepción de estímulos noicéptivos, evaluando parámetros relacionados con el cambio de concha. Estos parámetros proporcionan información significativa sobre otro tipo de estímulos, como el "dolor", que también juegan un papel relevante en el proceso de aprendizaje en crustáceos. Estos hallazgos subrayan la complejidad de los mecanismos de aprendizaje en estos organismos y destacan la necesidad de una comprensión integral que abarque múltiples modalidades sensoriales.



El cangrejo ermitaño *P. bernhardus* (Hazlett, 1969) exhibe la capacidad de reconocer conespecíficos en cautiverio mediante un proceso de aprendizaje no asociativo. Se destaca que tan solo una exposición de 30 minutos a un individuo que sirve como estímulo es suficiente para mantener el reconocimiento individual durante un periodo de hasta 4 días (Gherardi & Atema, 2005). Este fenómeno se manifiesta antes de la formación de rangos jerárquicos y es independiente de factores como el efecto de ganador o perdedor (Dugatkin, 1997), el reconocimiento de estatus (Gherardi *et al.*, 2005; Jiménez-Morales *et al.*, 2018) o las interacciones con otros individuos. Es importante destacar que, este reconocimiento se establece de manera binaria y no constituye una evidencia concluyente de reconocimiento individual en el sentido más estricto, definido como la capacidad de discriminar a un individuo específico entre otros basándose en combinaciones de señales que le otorgan una identidad única (Beecher, 1989). En el contexto de los estudios sobre reconocimiento individual en invertebrados, es común observar un enfoque orientado en demostrar la discriminación binaria de conespecíficos, sin llegar a corroborar un reconocimiento individual en sentido estricto, a excepción de los hallazgos de Jiménez-Morales *et al.* (2018). No obstante, las observaciones realizadas por Gherardi *et al.* (2005) plantean la sugerente posibilidad de que los cangrejos ermitaño posean el potencial para desarrollar un reconocimiento individual más elaborado.

El reconocimiento individual desempeña un papel fundamental en la dinámica social de diversos organismos, influyendo en aspectos decisivos como la estabilidad de las estructuras jerárquicas, la defensa del territorio, la regulación de la competencia y el mantenimiento de la cohesión en grupos sociales, familiares y parejas (Ydenberg *et al.*, 1988). Si bien se ha investigado el reconocimiento individual en diversos invertebrados,



como moscas (Leonard *et al.*, 1974), abejas (Barrows *et al.*, 1975) y cucarachas (Liechti & Bell, 1975), los estudios específicos dentro del grupo de los artrópodos han priorizado el reconocimiento de parejas sexuales, compañeros de nido o grupos familiares (Lisenmair, 1985), siendo escasos los enfoques sobre la memoria espacial y el reconocimiento individual en crustáceos. En particular, dentro de los artrópodos acuáticos, la atención ha sido limitada a la comprensión de las bases del reconocimiento individual dependiente de feromonas. Aunque se han llevado a cabo investigaciones en camarones y langostas (Gherardi *et al.*, 2005), el número de estudios en este ámbito es significativamente menor en comparación con otros grupos de invertebrados.

El escaso número de estudios centrados en invertebrados que sugieren la existencia de reconocimiento individual durante la formación de jerarquías incluye investigaciones previamente citadas sobre el cangrejo ermitaño *P. bernhardus* (Hazlett, 1969) y *P. clarkii* (Jimenez-Morales *et al.*, 2018), así como las langostas americanas *Homarus americanus* (Familia Nephropidae), según los hallazgos de Karavanich y Atema (1998). En estos organismos, los individuos de alto rango tienden a monopolizar una parte desproporcionada de los recursos disponibles, generando jerarquías bien definidas (Wittenberger, 1981). No obstante, es crucial señalar que la mayoría de estas observaciones se han llevado a cabo en condiciones de cautiverio, lo que plantea interrogantes sobre la validez ecológica de dichos estudios en relación con el comportamiento en vida libre.

Los estudios llevados a cabo utilizando crustáceos como modelos experimentales han abierto nuevas líneas de investigación con aplicaciones que



abarcan desde la investigación clínica hasta la comprensión de la evolución del aprendizaje en invertebrados, así como el papel ecológico que desempeñan en sus hábitats respectivos. Es relevante destacar que muchos de los trabajos existentes, aunque no estén específicamente dirigidos a la memoria, proporcionan indicios valiosos y conclusiones extrapolables que contribuyen al entendimiento de los mecanismos subyacentes en el aprendizaje. Estas investigaciones, al explorar áreas aparentemente no relacionadas, ofrecen información clave para predecir el comportamiento de estos organismos en su entorno.

Es importante notar que ciertos taxa de crustáceos son particularmente atractivos para la investigación debido a su capacidad demostrada para desarrollar comportamientos complejos. Específicamente, aquellos crustáceos capaces de aprender en situaciones complejas, a pesar de poseer sistemas nerviosos relativamente simples, se perfilan como modelos especialmente relevantes para la neurobiología.

1.3 Conducta espacial y aprendizaje en crustáceos

A pesar de que se ha demostrado la presencia de formas básicas de aprendizaje en invertebrados, como el condicionamiento excitatorio o inhibitorio, así como el aprendizaje no asociativo, que incluye la habituación y sensibilización, y el aprendizaje de evitación (Chittka & Niven, 2009), resulta notable la escasa atención que se le ha prestado al aprendizaje espacial en crustáceos, a pesar de su relevancia en los ecosistemas acuáticos (Davies *et al.*, 2019). El aprendizaje espacial, considerado como un proceso complejo, desempeña un papel esencial en el desarrollo de conductas, tales como la orientación y la localización de recursos en un tiempo y espacio determinados



(Vannini & Cannici, 1995). Aunque se ha investigado extensivamente el aprendizaje espacial en vertebrados y algunos invertebrados, como cefalópodos e insectos (Boal *et al.*, 2000; Collett, 2009; Davies *et al.*, 2019; Perry *et al.*, 2013), la atención dirigida hacia crustáceos ha sido limitada.

La navegación emerge como un modelo conductual idóneo para explorar la integración entre los sistemas sensoriales y los sustratos neuronales vinculados a conductas complejas en organismos, como lo señala (Wiegmann *et al.*, 2016) en sus estudios en amblipígdos, otro grupo de artrópodos. La obtención de recursos está intrínsecamente ligada a una conducta que surge como resultado de la integración entre la experiencia pasada y la percepción presente, involucrando la selección y evolución de caracteres específicos (Spence & Smith, 2008). El reconocimiento de ubicaciones particulares implica un procesamiento de información complejo, donde diferentes entradas sensoriales simultáneas e interconectadas se almacenan en una representación mnémica completa (Fustiñana *et al.*, 2013; Godfrey-Smith, 2016).

La navegación en invertebrados implica una interacción de diversos procesos, tales como la orientación (compass directions), la identificación de puntos de referencia (landmarks), la integración de trayectorias (path integration) y la utilización de mapas magnéticos (magnetic maps). Resulta destacable la eficiencia con la cual algunos invertebrados se orientan durante el forrajeo (Morrow & Smithson, 1969). Es precisamente esta eficiencia y aparente sofisticación en la capacidad de navegación de los crustáceos lo que motiva la exploración más profunda de sus capacidades cognitivas. La presente investigación se adentra en este campo con el objetivo de determinar si las capacidades cognitivas de los crustáceos, en particular del cangrejo



ermitaño *Coenobita compressus*, pueden ser más complejas de lo que se ha descrito en investigaciones previas.

El comportamiento espacial de los crustáceos (reptantes), exhibe una diversidad que abarca desde desplazamientos aleatorios hasta la delimitación de territorios bien definidos, así como la migración periódica hacia objetivos específicos (Vannini & Cannicci, 1995), como refugios, madrigueras, recursos alimenticios o parejas reproductivas (Laidre, 2010). La elección de estos objetivos está estrechamente vinculada a la supervivencia y reproducción de las especies, siendo la localización de refugios un factor clave. En lo que respecta al uso de refugios, se observa una variabilidad interesante entre las especies de decápodos. Mientras algunos ocupan un único refugio, otros adoptan un comportamiento más dinámico, desplazándose a través de un sistema compuesto por varios refugios que exploran con cierta periodicidad (Vannini & Cannicci, 1995). La preferencia por un tipo de movimiento u otro también puede depender de las condiciones ambientales, como se ha documentado en el caso de *Menippe mercenaria*. En esta especie, el comportamiento espacial varía en función de la disponibilidad de refugios y la energía requerida para encontrarlos o fabricarlos, alternando entre desplazamientos aleatorios y traslados hacia objetivos definidos, como madrigueras o refugios fijos (Wilber, 1986; Sinclair, 1977).

El cangrejo ermitaño *Clibanarius longitarsus* presenta un comportamiento particularmente relevante al desplazarse a través de manglares pantanosos en un tiempo significativamente inferior al esperado mediante un movimiento azaroso (Gherardi et al., 1990). Este patrón sugiere un reconocimiento consciente del área y la toma de decisiones orientadas hacia objetivos específicos. Este fenómeno es destacable al considerar que, en el hábitat de los cangrejos ermitaño terrestres, las



fuentes de alimento y otros recursos no presentan una ubicación perpetua y definida, sino que su distribución está sujeta a la estacionalidad y al ciclo de mareas. Por ende, la habilidad de estos crustáceos para recordar dónde y sobretodo, cuándo encontrar recursos es relevante para optimizar su eficiencia durante el forrajeo. La habilidad de los decápodos intermareales para adaptarse a las variaciones constantes en su entorno, como las oscilaciones de marea, la presión de los depredadores y la exposición a la radiación solar, plantea la necesidad imperante de coordinar sus umbrales de tolerancia de manera eficiente (Vannini & Cannicci, 1995). Para afrontar estos desafíos, los crustáceos deben desplegar estrategias óptimas para forrajear recursos y localizar parejas reproductivas. La efectividad en estas tareas no solo conlleva ventajas para su supervivencia y reproducción, sino que también resalta la importancia de su capacidad para aprender y recordar a partir de las experiencias vividas, respaldando así el desarrollo de cambios evolutivos orientados a la persistencia de la memoria.

En contraste, aquellos animales que se confinan a una misma zona dependen intrínsecamente de refugios que sean adecuados, disponibles y fáciles de reubicar cuando sea necesario. Para los crustáceos, evaluar la idoneidad de un refugio sin su uso previo se convierte en un desafío adicional, especialmente dada la alta competencia ínter como intraespecífica, lo que los obliga a ser eficaces y eficientes al elegir y recordar la ubicación de sus refugios (Vannini & Cannicci, 1995). En el caso de cangrejos anomuros marinos, se pueden identificar diversos tipos de desplazamientos, que van desde el movimiento difusivo aleatorio (*Clibanarius vittatus*) y el movimiento difusivo no aleatorio (*Clibanarius longicarpus*) hasta el mantenimiento de un rango hogareño (*Paguristes oculatus*) y el "homing" observado en *Clibanarius laevimanus*.



La conducta de "homing", definida como cualquier movimiento orientado a alcanzar un área espacialmente restringida conocida por el animal (Papi, 1992), revela una capacidad para los decápodos de desplazarse en distancias que oscilan entre 1 y 300 metros alrededor de sus madrigueras. Este comportamiento intrincado se sustenta en una serie de mecanismos y pautas sensoriales que varían según la proximidad al refugio y el tipo de hábitat, ya sea marino, intermareal o semiterrestre (Vannini & Cannicci, 1995).

Un ejemplo destacado de esta conducta en crustáceos se observa en *Sersama leptosoma*, un habitante de los manglares kenianos que establece una o dos madrigueras en las raíces y se alimenta de las hojas del dosel (Vannini & Ruwa, 1994). La probabilidad de que un cangrejo suba al dosel y regrese a la misma madriguera entre las numerosas raíces de un manglar sin que haya aprendizaje de por medio parece tender a cero, según estudios realizados en especies como esta (Cannicci *et al.*, 1995).

Contrastando con este escenario, las poblaciones de cangrejos ermitaño terrestres, como *Coenobita rugosus*, muestran una tendencia a permanecer en ubicaciones específicas a lo largo del tiempo (Vannini, 1976). Este fenómeno sugiere que diferentes taxas de crustáceos decápodos, exhiben patrones de aprendizaje espacial que son más complejos de lo que hasta ahora ha sido evaluado experimentalmente en el grupo.

La clasificación de los mecanismos involucrados en el homing se ha establecido según el tipo de información utilizada para alcanzar dicha área, como se ha descrito detalladamente por Papi (1992).



a) Información Sensorial Directa y en Contacto con el Objetivo:

Se refiere a la utilización de información táctil, visual o química que está directamente relacionada con el objetivo. Sin embargo, hasta la fecha, no se ha documentado evidencia experimental que respalde este mecanismo en crustáceos, como indican Vannini & Cannicci (1995).

b) Rastro Químico Dejado Durante Recorridos Previos:

Aunque este mecanismo ha sido ampliamente demostrado en moluscos (Chelazzi, 1992), insectos sociales (Wehner, 1992) y otros vertebrados (Chelazzi, 1992), no se ha encontrado evidencia experimental que respalde su presencia en crustáceos, según investigaciones previas de Vannini y Cannicci (1995).

c) Orientación Basada en Exploraciones Previas de la Ruta:

Este enfoque se sugiere para el infraorden Anomura y se ha comprobado para el infraorden Brachyura, según investigaciones de Vannini y Cannicci (1995). También se ha demostrado en insectos sociales (Wehner, 1992), lo que sugiere la existencia de estrategias compartidas entre diferentes taxones de artrópodos.

d) Adquisición de Memoria a Largo Plazo y Navegación Verdadera:

Este mecanismo implica la creación de mapas topográficos y la capacidad de discernir la familiaridad de las áreas. Además, está vinculado a un mecanismo de brújula basado en el campo magnético semiterrestre, la posición del sol u otras estrellas. Resulta relevante destacar que existe evidencia experimental respaldando esta forma de navegación en crustáceos del infraorden Palinura, según los hallazgos de Boles y Lohmann (2003).



La comprensión del aprendizaje espacial en artrópodos se ha centrado mayormente en el grupo de los insectos, siendo las abejas notables por sus habilidades orientativas que se alinean con un estilo de vida centrado en el forrajeo (Chittka & Niven, 2009; Loukola et al., 2017). La teoría del forrajeo óptimo postula que la selección natural favorece patrones de forrajeo económicamente más ventajosos (Werner & Hall, 1974), y en insectos, el desarrollo de cuerpos pedunculados, especialmente en las abejas, se considera relevante para esta conducta (Fahrbach et al., 2003). En los insectos los cuerpos pedunculados son los sitios primarios para el aprendizaje y memoria y contienen áreas enfocadas a la olfacción, visión y mecanorecepción (Chittka & Niven, 2009, Mizunami et al., 1998). Estas especies pueden recorrer distancias significativas en busca de recursos, demostrando una capacidad única para memorizar la localización, temporalidad y calidad de los sitios de forrajeo.

En los crustáceos, específicamente los cangrejos ermitaño, los cuerpos hemielipsoides han sido identificados como áreas homólogas a los cuerpos pedunculados de los insectos. Las especies terrestres y semiterrestres, emplean diversos mecanismos sensoriales para interactuar con su entorno, destacando las pautas visuales (Vannini & Cannicci, 1995; Laidre, 2010; Shragai et al., 2017), olfativas (Mima et al., 2003) y táctiles (Hazlett, 1971; Elwood & Appel, 2009). A diferencia de los insectos, los crustáceos dependen de la combinación sinérgica de estos sentidos para adaptarse y responder a su ambiente, revelando un enfoque multisensorial en la búsqueda de recursos y en la interacción con su entorno.

En las últimas décadas, ha habido un notable aumento en los estudios dedicados al análisis del comportamiento y aprendizaje en crustáceos, revelando de



manera progresiva los umbrales cognitivos de estos organismos. Hasta la fecha, apenas un 7% de la investigación sobre el aprendizaje y la memoria en crustáceos se ha centrado en el ámbito del aprendizaje espacial. Es importante destacar que la mayoría de estos estudios, utilizan pruebas sencillas y existen pocas que evalúen el aprendizaje espacial utilizando situaciones complejas que revelen con mayor detalle los límites y características del aprendizaje espacial en este grupo taxonómico.

La memoria espacial nos permite determinar si un organismo puede aprender y recordar la ubicación de objetos de interés con base en estímulos previamente presentados. En el caso de animales móviles, como los crustáceos, los estímulos pueden ser de diversa naturaleza, ya sean propios, intraespecíficos, interespecíficos o ambientales, desempeñando un papel clave en la optimización del aprovechamiento de recursos y la adquisición de información sobre ubicaciones y distancias hacia los objetivos (Shettleworth, 2010).

A pesar de los avances en el estudio del aprendizaje espacial en crustáceos, la atención se ha centrado principalmente en braquiuros, lo que resalta la necesidad de investigar si las capacidades observadas en un taxón específico se extienden a través de la diversidad de este grupo, incluyendo especies que han colonizado ambientes terrestres, como es el caso del cangrejo ermitaño *Coenobita compressus*.

Dentro del marco conceptual del aprendizaje espacial, se reconocen dos enfoques principales: el egocéntrico, basado en secuencias, y el allocéntrico, que implica el uso de puntos de referencia externos. Mientras que existe cierta información sobre la conducta espacial egocéntrica en crustáceos, se carece de estudios específicos que aborden la memoria allocéntrica en este grupo. Aunque Davies et al.



(2019) y Vannini & Cannicci (1995) sugieren la posible existencia de esta capacidad, hasta el momento no se ha realizado una exploración detallada. Es interesante señalar que, aunque la investigación sobre memoria allocéntrica en crustáceos es escasa, estudios en hormigas (Fukushi & Wehner, 2004) y abejas (Collett & Kelber, 1988) han demostrado la presencia de esta forma de aprendizaje espacial en estos grupos de insectos, lo que destaca la importancia de ampliar el conocimiento en este campo y explorar la variabilidad existente dentro de los crustáceos. Un ejemplo de la exploración de estas habilidades se encuentra en el estudio realizado por Davies et al. (2019) sobre el cangrejo *Carcinus maenas*. En este trabajo pionero, en su campo, se abordó la cuestión del aprendizaje espacial mediante la implementación de un laberinto complejo, análogo a aquellos utilizados en estudios con mamíferos, como ratones. La elección de este crustáceo bentónico permitió una aproximación inicial al entendimiento de los procesos cognitivos asociados con la búsqueda de alimento.

La evaluación del desempeño en la prueba se llevó a cabo mediante la medición de la disminución en el tiempo necesario para localizar el alimento, así como el análisis del número de errores cometidos a medida que se incrementaba el número de sesiones de entrenamiento. Las pruebas destinadas a evaluar la memoria espacial mediante la resolución de laberintos ofrecen una valiosa medida cuantificable del aprendizaje egocéntrico, caracterizado por depender del desempeño motriz del organismo (Davies et al., 2019). En este contexto, la ubicación objetivo se define con referencia al cuerpo del sujeto, destacando la importancia del uso de patrones para que el animal establezca una relación geométrica efectiva entre objetos y espacios (Vorhees & Williams, 2006).



En la evaluación de este tipo de aprendizaje en invertebrados, ha mantenido un enfoque especialmente centrado en abejorros, por lo que es fundamental resaltar que este trabajo representa el primer acercamiento a la exploración de la memoria egocéntrica en crustáceos decápodos. Es necesario señalar que, si bien este estudio se centra en la memoria egocéntrica, que se caracteriza por ser secuencial y dependiente del cuerpo del organismo, no aborda la evaluación de la memoria allocéntrica. Esta última, basada en pautas visuales ambientales como marco de referencia, representa un componente esencial y más complejo de la memoria espacial.

Roudez et al. (2008), plantean la idea de que el aprendizaje espacial desempeña un papel crucial en la adecuación de las especies de crustáceos, especialmente cuando se trata de optimizar la explotación de recursos en entornos con limitaciones, como la disponibilidad de alimento. Esta variabilidad en la velocidad de aprendizaje no solo puede influir en la supervivencia y reproducción de las especies involucradas, sino también tener repercusiones en la dinámica de comunidades, favoreciendo la presencia de especies nativas o invasoras.

La capacidad de asociar estímulos incentivos o aversivos con ubicaciones específicas revela un aspecto fundamental de la adaptabilidad de estos organismos, como señalan Fustiñana et al. (2013). Esta habilidad para realizar predicciones adaptativas basadas en experiencias previas contribuye significativamente a la toma de decisiones adecuadas al contexto. En el ámbito natural, la localización espacial de lugares asociados con situaciones aversivas, como riesgos para la supervivencia, o con recompensas apetitivas, como fuentes de alimento, refugios o parejas, adquiere una importancia crítica (Klappenbach et al., 2017). La capacidad de aprendizaje y la



retención de la memoria espacial son herramientas indispensables para la adaptación y supervivencia de los crustáceos en su hábitat natural.

La mejora en la capacidad predictiva de crustáceos, en términos de calidad, cantidad, estado fisiológico y temporalidad de recursos, así como su habilidad para aprender y recordar las ubicaciones probables, desempeña un papel clave en el éxito del forrajeo, afectando directamente a su adecuación (Davies et al., 2019; Roudez et al., 2008; Domjan, 2007, de Wilde, 1973). La percepción y reconocimiento de estímulos ambientales no solo orientan respuestas conductuales ante el riesgo de depredación, la disponibilidad de recursos o el establecimiento de jerarquías sociales, sino que también influyen en la capacidad de modificar o "innovar" en las estrategias de forrajeo, permitiendo la diversificación del nicho trófico (Greenberg, 1990). La optimización de conductas, como la reducción en el tiempo de reacción, el aumento en la precisión y la diversificación del nicho trófico, tiene un impacto directo en la adecuación de los organismos.

Una mejor apreciación de este carácter adaptativo, enriquece el conocimiento sobre la explotación de recursos y los roles ecológicos de los crustáceos. Además, facilita la realización de estudios comparativos con otros grupos de organismos, especialmente con invertebrados como los insectos (Davies et al., 2019). La implementación de diseños experimentales claros para evaluar los límites de la memoria en crustáceos no solo puede potenciar el entendimiento de estos procesos, sino que también proporciona una base sólida para el desarrollo de pruebas complementarias. Estas pruebas podrían abordar aspectos como las respuestas conductuales ante la



presencia de contaminantes o los cambios en el entorno, ampliando así la comprensión de la respuesta de los crustáceos en diversos contextos ambientales.

1.4 Modelo de Estudio

La familia Coenobitidae engloba un total de 19 especies distribuidas en dos géneros distintos, siendo dos de ellas pertenecientes al género *Coenobita* en México, según lo señalado por Alvarez *et al.* (2014). A diferencia de otras familias del infraorden Anomura, los coenobítidos exhiben adaptaciones morfológicas, fisiológicas y conductuales que les permiten habitar de forma permanente la zona supralitoral (excepto en estado larvario), con la capacidad de adentrarse significativamente tierra adentro, emulando el comportamiento de los braquiuros terrestres (Greenaway, 2003, de Wilde, 1973).

Estos crustáceos, tanto los cangrejos anomuros como los braquiuros, se consideran taxones altamente especializados dentro de los decápodos crustáceos (Richter & Scholtz, 2001). Su característica más distintiva radica en su capacidad para desplazarse distancias considerables lejos de la línea de costa en su estado adulto, utilizando las reservas de agua y sal presentes en sus conchas. Esta habilidad les permite realizar desplazamientos tanto para la búsqueda de alimento como para la liberación de larvas en el océano. Además, son organismos semiterrestres con un amplio rango hogareño, capaces de trepar la vegetación en busca de alimento o refugio, según han observado investigadores como Barnes (1997) y Larrañaga y Kruesi (2018).



El cangrejo ermitaño *Coenobita compressus*, identificado por H. Milne Edwards (1836), se distribuye a lo largo de las costas del Pacífico americano, desde el sur de California hasta Chile, según lo documentado por Bright (1966). Esta especie se distingue por sus apéndices asimétricos y antenas internas extraordinariamente largas, que se insertan en línea con los pedúnculos oculares, según Edwards (1836). Su forma de desplazamiento se asemeja a la de muchos hexápodos, donde alterna los apéndices trazando un triángulo y mantiene siempre tres puntos de apoyo, lo que facilita su avance frontal, como señalan Herreid y Full (1986).

Los coenobitidos, eligen hábitats complejos y tridimensionales, como playas arenosas y bosques, según lo investigado por Laidre (2013). Su rango hogareño mínimo se establece en aproximadamente 30 metros de radio, evidenciando su preferencia por áreas extensas y variadas (Brodie, 1998). Durante las épocas reproductivas, tienen la capacidad de recorrer hasta 500 metros diarios, según los hallazgos de de Wilde (1973). Su velocidad de desplazamiento, que oscila entre 0.02 y 0.03 km/h y puede mantenerse durante períodos de hasta 5 horas, como se detalla en estudios realizados por Greenaway. Estos datos subrayan la agilidad y la resistencia de este cangrejo ermitaño en su entorno natural, lo que puede influir en su capacidad para desarrollar y utilizar la memoria espacial aloécéntrica, un aspecto central de la presente investigación.

La movilidad de los coenobitidos les confiere la capacidad de sortear obstáculos naturales, como arbustos, árboles y rocas, según señalan von Hagen (1977) y Krieger *et al.* (2020). Este tipo de desafíos no solo constituyen una prueba de sus habilidades locomotoras, sino que también brindan a estos organismos la oportunidad de recopilar información de su entorno. La información adquirida se procesa y almacena en la



memoria, permitiendo a los cangrejos ermitaño adaptarse eficazmente a situaciones similares en el futuro.

Dentro de este grupo, se han identificado habilidades, como la navegación y la toma de decisiones adaptativas, las cuales desempeñan un papel fundamental en el aumento de su adecuación darwiniana, como indican los estudios de Krieger *et al.* (2020). Estas capacidades no solo son valiosas en sí mismas, sino que también influyen en el desarrollo de estrategias de forrajeo óptimas. Asimismo, estas capacidades tienen impacto en el desarrollo de estrategias de forrajeo óptimas que permiten una administración eficiente de los recursos energéticos mediante la consideración de factores ambientales cruciales, como los cambios de marea, la irradiación solar y la presencia de depredadores, según señalan Vannini y Cannicci (1995).

En contraste con otros miembros del infraorden Anomura, los coenobitidos exhiben un comportamiento único al modificar el interior de las conchas que habitan (Laidre, 2012). A pesar de que las particularidades de este proceso aún permanecen en gran medida desconocidas, se ha identificado que implican tanto aspectos mecánicos como químicos, resultando en una disminución del peso de la concha, un aumento en el volumen interno y un incremento en el tamaño de la apertura de la misma (Vermeij, 2012).

Aunque la remodelación de las conchas en los coenobitidos puede atribuirse a múltiples factores, se ha teorizado que desempeña funciones clave en la optimización de varios aspectos biológicos. En primer lugar, se sugiere que este proceso contribuye a la disminución de los costos metabólicos asociados al transporte de la concha, mitigando la carga de peso que conlleva (Briffa & Elwood, 2005; Herreid & Full, 1986). Además, la remodelación podría proporcionar un aumento de espacio interno,



facilitando la retención de humedad, un factor esencial para la supervivencia de estos crustáceos terrestres (Laidre, 2014).

Adicionalmente, se ha postulado que la adaptación en la forma de las conchas podría tener implicaciones significativas en la maximización del crecimiento, la fecundidad y el transporte de agua por parte de los coenobitidos (Markham, 1968; Childress, 1972; Greenaway, 2003). Sin embargo, esta estrategia no está exenta de desventajas, ya que la fragilidad resultante de la remodelación aumenta la propensión a la ruptura de las conchas, lo cual podría representar un riesgo para la seguridad y protección de estos organismos (Greenaway, 2003). Este complejo proceso de remodelación, combinado con la búsqueda constante de una optimización en la protección contra depredadores, motiva a los coenobitidos a cambiar sus conchas con una frecuencia notablemente elevada, posiblemente más frecuente en comparación con los anomuros marinos.

El cangrejo ermitaño *C. compressus*, destaca por su sociabilidad, como ha sido observado por Krieger *et al.* (2020). Esta especie, perteneciente a un género que abarca una amplia gama de hábitats, adopta una dieta omnívora que abarca tanto alimentos terrestres como marinos. Su alimentación incluye frutas, semillas, hojas, carroña, corteza, detritos y heces fecales (Tran, 2015; Greenaway, 2003; Thacker, 1996). Además de su papel trascendental en la cadena alimentaria, estos cangrejos ermitaño contribuyen significativamente a la limpieza de las playas, como se señala en estudios como de Wilde (1973) y Briffa & Hardege, (2024)

La diversidad en la dieta de *C. compressus*, así como la necesidad de recursos limitados como las conchas (Laidre, 2010), impone a estos organismos la necesidad de mantener un amplio rango territorial. Este territorio abarca tanto ecosistemas acuáticos



como terrestres, evidenciando una estrecha relación con la diversidad circundante (Laidre & Vermeij, 2012). La gestión de recursos limitados y la preferencia alimentaria de inducción negativa, como lo señala Thacker (1996), se manifiestan en la necesidad de esfuerzos similares en la búsqueda y manejo de los distintos tipos de alimentos forrajeados por estos cangrejos.

Durante la búsqueda de recursos, tales como refugios, alimentos y conchas, así como en la detección de la presencia de depredadores o amenazas, los coenobitidos emplean la evaluación de estímulos a partir de diversas modalidades sensoriales. Estas modalidades incluyen el sentido del olfato (Mima *et al.*, 2003), el tacto (Hazlett, 1971; Elwood & Appel, 2009), la audición (Shragai *et al.*, 2017) y la visión (Reese, 1962; Laidre 2010; Shragai *et al.*, 2017), siendo estas últimas reconocidas como las principales adaptaciones sensoriales para los cangrejos terrestres (Greenaway, 2003; Vannini & Cannicci, 1995; Kurta, 1982). Aunque la visión ha sido identificada como un mecanismo perceptual crucial otros crustáceos como los cangrejos violinista (Zeil & A-Mutari, 1996) en los coenobitidos, su evaluación hasta el momento se ha basado principalmente en estudios conductuales, careciendo de un respaldo fisiológico concreto (Greenaway, 2003). No obstante, es relevante mencionar que en otras especies de artrópodos, como abejas, mariposas y avispas parasitoides, se ha observado una preferencia por reaccionar principalmente al color en comparación con otras características de los objetos, como la forma y el brillo (Desouhant *et al.*, 2010).

C. compressus, posee dos ojos compuestos con córneas pigmentadas ubicadas en la punta de pedúnculos oculares móviles (Tomsic *et al.*, 2017). Estos ojos proveen a los cangrejos de una visión monocular completa de 360 grados (Zeil & Al-Mutari, 1996), resaltando la importancia de este sentido en la percepción del entorno. Aunque la



fisiología exacta detrás de la visión en los coenobitidos aún no ha sido completamente respaldada, la disposición y la estructura de sus ojos compuestos sugieren una adaptación significativa para procesar información visual del ambiente.

Esta investigación busca contribuir al entendimiento de la memoria espacial aloécéntrica en *C. compressus*, explorando cómo la información visual se integra en sus procesos de toma de decisiones y navegación. La consideración de la visión como un componente clave en la evaluación del entorno de estos cangrejos añade una dimensión crucial a la comprensión de sus capacidades cognitivas y conductuales.

Los cangrejos anomuros exhiben conductas sofisticadas en relación con la exploración de conchas, demostrando una notable capacidad para recordar información recopilada a lo largo de las distintas etapas de la investigación, llegando incluso a retenerla por hasta 40 minutos, según señalan Jackson & Elwood (1989). De acuerdo con los mismos autores (1990), los cangrejos ermitaño marinos no poseen la capacidad de distinguir visualmente entre conchas que difieren en un 25% respecto a la que actualmente portan; requieren la intervención de otros mecanismos sensoriales, como el tacto, para lograr esta distinción. Aunque estos crustáceos son capaces de reconocer diferentes especies de conchas sin recurrir al contacto físico (Jackson y Elwood, 1990), investigaciones posteriores mediante mecanismos sensoriales adicionales pueden modificar los estados motivacionales de los animales (Jackson y Elwood, 1989a).

Es importante destacar que hasta la fecha no existen estudios en coenobitidos que corroboren la preservación de estas habilidades en el grupo. En observaciones realizadas por Laidre (2010), se resalta que los estímulos olfativos por sí solos no



resultan suficientes para guiar a *C. compressus* hacia fuentes de alimento o conchas, sino que deben ir acompañados de estímulos visuales asociados al estímulo, siendo estas últimas las que generan predominantemente la respuesta conductual. Estos hallazgos sugieren que el grupo de los coenobitidos evalúa y considera diferentes tipos de estímulos en conjunto para emitir una respuesta conductual específica.

El cangrejo ermitaño semiterrestre, *C. compressus*, es una especie idónea para poner a prueba la hipótesis de aprendizaje espacial allocéntrico en el contexto de esta investigación. Su amplio rango de hábitat, sorprendentemente extenso para un organismo de su tamaño, y su respuesta conductual ante estímulos visuales, según lo observado por Laidre (2010), lo posicionan como un sujeto propicio para explorar los mecanismos subyacentes a la memoria espacial allocéntrica en este grupo de crustáceos.

Este artrópodo no solo ofrece un escenario propicio para evaluar el aprendizaje espacial, sino que también se presenta como un modelo potencial para el estudio del aprendizaje en artrópodos en general. La homología del sistema nervioso de los crustáceos decápodos con el de los insectos, como indican investigaciones previas (Sztarker *et al.*, 2005; Tomsic *et al.*, 2017; Klappenbach *et al.*, 2017), sugiere la existencia de posibles similitudes fundamentales en los procesos cognitivos de estos grupos biológicos.



Pregunta de investigación y Objetivos

Pregunta de Investigación

¿Poseen los crustáceos anomuros semiterrestres, específicamente *Coenobita compressus*, la capacidad de resolver tareas de aprendizaje espacial alocéntrico?

Los estudios sobre aprendizaje espacial en crustáceos se han centrado exclusivamente en el infraorden Brachyura, examinando la orientación egocéntrica en laberintos. La falta de investigación en el ámbito del aprendizaje espacial alocéntrico en este grupo es evidente, a pesar de la existencia de literatura que explora su respuesta visual, olfativa y táctil ante diversos estímulos.



Racionalización del Método

El condicionamiento operante, fundamentado en la asociación de estímulos, se utilizó como base metodológica para evaluar la capacidad de *Coenobita compressus* para aprender tareas espaciales alocéntricas. Este método implica la alteración de la probabilidad o intensidad de las respuestas espontáneas mediante la presentación de estímulos de refuerzo (Skinner, 1938).

Objetivo General

El propósito principal de esta investigación es llevar a cabo una caracterización de la memoria espacial de tipo alocéntrico en el cangrejo ermitaño *Coenobita compressus*, un decápodo semiterrestre. Este objetivo se aborda mediante una prueba conductual multiensayo diseñada y adaptada específicamente para este crustáceo en condiciones de laboratorio.

Para lograr este cometido, se implementaron modificaciones significativas a las pruebas de condicionamiento operante y evocación de la memoria, originalmente diseñadas para evaluar el aprendizaje espacial en roedores (Martinez Pacheco et al., 2024; Ramirez Ortega et al., 2020). Estas adaptaciones se llevaron a cabo con el fin de sensibilizar las pruebas al comportamiento de los cangrejos ermitaño y para determinar si las pautas visuales u olfativas influyen en la resolución de tareas de aprendizaje espacial alocéntrico en esta especie.



El enfoque se centró en determinar si los cangrejos ermitaño son capaces de aprender y recordar la ubicación de una recompensa alimenticia. Este proceso se llevó a cabo mediante una prueba de memoria apetitiva que fue diseñada para ser biológicamente relevante y fácilmente registrable. Previo a esta fase, se realizó una prueba de preferencia alimentaria para identificar el alimento más motivador para estos organismos, considerando diferentes variables como composición (proteínas, lípidos o carbohidratos), color, sabor, consistencia, y familiaridad.

La caracterización de la memoria espacial allocéntrica se ejecutó en condiciones controladas donde se manipularon las pautas asociadas con la recompensa alimenticia. Se registraron dos parámetros clave durante las pruebas: a) la latencia para llegar al alimento, que proporciona información sobre la velocidad y eficacia del aprendizaje espacial, y b) la permanencia en el cuadrante donde se ubicó la recompensa alimenticia durante la evocación de la memoria en días subsecuentes, lo cual permitió estimar la duración de la memoria allocéntrica.

Objetivos Particulares

a) Establecer un alimento generador de alta respuesta conductual apetitiva:

-Identificar y presentar un estímulo alimenticio que induzca una respuesta conductual significativa en *C. compressus*.

-Cuantificar y analizar la intensidad y persistencia de la respuesta conductual generada por el alimento seleccionado.



b) Evaluar la respuesta conductual en una prueba de aprendizaje aloctrico:

-Diseñar y llevar a cabo una prueba de aprendizaje aloctrico utilizando un alimento novedoso como refuerzo.

-Medir y comparar la respuesta conductual de *C. compressus* durante el proceso de aprendizaje aloctrico.

c) Determinar modalidades sensoriales en el aprendizaje espacial aloctrico:

-Investigar y analizar las pautas sensoriales que intervienen durante el aprendizaje espacial aloctrico en *C. compressus*.

-Identificar la importancia relativa de los estmulos visuales y olfativos en el proceso de aprendizaje.

d) Evaluar la persistencia de la memoria de largo plazo:

-Realizar ensayos sin refuerzo para determinar la capacidad de retención tras el paso del tiempo.

-Analizar la influencia del tiempo en la persistencia de la memoria espacial aloctrica en *C. compressus*.

e) Contrastar resultados con la literatura existente:

-Revisar y comparar los resultados obtenidos con los hallazgos previos en la literatura científica relacionada con las respuestas visuales y olfativas en *C. compressus*.

-Identificar similitudes, diferencias y posibles contribuciones únicas a la comprensión actual.



Hipótesis

1. *Coenobita compressus* mostrará una mayor eficacia para encontrar el alimento a medida que se repitan los ensayos reflejada en una reducción en la latencia para alcanzarlo

2. *Coenobita compressus* mostrará un mayor tiempo de permanencia en el cuadrante donde se encontraba el alimento en su ausencia.



Metodología

3.1 Obtención de ejemplares biológicos

Los organismos utilizados en este estudio fueron recolectados en el Municipio de la Unión, situado en la región noreste del estado de Guerrero, en el litoral del Pacífico mexicano (17°46'48.68"N, 101°43'23.20"O). Esta área se caracteriza por un litoral rocoso con un oleaje suave, compuesto por rocas sedimentarias y vulcano-sedimentarias del periodo cuaternario, como fue detallado por Flores-Rodríguez *et al.* (2007). El clima de su hábitat se clasifica como caluroso, subhúmedo a húmedo, con lluvias predominantes en el verano y vientos mayoritariamente provenientes del sureste. La precipitación anual oscila entre 800-1600 mm, mientras que la evaporación varía de 1400-2200 mm, según Botello *et al.* (2000).

La colecta de los cangrejos ermitaño (*Coenobita compressus*) se llevó a cabo durante la noche en la playa. Se seleccionaron ejemplares que se encontraran en la especie de concha más común, de acuerdo con las preferencias de las especies presentes en la zona y la abundancia local.

3.2 Consideraciones Éticas

El tratamiento de los animales involucrados en la presente investigación se rigió estrictamente por las directrices establecidas por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, en concordancia con la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 y y de acuerdo con las guías para el cuidado y uso de animales en investigación de la ASAB/ABS (2024).



Previamente al inicio de los experimentos, se llevó a cabo un período de habituación de un mes, durante el cual los cangrejos fueron alojados en tanques de mantenimiento en el Laboratorio de Neurobiología Conductual de la Facultad de Medicina de la UNAM. Estos tanques estaban equipados con terrarios de 40 litros, iluminación natural, 5 cm de sustrato arenoso del lugar de colecta, mantenidos a una temperatura constante de 28 grados centígrados. Los cangrejos tenían acceso *ad libitum* a una dieta compuesta por TetraFauna Hermit Crab Pellets y rodajas de manzana, agua salina al 1%, y agua purificada mediante métodos físicos. La densidad poblacional fue mantenida en 10 cangrejos por tanque.

La población experimental consistió en 26 organismos con un peso promedio de 3.7 gramos, excluyendo la concha. Como parte de las medidas preparatorias par el protocolo experimental, se aplicó un periodo de ayuno de tres días con acceso ilimitado a agua. Posteriormente a cada prueba, los animales recuperaron su acceso *ad libitum* tanto a comida como a agua. Los tanques de mantenimiento se situaron estratégicamente cerca del área de arena experimental para facilitar el transporte de los cangrejos y así minimizar el estrés asociado. Los procedimientos experimentales se basaron en un diseño de medidas repetidas, lo cual implicó la marcación de la concha y la quela de mayor tamaño con esmalte de uñas no tóxico al menos un día antes de cada experimento. Esta metodología permitió la identificación individual de los organismos a lo largo de las pruebas.

Con el propósito de asegurar la idoneidad de los participantes, se implementó una prueba de reactividad ante estímulos, descartando aquellos cangrejos que no recuperaron su posición normal en menos de un segundo cuando se les colocó sobre



su dorso (Carbó, 2013). Esta selección se fundamentó en la asociación de tiempos de reacción prolongados con una baja respuesta ante estímulos.

Durante todo el transcurso del experimento, se manejó a los animales bajo un completo cuidado, minimizando cualquier potencial sufrimiento y procurando reducir al máximo la cantidad de animales utilizados. Todos los individuos aparentaban buena salud y poseían todos sus apéndices intactos. Además, se excluyeron hembras ovígeras y organismos que hubieran mudado en la semana previa a los experimentos. Es relevante destacar que no se registró ninguna muerte de organismos ni mudas durante la realización de los experimentos.

Al finalizar los experimentos, los organismos fueron mantenidos en cautiverio durante todo su ciclo de vida, que tuvo una duración aproximada de dos años posteriores a las observaciones. Una vez que los organismos fallecieron de manera natural, fueron desechados de acuerdo con las directrices mencionadas anteriormente. .



3.3 Diseño experimental

Prueba de preferencia de alimento

La implementación de la prueba de preferencia de alimento tuvo como objetivo obtener un reforzador altamente efectivo para la especie de interés, *Coenobita compressus*. Se empleó un terrario de acrílico con dimensiones de 39.5 x 26 x 36 cm, revestido con una capa de 3 cm de arena húmeda como sustrato. Este entorno proporcionó un escenario adecuado para evaluar las preferencias alimenticias de este organismo.

En cada esquina del terrario se dispuso un recipiente que contenía un tipo diferente de alimento, con un total de cuatro opciones por prueba. La diversidad de alimentos presentados fue estratégicamente seleccionada, incorporando elementos cotidianos, conocidos y novedosos para el organismo en cautividad. La muestra incluyó tres alimentos habituales en la alimentación en cautiverio, (plátano, manzana y alimento seco para rata (pellets)); tres alimentos conocidos, (jamón, jitomate y maíz); y cuatro alimentos novedosos, como crema de cacahuate, carne de cerdo, frijoles y alimento seco para pez (pellets).

Con el propósito de estructurar un diseño experimental robusto, se configuraron cuatro arenas experimentales, cada una con combinaciones específicas de alimentos. En cada arena, se distribuyeron aleatoriamente cuatro opciones de alimentos, cumpliendo con condiciones predefinidas. Se estableció que una opción debería ser predominante en carbohidratos, mientras que otra en proteínas. Además, se garantizó



que al menos el 5/8 de las opciones alimenticias consistieran en alimentos novedosos, añadiendo un componente de exploración y descubrimiento a la prueba.

Para mitigar posibles sesgos en las preferencias debidos al orden de presentación de los alimentos, un grupo de 30 organismos evaluados individualmente se sometieron a la prueba una vez en cada arena experimental, siguiendo un orden aleatorio. De esta manera, se buscó maximizar la imparcialidad y obtener resultados fiables acerca de las preferencias alimenticias de la especie de estudio.

Durante el proceso de prueba, cada cangrejo fue colocado en el centro de la arena experimental y se le permitió explorar los diferentes alimentos durante un periodo de 5 minutos. Este enfoque temporal proporcionó el tiempo suficiente para observar las respuestas de preferencia, asegurando así la recopilación de datos significativos en relación con sus elecciones alimenticias.



3.4 Diseño experimental

Prueba de localización de alimento

La prueba de localización de alimento diseñada para cangrejos ermitaño semiterrestres se basó en el modelo previamente descrito para roedores por Fleming *et al.*, (2014), ofreciendo así una metodología que podría permitirnos evaluar la memoria espacial en estos crustáceos. La prueba ajustada para esta tesis, también se consideraron diseños experimentales adicionales para el estudio de memoria espacial, tomando como referencia a investigadores como Martínez (2019) para ratas, y Roudez *et al.* (2008) y Davies *et al.* (2019) para crustáceos braquiuros.

Se llevó a cabo un meticuloso proceso de estandarización que abarcó la arena experimental, la cantidad de sustrato, los alimentos utilizados y el tiempo de privación de alimento. Se realizaron múltiples ajustes al diseño experimental hasta que se cumplió con el propósito de adaptar y mejorar la prueba de alimento enterrado ecológicamente válida para cangrejos ermitaño lo suficientemente sensible para generar información adecuada para la evaluación de la memoria espacial allocéntrica en estos organismos.

Siguiendo las observaciones de Klappenbach *et al.*, (2017), respecto al efecto de la saciedad en las respuestas ante estímulos apetitosos, se optó por privar a los cangrejos de alimento durante los tres días previos al primer ensayo. Esta estrategia tuvo como objetivo nivelar los niveles de motivación relacionados con la sensación de hambre entre los sujetos experimentales, predisponiéndolos así a llevar a cabo búsquedas de alimento más activas durante los ensayos subsiguientes. La selección de



este período de privación se estableció para inducir una mayor disposición a la búsqueda de recursos alimenticios.

Se utilizó un terrario de acrílico con paredes opacas y dimensiones de 52 x 52 x 36 cm, diseñado específicamente para albergar una capa de 3 cm de arena húmeda, sirviendo como sustrato, la cual fue subdividida en cuatro cuadrantes de 26 cm por lado. Las determinaciones respecto a la profundidad del sustrato y la cantidad de agua a utilizar se basaron en las pautas establecidas por Larrañaga & Kruesi (2018). En el cuadrante superior izquierdo (UL), se colocó una plataforma plástica en la cual se dispusieron 2 gramos de un alimento altamente apetecible y nutricionalmente valioso, en este caso, crema de cacahuete de la marca "Hartleys", con el propósito de incentivar la exploración por parte de los animales.

La crema de cacahuete fue almacenada a temperatura ambiente. La cantidad de alimento colocada en la plataforma fue superior a la cantidad total que los cangrejos ermitaños podrían consumir en un solo día. Cabe destacar que la elección de la crema de cacahuete como objetivo alimenticio novedoso fue intencional, ya que este no forma parte de la dieta convencional de los cangrejos ermitaño. Además, es importante señalar que todos los animales utilizados en este diseño experimental no habían tenido contacto previo con este alimento ni lo habían olfateado antes de iniciar los experimentos.

La ubicación de la plataforma de alimentación siempre se realizó de manera consistente en la arena experimental antes de introducir al cangrejo a evaluar. Una vez que el cangrejo ingresó al área experimental, su movimiento fue temporalmente restringido mediante la colocación de un recipiente plástico durante un periodo de



aclimatación de un minuto. La ubicación de la plataforma de alimento y las pautas visuo-espaciales se mantuvieron constantes en todos los ensayos (Fukushi & Wehner, 2004). Las pautas visuo-espaciales estuvieron compuestas por objetos de diversos colores, tamaños y formas ubicados en la parte media de la línea divisoria entre cada cuadrante, posicionados a 7 cm de cada una de las paredes adyacentes (Figura 4).

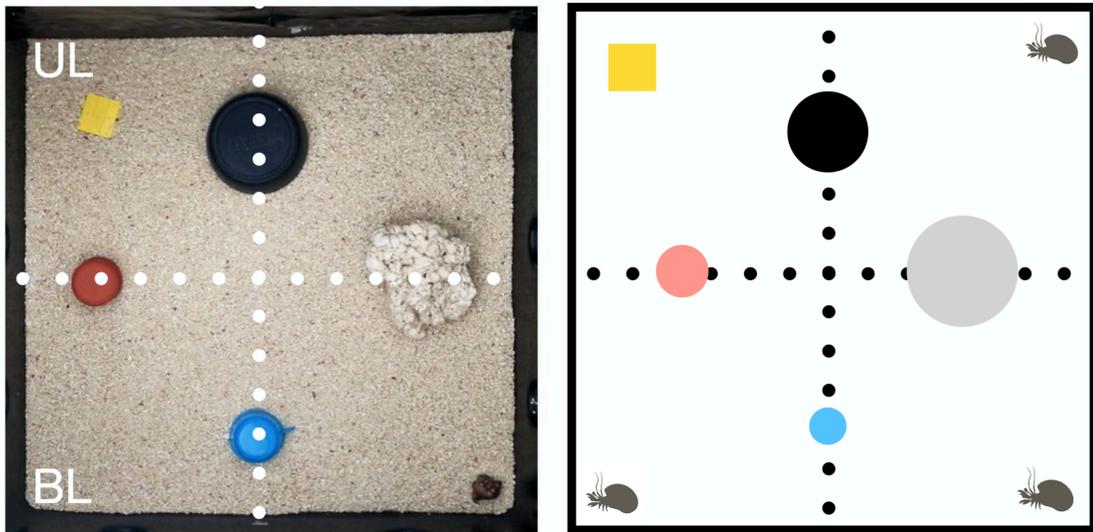


Figura 4. Esquema de la arena experimental. El diagrama muestra una vista aérea de la arena, los límites de los cuadrantes (líneas punteadas) y las posiciones de las señales visuales (círculos de colores). Las siluetas de cangrejo indican los puntos de inicio alternados utilizados durante las pruebas de entrenamiento, y el cuadrado amarillo muestra la ubicación objetivo (en el cuadrante superior izquierdo, UL). Otros cuadrantes están nombrados como superior derecho (UR), inferior izquierdo (BL) e inferior derecho (BR).

A diferencia de muchos vertebrados que exhiben neofobia alimenticia, de acuerdo a lo observado en la prueba de preferencia alimenticia, los cangrejos ermitaño, no manifiestan esta aversión. Por esta razón se optó por no llevar a cabo una familiarización previa con el alimento antes de la implementación del experimento.

Previamente al inicio del entrenamiento, se dedicaron tres días para que los animales se familiarizaran con la arena experimental y sus respectivas pautas visuales.



Este período de familiarización, con una duración de 5 minutos diarios, tenía como objetivo reducir la actividad exploratoria inducida por la novedad. Este enfoque estratégico permitió establecer un contexto experimental más controlado, donde los cangrejos ermitaño pudieron adaptarse progresivamente al entorno y, simultáneamente, minimizar la influencia de la curiosidad frente a estímulos novedosos.

La prueba de localización de alimento se desarrolla en dos fases, siendo la primera de ellas la fase de entrenamiento o adquisición. Durante este período, se ubicó al cangrejo en diferentes cuadrantes en cada ensayo, permitiéndole explorar la arena experimental durante 180 segundos. Cabe destacar que la plataforma objetivo se situó intencionalmente por debajo del horizonte visual, emitiendo únicamente estímulos olfativos para desafiar y evaluar la capacidad del cangrejo ermitaño en la detección de la recompensa alimenticia.

Esta fase de adquisición comprende un total de 11 ensayos consecutivos, con intervalos inter-ensayo establecidos en 300 segundos. El número de ensayos de entrenamiento se determinó en función de la búsqueda de una disminución asintótica en la latencia para llegar al objetivo. Durante estos intervalos, se revolvió el sustrato con el propósito de eliminar posibles pautas olfativas derivadas de la trayectoria anterior del cangrejo. Este procedimiento garantiza la ausencia de señales preexistentes que puedan influir en la respuesta del cangrejo en futuros ensayos.

La etapa de evocación se llevó a cabo a través de la realización de cuatro ensayos. El primero de ellos se destinó a evaluar la memoria de corto plazo, llevándose a cabo 5 minutos después de la conclusión de la fase de entrenamiento. Al enfocarnos en la memoria de corto plazo, se busca comprender cómo los cangrejos retienen y utilizan



la información espacial inmediatamente después del entrenamiento. Los tres ensayos restantes se enfocaron en la evaluación de la memoria de largo plazo, realizándose de manera individual en días específicos: el segundo, cuarto y séptimo después del periodo de entrenamiento. En cada uno de estos ensayos, se retiró el alimento y se permitió a cangrejos ermitaño explorar durante un período de 180 segundos.

Se capturaron los movimientos de los cangrejos ermitaño durante los ensayos mediante el uso de una cámara de video de alta definición (Canon 80D), configurada a 30 cuadros por segundo (fps). Esta configuración permitió una grabación detallada de las acciones de los cangrejos sin la necesidad de iluminación adicional, garantizando condiciones naturales, todas las sesiones de entrenamiento se realizaron con luz natural a las 11 am. La cámara estaba montada en un tripié para mantener la estabilidad durante las grabaciones. La información recopilada de los videos fue clave para registrar el tiempo que cada organismo tardó en llegar a la plataforma de alimentación, proporcionando datos sobre la latencia en la búsqueda del alimento. Además, se evaluó el tiempo de exploración por cuadrante durante los ensayos de evocación a corto y largo plazo, como se representa en la Figura 4.

Se implementaron precauciones específicas para minimizar la interferencia con el comportamiento natural de los cangrejos. Dada la sensibilidad de estos crustáceos a las señales de movimiento por encima de sus cabezas, las cuales a menudo provocan una retracción hacia sus conchas, se adoptaron medidas preventivas. En este sentido, se evitó la generación de movimientos o sombras que pudieran perturbar a los cangrejos durante el desarrollo de las pruebas, según lo propuesto por Tran (2015). La supervisión remota de la arena experimental garantizó un entorno controlado y libre de disturbios que pudieran influir en los resultados de la prueba.



El proceso de registro del tiempo de solución de la prueba de localización de alimento inicia una vez que el recipiente plástico, utilizado para contener al cangrejo durante la aclimatación a la arena experimental, es retirado. La latencia se mide hasta que el cangrejo toca la plataforma con sus antenas o quelípedos. En caso de que el cangrejo comience a alimentarse, se le permite continuar durante 5 segundos adicionales. La definición de éxito en esta tarea se establece en que el organismo sea capaz de localizar el alimento dentro del tiempo asignado para la prueba que fueron 180 segundos. En contraposición, se considera que un cangrejo ha fallado en la tarea si no logra localizar el alimento en el tiempo predeterminado. Inmediatamente después de cada ensayo, el cangrejo evaluado es devuelto a su tanque de mantenimiento con el resto de los animales de su grupo. Es importante destacar que, a pesar de que los animales se mantuvieron en grupos en los tanques de mantenimiento, fueron sometidos a las pruebas de manera individual a lo largo de todo el experimento.

3.4 Diseño experimental

Análisis estadístico

El análisis del efecto del entrenamiento en el tiempo para resolver la tarea se llevó a cabo mediante el empleo de un enfoque estadístico, utilizando un Modelo Lineal Mixto Generalizado (GLMM) (Bates *et al.*, 2019). Este modelo, basado en la distribución de Poisson, se seleccionó debido a la naturaleza de la variable de respuesta, compuesta por enteros positivos con una marcada asimetría izquierda. La elección de los GLMM permitió una mayor flexibilidad al especificar un parámetro de familia que se ajustara óptimamente a la distribución de los datos.



En la implementación de los modelos, el tiempo necesario para llegar a la plataforma se evaluó tanto como variable categórica (número de intento) como variable continua (horas transcurridas entre intentos), considerándose ambos como el variable de respuesta. Para abordar la variabilidad entre individuos, los datos se agruparon por cangrejo individual y se incorporaron interceptos aleatorios en el modelo.

La evaluación de la significancia de los efectos fijos se llevó a cabo mediante pruebas de razón de verosimilitud. Para asegurar la robustez de los resultados, se realizaron inspecciones de gráficos diagnósticos del modelo. Aunque los residuos exhibían una distribución simétrica, se identificó heterocedasticidad con sesgo hacia valores más bajos.

Adicionalmente, se exploró el tiempo dedicado a permanecer en el cuadrante que originalmente albergaba la recompensa en comparación con los demás cuadrantes. Esta comparación se realizó mediante pruebas *post hoc* de Tukey, proporcionando un análisis más detallado de las diferencias observadas.

En la presentación de resultados, se optó por ofrecer medidas resumidas como medianas y rangos intercuartílicos (IQR), tanto en el texto como en las figuras.

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando las herramientas R (R Core Team, 2021) y GraphPad Prism 9 (Radushev, 2021).



Resultados

4.1 Resultados

Prueba de preferencia de alimento

En el presente estudio se llevó a cabo una prueba de Kruskal-Wallis para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de 10 alimentos diferentes. Se consideró un nivel de significancia (alfa) de 0.05. El análisis incluyó 544 valores distribuidos en 10 tratamientos. Los resultados obtenidos indicaron un valor P menor a 0.0001, lo que sugiere que las diferencias entre las medianas de los grupos son significativas. El estadístico de Kruskal-Wallis fue de 96.49, corroborando la existencia de variaciones significativas entre los grupos. Además, se calculó el porcentaje de tiempo dedicado a cada alimento respecto al tiempo total de exploración de alimentos. Los colores indican la proporción de preferencia de alimento entre las 10 opciones ofrecidas, con un total de 26 organismos observados (n=26), lo que confirma la relevancia y significancia de estos resultados.

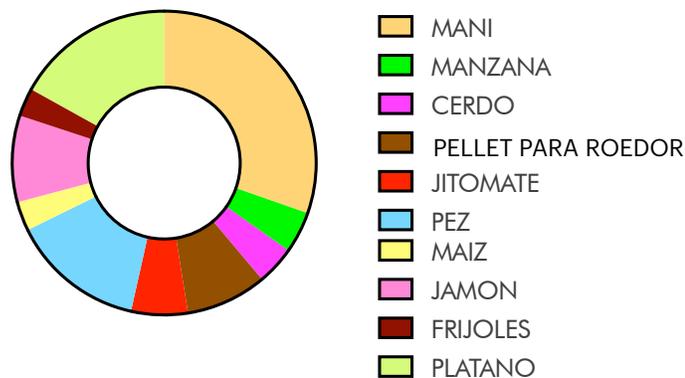


Figura 5. Preferencia de alimento. Porcentaje de tiempo en cada alimento respecto al tiempo total de exploración de alimentos. Los colores indican la proporción de preferencia de alimento entre las 10 opciones ofrecidas. n=26 organismos.



Se observó un patrón en los cangrejos ermitaño *Coenobita compressus*. Entre las opciones proporcionadas, se destacó una marcada inclinación hacia el alimento novedoso "crema de cacahuete". Esta preferencia significativa por este tipo específico de alimento, lo que sugiere un interés particular por sus características sensoriales o nutricionales (Figura 5).

En orden descendente, los cangrejos ermitaño también mostraron interés en el plátano y el alimento para peces en hojuelas. Sin embargo, cabe destacar que la crema de cacahuete fue notoriamente la opción preferida. Es importante tener en cuenta la composición nutricional de la crema de cacahuete, ya que está integrada por un 50% de lípidos, un 25% de proteínas y un 20% de carbohidratos.

4.2 Resultados

Prueba de localización del alimento

En los ensayos de entrenamiento, se esperó un incremento en el número de cangrejos capaces de superar la prueba en el tiempo establecido, independientemente del cuadrante inicial en cada ensayo y de la posición de la plataforma de alimento con respecto al horizonte visual.



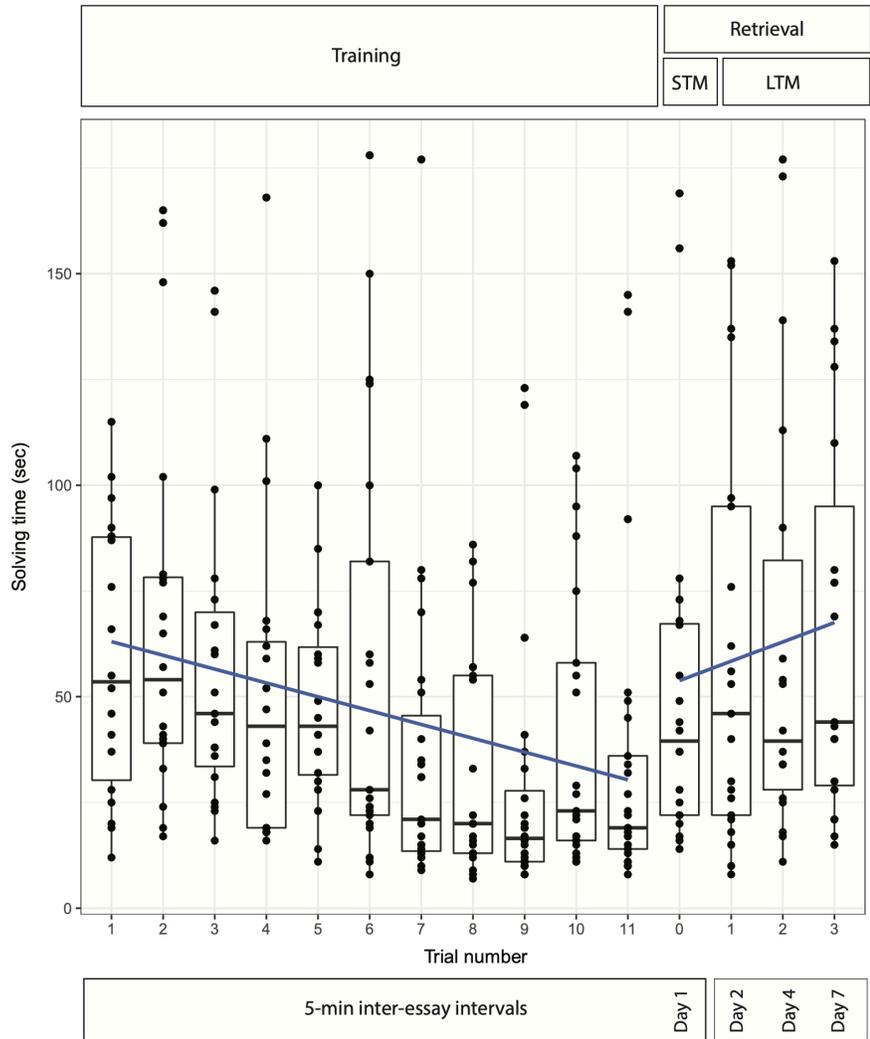


Figura 7. Latencia para alcanzar la ubicación de la recompensa durante el aprendizaje y la prueba. Las líneas azules sólidas representan una función que describe las fases de entrenamiento y recuperación de $n = 26$ cangrejos ermitaño modelados por un modelo lineal mixto de efectos generalizados (GLMM, por sus siglas en inglés). Los puntos (círculos cerrados) representan la latencia para cada cangrejo. Se presentan la mediana y los rangos intercuartílicos de la latencia en segundos. La disminución en la latencia para alcanzar el objetivo durante el entrenamiento y el aumento durante la recuperación de la memoria a corto y largo plazo fueron estadísticamente significativos.

Todos los cangrejos evaluados lograron localizar el alimento en al menos 9 de las 15 pruebas realizadas. Aquellos individuos que no alcanzaron la bandeja en un lapso de 180 segundos no fueron incluidos en el análisis estadístico de esa prueba en particular. A lo largo de 11 pruebas, los cangrejos fueron entrenados para encontrar la recompensa alimenticia. Durante esta fase de adquisición, observamos una disminución



y estadísticamente significativa en el tiempo necesario para resolver la tarea (Est = -0.09 ± 0.02 , $p < 0.001$), lo que indica que los cangrejos aprendieron la ubicación del alimento y alcanzaron la bandeja oculta más rápidamente a medida que aumentaba el número de pruebas (Figura 7).

Después de retirar el alimento a corto plazo, así como en las tres pruebas de memoria a largo plazo, observamos un aumento positivo y estadísticamente significativo en el tiempo necesario para llegar a la bandeja (Est = 0.11 ± 0.05 , $p = 0.03$). Se encontró un aumento estadísticamente significativo la latencia entre la última prueba de entrenamiento y la prueba de memoria a corto plazo (mediana = 19, RIC = 14-36 vs. mediana = 39.5, RIC = 22-67.25, $W = 26$, $p = 0.003$) sugiriendo que los cangrejos utilizaron tanto señales olfativas como visuales para encontrar el alimento, ya que en ausencia del estímulo olfativo la latencia aumentó. (Figura 7). De manera similar a la latencia, la distancia promedio recorrida para alcanzar la recompensa disminuyó durante el entrenamiento y posteriormente aumentó en las pruebas de retención de memoria. La pendiente entre la distancia recorrida y las pruebas de entrenamiento fue negativa pero no estadísticamente significativa (Est = -0.08 ± 0.02 , $p > 0.05$). De manera similar, la pendiente entre la distancia recorrida y las pruebas de evocación fue positiva pero no estadísticamente significativa (Est = 0.1 ± 0.06 , $p > 0.05$) (Figura 8).

Al igual que en el análisis de la latencia, excluimos las pruebas en las que los cangrejos no alcanzaron la comida. Sin embargo, en la prueba única de memoria a corto plazo y en las tres pruebas de evocación de memoria a largo plazo, los cangrejos pasaron significativamente más tiempo explorando en el cuadrante objetivo (superior izquierdo, UL) que en cualquier otro cuadrante de la arena. Tres de las cuatro ANOVAs



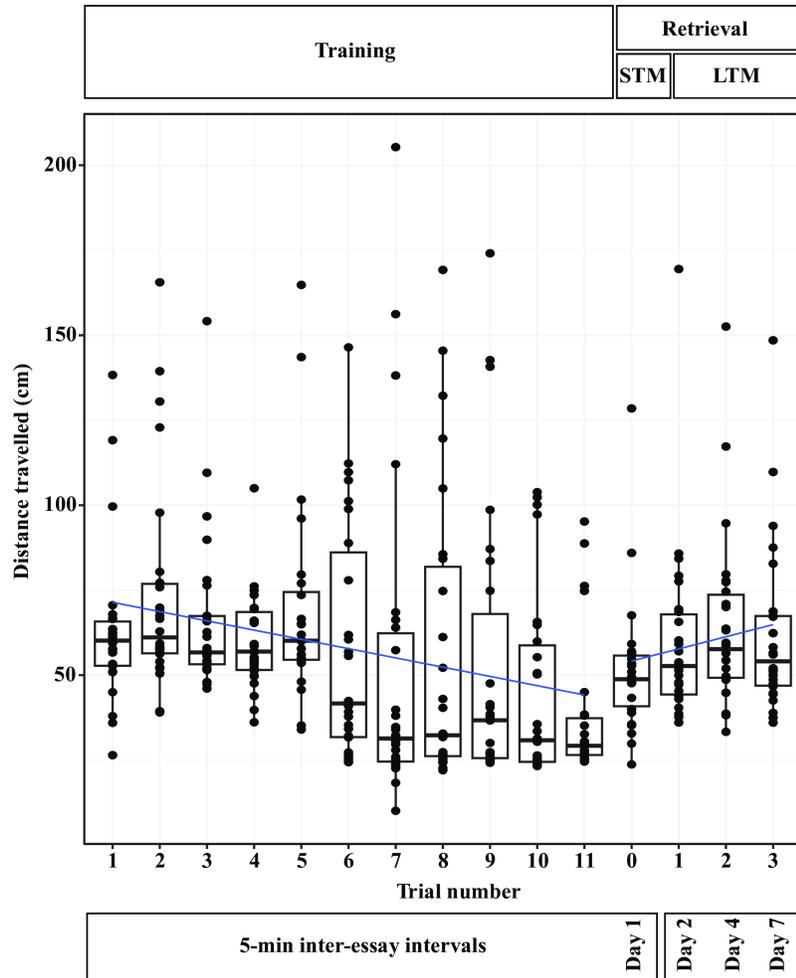


Figura 8. Distancia recorrida desde el punto de inicio hasta la ubicación de la recompensa durante el aprendizaje y la prueba. Las líneas azules sólidas representan una función que describe las fases de entrenamiento y recuperación de $n = 26$ cangrejos ermitaño, modeladas por un modelo lineal mixto de efectos generalizados (GLMM). Los puntos (círculos cerrados) representan la distancia para cada cangrejo. Se presentan la mediana y los rangos intercuartílicos de la distancia en centímetros. La disminución en la distancia para alcanzar el objetivo durante el entrenamiento y el aumento durante la recuperación de la memoria a corto y largo plazo siguieron la tendencia esperada pero no fue estadísticamente significativa.

que compararon el porcentaje de actividad entre los cuadrantes fueron estadísticamente significativas (Día 1: $F(3) = 18.06$, $p < 0.001$; Día 2: $F(3) = 6.81$, $p < 0.001$; Día 4: $F(3) = 2.22$, $p = 0.09$; Día 7: $F(3) = 13.61$, $p < 0.001$); las pruebas *post hoc* de Tukey revelaron que la comparación entre UL y todos los demás cuadrantes fue



estadísticamente significativa para el día 1 y el día 7; solo BR vs UL y UR vs UL para el día 2, y UR vs UL para el día 4 (Figura 9).

Además, cuando se encontraron en el cuadrante UL, pasaron la mayor parte del tiempo sobre la ubicación precisa donde se escondía la recompensa alimenticia (misma ubicación que durante el entrenamiento) (día 1: $62.70 \pm 18.49\%$; día 2: $67.95 \pm 16.85\%$; día 4: $76.01 \pm 14.71\%$; día 7: $70.3 \pm 19.94\%$). El porcentaje de tiempo dedicado al lugar donde estaba el alimento indica que incluso en su ausencia, *C. compressus* podía encontrar su ubicación, presumiblemente basándose solamente en las señales visuales de la arena experimental que habían retenido en la memoria.

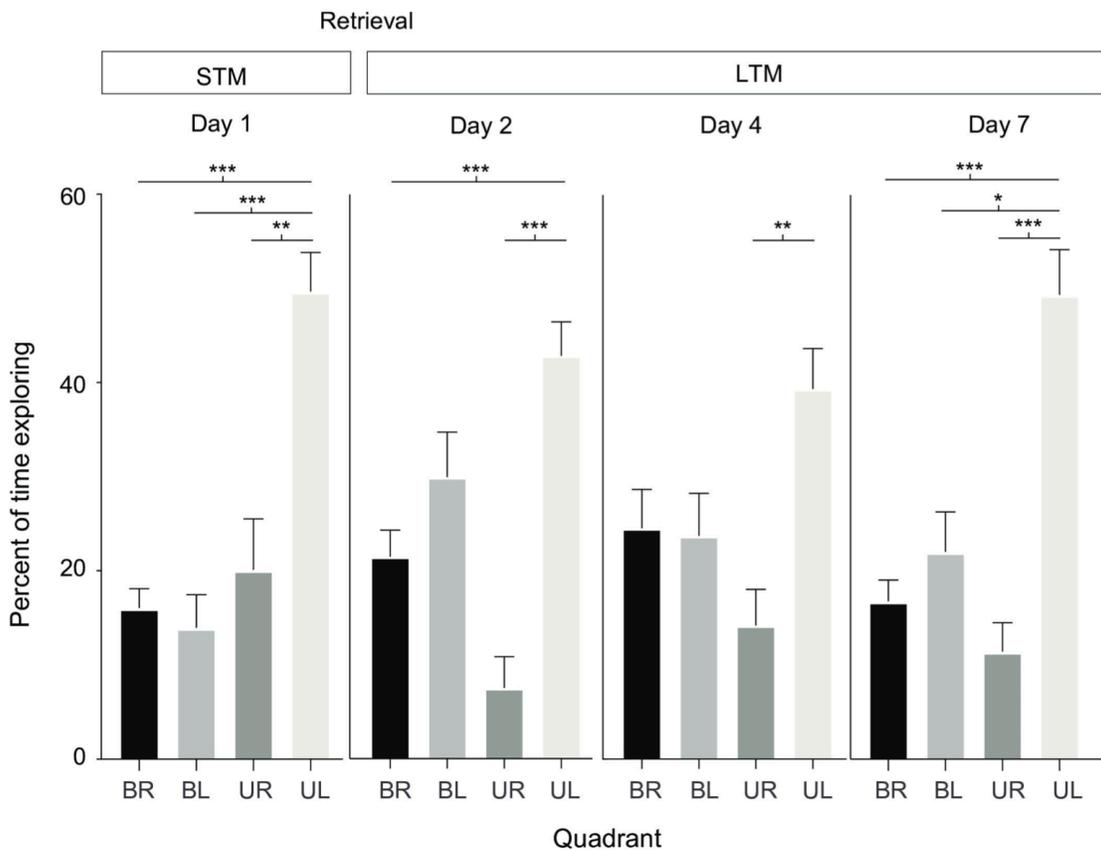


Figura 9. Porcentaje de tiempo explorando por cuadrante. Media porcentaje \pm SEM del tiempo dedicado a explorar activamente cada cuadrante para pruebas realizadas en los días 1, 2, 4 y 7. La significancia se especifica cómo * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, según los resultados de una prueba de Tukey.



Discusión General y Perspectivas a Futuro

5.1 *Coenobita compressus* es capaz de resolver la prueba de aprendizaje espacial aloécéntrico y mejorar su desempeño con base en la experiencia

Los resultados derivados del análisis de la latencia para alcanzar el alimento, aunados a los datos sobre la permanencia en el cuadrante objetivo durante la evocación de la memoria, respaldan la hipótesis de que *Coenobita compressus* es capaz de generar una memoria espacial aloécéntrica.

Este estudio revela que *C. compressus*, como cangrejo ermitaño semiterrestre, posee la capacidad de aprender la ubicación del alimento y de retener esta información espacial durante varios días. La evaluación de la memoria aloécéntrica en esta especie representa un avance significativo en la comprensión de las capacidades cognitivas de los cangrejos ermitaño, especialmente en lo que respecta al aprendizaje espacial durante el forrajeo.

El aporte de esta tesis se suma a la evidencia existente en estudios previos que sugieren habilidades de aprendizaje en anomuros, aunque no profundizan en su evaluación detallada. En su mayoría, estos estudios se centran en aspectos como el cambio de conchas (Hazlett, 1995; Hazlett, 1971, Hazlett, 1978), reconocimiento de conoespecíficos (Hazlett, 1969; Gherardi & Atema, 2003; 2005), transmisión social de información (Laidre, 2010), preferencia de alimentos (Thacker, 1996), solución de situaciones novedosas (Krieger *et al.*, 2020) y "homing" (Cannicci *et al.*, 1996, Vannini & Ruwa, 1994; Gherardi *et al.*, 1990). Aunque algunos investigan tareas "espaciales" simples, como la evasión de estímulos nocivos (Elwood & Appel, 2009) y la toma de



decisiones relacionadas con la arquitectura de las conchas en situaciones novedosas (Krieger *et al.*, 2020), ninguno se enfoca directamente en la evaluación de la memoria a largo plazo.

La falta de estudios dedicados a tareas complejas y relevantes para los cangrejos ermitaño, como el aprendizaje espacial durante el forrajeo, representa un área de interés con amplias posibilidades de desarrollo. Hasta ahora, no se cuenta con evidencia previa que respalde estudios de aprendizaje espacial aloentrico en estos crustáceos, aunque Davies *et al.* (2019) sugiere la presencia de esta habilidad en crustáceos en general. Este vacío en la literatura resalta la importancia que puede tener la presente investigación en la ampliación de nuestro conocimiento sobre las capacidades cognitivas de los cangrejos ermitaño.

5.2 *Coenobita compressus* utiliza pautas visuales y olfativas para la resolución de una tarea espacial.

En el presente estudio, exploramos el uso de pautas visuales y olfativas para la resolución de la tarea espacial. La adaptación completa de los coenobitidos a ambientes terrestres ha llevado al desarrollo de capacidades perceptuales específicas, como quimiorreceptores a moléculas hidrofóbicas, en marcado contraste con los cangrejos acuáticos, cuya respuesta se centra mayormente en moléculas hidrofílicas. Asimismo, existe evidencia de haber desarrollado habilidades visuales adecuadas para ambientes terrestres (Greenaway, 2003). Aunque existen limitados estudios sobre la arquitectura cerebral de los anomuros (Paul, 2003), algunas investigaciones (Harzsch & Hansson, 2008) han arrojado luz a este aspecto, particularmente en el contexto de la cognición en artrópodos, donde los crustáceos aún no han recibido la atención que



merecen (Krieger *et al.*, 2020) como un campo de estudio que puede tener ventajas sobre los insectos como modelo. En específico, respecto a la memoria espacial, aunque existen estudios ya clásicos como Yerkes (1902), se siguen usando arreglos más simples que aquellos utilizados para la investigación en insectos (Davies *et al.*, 2019).

Este estudio diseñado para la evaluación de la memoria espacial aloécéntrica mostró que las pautas visuales son esenciales en el proceso de aprendizaje espacial en esta especie. Sin embargo, la preferencia por mantenerse cerca del lugar donde se hallaba el alimento durante los ensayos de evocación es la evidencia principal de que se trata de una memoria basada exclusivamente en las señales visuales. Este hallazgo se alinea con investigaciones anteriores sobre *C. compressus*, como el trabajo de Laidre (2010), así como estudios en el braquiuro *Sersama leptosoma* (Vannini & Cannicci, 1995) en vida libre y el braquiuro *Neohelice granulata* en un estudio de laboratorio (Carbó, 2013). En estos casos, se ha sugerido previamente que las pautas visuales desempeñan un papel clave en el reconocimiento espacial alócentrico, superando incluso a la información química.

El estudio de Laidre (2010), añade un matiz interesante, ya que observó que los individuos forrajean en solitario prestan mayor atención a las pautas visuales provenientes de agregaciones de organismos de la misma especie, especialmente al movimiento, en comparación con las señales asociadas al recurso alimenticio. Sin embargo, es importante señalar que esta interpretación podría verse afectada por el diseño experimental específico de ese estudio.

En el marco de nuestro estudio, se observa de manera destacada que, a distancias inferiores a 30 cm y cuando los cangrejos ermitaño se encuentran en solitario, estos reaccionan directamente a las pautas asociadas al recurso (recompensa



alimenticia palatable) y a las pautas ambientales. Este comportamiento sugiere una respuesta más inmediata y específica a estímulos visuales cercanos, resaltando su importancia en la toma de decisiones.

Nuestras observaciones encuentran respaldo en estudios previos, como el realizado por Reinhard *et al.* (2006) en abejorros. Estos autores señalan la existencia de un procesamiento de información modular en insectos, con conexiones laterales entre diferentes módulos. Por ejemplo, se ha observado que el aprendizaje contextual de olores y estímulos visuales puede estar interrelacionado, lo que respalda la idea de que la memoria espacial allocéntrica en los cangrejos ermitaño también podría ser el resultado de una red de conexiones complejas entre diferentes estímulos, sugiriendo que el sistema cognitivo de los cangrejos ermitaño podría operar bajo principios similares a los observados en insectos.

Existe evidencia en otros artrópodos, como ciertos tipos de hormigas, que dependen de puntos de referencia visuales, tales como construcciones, objetos, árboles o incluso cambios en la elevación del sustrato, para determinar su posición espacial y desarrollar rutas (Fukushi & Whener, 2004; Fukushi, 2001). Este fenómeno sugiere una capacidad innata en algunos organismos para utilizar información visual externa en la navegación y orientación espacial.

5.3 *Coenobita compressus* usa señales olfativas para ubicar el alimento con más eficiencia.

En consistencia con lo previamente reportado para el braquiuro *Carcinus granulatus* (Yerkes, 1902), hemos observado que, como resultado de 11 entrenamientos



consecutivos, *Coenobita compressus* tiende a reducir la latencia para localizar la plataforma con alimento. No obstante, es importante señalar que este estudio reveló dos fenómenos distintos: la percepción de un estímulo relevante y la memoria espacial allocéntrica.

La evidencia obtenida indica que *C. compressus* se vale de las pautas olfativas como un factor motivacional esencial para dirigir su comportamiento hacia la ubicación eficiente del alimento. Esta dependencia en las señales olfativas sugiere una conexión intrínseca entre la percepción quimiosensorial y la respuesta conductual del cangrejo ermitaño. Este hallazgo refuerza la importancia de considerar no solo la memoria espacial allocéntrica, sino también la influencia de los estímulos olfativos en la toma de decisiones y la conducta exploratoria de *C. compressus*. Este fenómeno podría estar relacionado con la optimización de estrategias de búsqueda, respaldando la idea de que la eficiencia en la localización del alimento se mejora con la experiencia.

Durante el entrenamiento, la detección quimiosensorial del objetivo, en este caso la crema de cacahuete, fue un factor relevante para motivar la conducta de búsqueda de los cangrejos ermitaño, ya que en los ensayos sin alimento la latencia fue aumentando paulatinamente, revelando la importancia del estado motivacional de los animales en la expresión de esta conducta, una observación que respalda los hallazgos previos de Klappenbach *et al.* (2017), Elwood & Appel (2009), y Cahill & MacGaugh (1996). En concordancia con estos resultados, Jackson & Elwood (1990), observaron cambios en la tendencia de los animales a responder a distractores durante la ejecución de una actividad, destacando la estrecha relación entre dicha tendencia y el estado motivacional. Este fenómeno refleja la plasticidad del comportamiento en función de la información contextual, un aspecto relevante para la adquisición de la memoria espacial allocéntrica en los cangrejos. Otro hallazgo importante fue que la motivación de los cangrejos no disminuyó en presencia de alimento. De acuerdo con las investigaciones de Tran (2015), los estímulos alimenticios novedosos son recursos valiosos para estos crustáceos carroñeros generalistas, como es el caso de *C. compressus*. Es importante tener en cuenta que los diseños experimentales que implican reforzadores apetitivos suelen usar la privación del recurso (agua, comida, etc) para intensificar la motivación (Morrow & Smithson, 1969). En este estudio, la crema de cacahuete resultó ser como un



estímulo alimenticio novedoso especialmente atractivo para los cangrejos, lo cual resalta la importancia de seleccionar estímulos que no solo despierten el interés, sino que actúen cómo catalizadores efectivos de la motivación.

Estos crustáceos exhiben mecanismos sensoriales innatos que les permiten discriminar entre objetos comestibles y no comestibles desde el primer encuentro, prescindiendo de la necesidad de un aprendizaje asociativo previo (Tran, 2015; Wight *et al.*, 1990). Este hallazgo constituye una respuesta singular en comparación con taxones como aves y mamíferos.

En el contexto del forrajeo, se ha observado que el reforzamiento de un olor novedoso en estos cangrejos se produce cuando ingieren el alimento novedoso después de su detección sensorial (Tran, 2015). Este fenómeno implica una relación directa entre la percepción sensorial y la experiencia alimentaria, marcando un contraste significativo con las expectativas derivadas de estudios en otras especies. Como parte integral del protocolo experimental desarrollado en esta investigación, se consideró fundamental permitir que los cangrejos ermitaño ingirieran la crema de cacahuate durante el estudio condicionado. Esta estrategia tuvo como objetivo mantener una línea base sólida de respuestas conductuales a los olores del alimento novedoso, contribuyendo así a la validez y robustez de los resultados obtenidos.

En relación con la influencia de los estímulos olfativos durante el desarrollo del experimento, es fundamental considerar la evolución del sentido de la olfacción a distancia en los coenobitidos, el cual se manifiesta de manera conductualmente relevante, y se centra en el primer par de antenas (Harzsch & Hansson, 2008). Este sentido les confiere la habilidad de detectar fuentes de alimento a distancias notables, alcanzando hasta 5 metros de distancia (Dunham & Gilcrist, 1988; Rittschof, 1992). No



obstante, persiste la controversia en cuanto a la existencia de un sistema de secreción de olores hacia el sustrato que les permita resolver eficazmente problemas espaciales (Vannini & Cannici, 1995).

Es importante contrastar nuestros hallazgos con investigaciones previas, como la de Greenaway (2003), quien señaló que los coenobitidos tienden a ser atraídos por olores de alimentos que no han ingerido recientemente en comparación con aquellos que forman parte de sus anteriores eventos alimenticios o que han sido consumidos en las últimas 24 horas, (Thacker, 1996). Nuestros resultados parecen no seguir esta tendencia, pero en nuestro caso, se trata de un fenómeno distinto ya que los animales fueron expuestos al alimento novedoso en una sola sesión, además de que se privaron durante tres días antes de iniciar los experimentos. Esta privación podría haber influido en su conducta, predisponiéndolos a una respuesta más activa frente al estímulo alimenticio. Esto implica que la percepción de la fuerza del estímulo incondicionado puede variar según el estado interno del animal, como su necesidad de alimento (Pompilio *et al.*, 2006). Además, los cangrejos utilizados en nuestro experimento no tuvieron acceso a otras opciones alimenticias durante el periodo de prueba.

La morfología de los cuerpos pedunculados en insectos generalistas, como se ha observado en estudios previos sobre escarabajos (Reinhard *et al.*, 2004), sugiere una mayor compartimentalización en comparación con especies con dietas más especializadas, como las abejas. Este fenómeno podría tener implicaciones significativas para los crustáceos generalistas, como los cangrejos ermitaño. En el caso de los insectos generalistas, la estructura de los cuerpos pedunculados ha sido asociada no solo con la percepción quimiosensorial, como comúnmente ocurre en la



mayoría de los insectos, sino también con la inervación que conecta con los lóbulos ópticos (Chittka & Niven, 2009). Esta particularidad podría indicar la posibilidad de desarrollo evolutivo de nuevas funciones cognitivas en estos organismos. Específicamente, la presencia de neuronas que representan variables combinando distintas fuentes de información sensorial es menos común en artrópodos como los insectos, en comparación con grupos como los vertebrados (Chittka & Niven, 2009).

La extrapolación de éstos hallazgos a los crustáceos, y más específicamente a los cangrejos ermitaño, plantea la hipótesis de que aquellos con una dieta generalista, como *C. compressus*, podrían exhibir una mayor integración sensorial en comparación con otros miembros del infraorden Anomura más especializados. Este patrón sugeriría la existencia de una conexión entre la morfología de los cuerpos pedunculados y la capacidad de integración sensorial, proporcionando así una base para explorar y comprender la evaluación de la memoria espacial allocéntrica en estos crustáceos.

5.4 *Coenobita compressus* presenta una persistente memoria espacial allocéntrica de largo plazo.

En la presente investigación, se ha constatado que los cangrejos ermitaño exhiben una notable memoria espacial allocéntrica de largo plazo, evidenciada a lo largo de los 7 días que abarcó la prueba. Estos resultados guardan similitud con los hallazgos de Davies *et al.* (2019), quienes, al evaluar el aprendizaje espacial egocéntrico en crustáceos braquiuros, observaron patrones de retención a largo plazo. Es relevante destacar que, hasta el momento, no se había evaluado la persistencia de la memoria espacial allocéntrica en el infraorden Anomura, a pesar de las sugerencias de Gherardi &



Atema (2005), basadas en estudios conductuales de reconocimiento individual y de Wight & Elridge (1900), basadas en aprendizaje de aversión alimentaria. Es preciso señalar que dichos estudios no fueron concebidos desde la perspectiva de la evaluación de la memoria espacial allocéntrica.

Adicionalmente, al explorar evaluaciones de aprendizaje episódico centradas en el reconocimiento olfativo de presas, Hazlett (1994), informó que los animales pueden evocar estas memorias incluso hasta tres semanas después de la experiencia inicial. Este descubrimiento resalta la capacidad de retención de información en cangrejos ermitaño y amplía la comprensión sobre la persistencia temporal de su memoria. En consonancia con la evidencia neurológica proporcionada por estudios en el braquiuro *Chasmagnathus granulata*, se respalda la existencia funcional de sistemas de memoria a corto y largo plazo en crustáceos (Tomsic *et al.*, 2003).

En el transcurso de las evocaciones, los cangrejos ermitaño, al percatarse de la falta de alimento en la ubicación previamente aprendida, optaron por permanecer en el cuadrante respectivo por un período de tiempo antes de explorar otros cuadrantes y en repetidas ocasiones volvieron al cuadrante donde alguna vez encontraron el alimento. Este comportamiento guarda similitud con las observaciones realizadas por Laidre (2010). Además, se concuerda con los hallazgos de Tran (2015), quién demostró que los cangrejos ermitaño mantienen su atracción hacia olores asociados con predicciones pasadas sobre la disponibilidad de recursos alimenticios. En consecuencia, la persistente memoria a largo plazo exhibida por *C. compressus* podría ser consecuencia de los múltiples refuerzos experimentados durante el estudio condicionado.



Es fundamental destacar que una breve reexposición al contexto del entrenamiento puede desencadenar la labilización y reconsolidación de la memoria formada el día anterior, como ha sido documentado por Pedreira *et al.* (2002), y Klappenbach *et al.* (2017). En conjunto, estos resultados sugieren la necesidad imperante de llevar a cabo investigaciones más detalladas para profundizar en las peculiaridades de la memoria a largo plazo en crustáceos.

5.5 El diseño experimental permite realizar estudios sobre los mecanismos subyacentes a la memoria de este grupo taxonómico.

A partir de los resultados obtenidos en este experimento, se ha logrado recabar evidencia conductual que respalda la existencia de un aprendizaje espacial aloentróico en cangrejos ermitaño terrestres, sugiriendo la presencia de características particulares asociadas a esta habilidad. La manifestación de un comportamiento exploratorio en estos organismos podría derivarse de la amplitud de su ámbito hogareño, relevante para un organismo de su talla. La naturaleza carroñera de estos cangrejos y su necesidad inherente de realizar cambios periódicos de conchas podrían estar vinculados a este comportamiento exploratorio, confirmando así la interrelación entre su comportamiento y su ecología.

Las similitudes encontradas en la arquitectura cerebral de los cangrejos ermitaño terrestres respecto a la de los insectos así como aspectos particulares como el tipo de interacción social presente en este grupo taxonómico, sugieren posibles convergencias evolutivas en los mecanismos subyacentes al aprendizaje superiores a las observadas en crustáceos marinos. Estas similitudes, aunque inesperadas a primera vista, proporcionan una nueva perspectiva sobre la capacidad cognitiva de los crustáceos terrestres,



desafiando la noción previamente arraigada de que los crustáceos marinos, como los Brachyura o Palinura, sean el foco principal de estudios en términos de aprendizaje y memoria en este grupo.

La neurobiología requiere de modelos experimentales capaces de abordar tareas cognitivas complejas, como el aprendizaje espacial. Aunque se ha profundizado en el estudio del aprendizaje espacial en vertebrados, como aves y mamíferos (Tang *et al.*, 1999), así como en algunos invertebrados, como cefalópodos e insectos, se observa una notable escasez de investigaciones centradas en grupos específicos, como los crustáceos. Los crustáceos se perfilan como modelos atractivos para el estudio del comportamiento debido a diversas ventajas, tales como la distribución de ganglios a lo largo del cuerpo, la simplicidad de su sistema neural y la presencia de neuronas gigantes, las cuales son idóneas para mediciones electrofisiológicas *in vivo* (Tomsic *et al.*, 2017; Elwood & Appel, 2009). Además, su capacidad para mantener colonias en cautiverio y su robustez frente a manipulaciones experimentales confieren a los crustáceos una posición conveniente para la investigación conductual. La comparación entre crustáceos e insectos como modelos para estudios neurobiológicos plantea interrogantes intrigantes, siendo uno de los puntos de discusión más relevantes la diferencia en el número de neuronas presentes. Mientras que insectos como las abejas han sido extensamente estudiados y se ha documentado un alto número de neuronas en sus cerebros (Menzel & Giurfa, 2001), los crustáceos, como los acociles, muestran una cantidad significativamente menor (Wiersma, 1957). Sin embargo, la evidencia disponible sugiere que esta diferencia en la complejidad neuronal no necesariamente correlaciona con variaciones en el repertorio conductual de los organismos. De hecho,



la simplicidad neuronal en crustáceos podría representar una ventaja, haciéndolos igualmente valiosos como modelos para investigaciones neurobiológicas.

Además, al explorar las similitudes morfológicas entre los centros de aprendizaje de hexápodos y anomuros, se destaca un parecido estructural notable entre los cuerpos olfatorios de los coenobitidos (llamelae y cuerpos hemielipsoides) y los neurópilos olfatorios secundarios de insectos (cuerpos pedunculados). Estas similitudes estructurales sugieren homología entre estas regiones, planteando la posibilidad de que las habilidades asociadas también sean compartidas (Harzsch & Hansson, 2008; Tomsic *et al.*, 2017). Intrigantemente, estas similitudes morfológicas son más cercanas a los hexápodos que a otras familias de anomuros, sugiriendo que podrían considerarse como un carácter distintivo de la familia Coenobitidae (Greenaway, 2003). La literatura, destaca que en insectos, los cuerpos pedunculados desempeñan un papel importante como centros neurológicos involucrados en procesos de memoria compleja (Wolff & Strausfeld, 2016).

La capacidad de *C. compressus* para responder positivamente a la prueba podría explicarse por la utilización de procesos de aprendizaje que tienen aplicaciones directas en las situaciones que estos cangrejos enfrentan en vida libre. Este fenómeno se encuentra respaldado por estudios anteriores que destacan la conexión entre los procesos cognitivos evaluados en entornos controlados y los comportamientos observados en condiciones de vida libre (Loukola *et al.*, 2017; Tomsic *et al.*, 2017; Morrow & Smithson, 1969).

En el ámbito de la investigación cognitiva animal, existe un enfoque que busca evaluar la flexibilidad conductual mediante paradigmas que actúan como abstracciones



de las situaciones que las especies encuentran de manera natural. En este sentido, esta propuesta visuo-espacial representa una contribución innovadora, en comparación con otras tareas que abordan la memoria espacial aloécéntrica. La novedad en esta propuesta radica en la incorporación de pautas visuales inmersas en la arena experimental, emulando así los puntos de referencia presentes en el entorno natural de los cangrejos, y manipulando variables específicas de relevancia para esta especie (Dicke & Roth, 2016).

Un aspecto distintivo de este enfoque es funcionar como un paradigma análogo a las condiciones que los coenobitidos experimentan durante sus rutinas de forrajeo, donde la presencia de recursos puede seguir un patrón cíclico. La disposición estratégica de objetos dentro de la arena experimental puede influir en la conducta de los cangrejos, sugiriendo la posibilidad de una reducción en los niveles de tigmotaxis en comparación con un espacio más abierto que provoque que los animales presenten una tendencia a permanecer cerca de los objetos.

Los estudios en laboratorio ofrecen condiciones controladas que facilitan la exploración de los procesos conductuales. Sin embargo, es importante reconocer que estos estudios, por sí solos, pueden limitar nuestra comprensión del comportamiento de los organismos en su hábitat natural y conducirnos a interpretaciones sesgadas (Tomsic *et al.*, 2017; Klappenbach *et al.*, 2017; Laidre, 2010; Briffa *et al.*, 2008). Para superar esta limitación, es recomendable utilizar diseños experimentales que sean versátiles y adaptables tanto para aplicaciones en el laboratorio como en el campo, permitiendo así evaluaciones bajo diversas condiciones comparables. El diseño experimental propuesto en esta tesis presenta la flexibilidad de adaptarse para evaluar posibles variaciones en la información utilizada por los cangrejos ermitaño en su entorno natural. Esto incluye investigar posibles diferencias en sus respuestas conductuales o en los umbrales de



memoria a corto y largo plazo. Además, se destaca la importancia de considerar factores diversos, como los ritmos circadianos (Pereyra *et al.*, 1996), la estacionalidad (Sztarker & Tomsic, 2008), las pautas de depredadores (Magani *et al.*, 2016) y la abundancia, esta última identificada previamente como una variable influyente en los comportamientos de escape en cangrejos braquiuros (Tomsic *et al.*, 2017).

El éxito de las especies durante el forrajeo está directamente vinculado a su capacidad para recordar la ubicación de los recursos a lo largo del tiempo, lo cual les confiere una ventaja significativa, especialmente en entornos donde los recursos son escasos (Miron *et al.*, 2005). Los estudios previos sobre el aprendizaje y la memoria espacial en braquiuros y astacideos han revelado variaciones en estas habilidades entre diferentes especies, con posibles implicaciones en su abundancia (Roudez *et al.*, 2008; Hazlett *et al.*, 2002). Sin embargo, hasta la fecha, no se ha llevado a cabo una evaluación exhaustiva de cómo las diversas tasas de aprendizaje en anomuros pueden incidir en su abundancia y adecuación. Los resultados de esta investigación podrían tener implicaciones más amplias en el contexto de la conservación y el manejo de los hábitats marinos, al proporcionar información valiosa sobre los factores que influyen en la persistencia y la viabilidad de las poblaciones de cangrejos ermitaño.

En el transcurso de nuestro estudio condicionado, hemos explorado en profundidad el condicionamiento operante en crustáceos a través de asociaciones simples, sometiendo a los organismos a tareas que incrementan en dificultad (Thorndike, 1970) y desafían los límites de sus habilidades cognitivas mediante un diseño experimental novedoso (de Wall, 2017). Alrededor del 70% (18 de 26) de los organismos resolvieron la tarea desde el primer ensayo, manifestando una tendencia general hacia la



reducción del tiempo necesario para localizar el alimento, en línea con los resultados obtenidos por Loukola *et al.* (2017), en abejorros.

Es esencial destacar la presencia de variación individual en nuestros resultados, una observación consistente con estudios previos en crustáceos (Boogert *et al.*, 2018; Mann & Patterson, 2013). Esta variabilidad se atenúa a medida que se incrementan los entrenamientos, aunque su presencia se intensifica a lo largo de las evocaciones. La existencia de esta variación individual durante la resolución de pruebas espaciales egocéntricas en crustáceos ya ha sido identificada por Yerkes (1902) y analizada por Davies *et al.*, (2019).

Es interesante señalar que, a pesar de estas variaciones individuales, no hemos observado resultados que validen la presencia de síndromes conductuales específicos en pruebas espaciales de carácter allocéntrico. No se evidencia una significativa tendencia individual hacia conductas exploratorias o de carácter novedoso, a diferencia de lo reportado en estudios anteriores (Briffa *et al.*, 2008; Krieger *et al.*, 2020). No obstante, este aspecto sigue siendo un tema de interés tanto a nivel funcional (próximo) como evolutivo (último), especialmente considerando las demostraciones previas de la existencia de tales síndromes conductuales en crustáceos anomuros bajo distintos contextos (Briffa *et al.*, 2008).

Una línea de investigación a explorar se relaciona con la existencia de aprendizaje social en el grupo, un aspecto que ha sido señalado por Hoppitt y Laland (2013), como un factor capaz de potenciar la eficiencia en los procesos de aprendizaje. Cabe destacar que *C. compressus*, se ha revelado como un crustáceo altamente sensitivo a las señales de sus conespecíficos para la obtención de alimentos, refugio o pareja (Laidre & Trinh, 2014). A nivel próximo, durante la fase de forrajeo en solitario,



muestra la capacidad de percibir las perturbaciones en la densidad de conespecíficos a su alrededor. En respuesta a estas se dirige hacia áreas de alta agrupación y actividad, especialmente aquellas donde las agregaciones se han formado recientemente alrededor de recursos (Laidre, 2010). En zonas donde los organismos son numerosos, la localización de recursos a distancia podría verse facilitada socialmente. Este fenómeno permitiría que los animales que forrajean en solitario logren identificar los recursos alimenticios mediante la observación de sus conespecíficos, más allá de depender únicamente de la detección directa del recurso *per se* (Kurta, 1982). Esta observación sugiere una compleja red de interacciones sociales y comportamientos adaptativos en *C. compressus*, lo cual plantea la necesidad de investigaciones adicionales para profundizar en la comprensión de los mecanismos subyacentes y las implicaciones ecológicas de este fenómeno.

En este sentido, futuras investigaciones podrían focalizarse en la elaboración de experimentos específicos para evaluar la naturaleza del aprendizaje social en este organismo. Se podrían diseñar escenarios que reproduzcan situaciones de forrajeo y toma de decisiones en presencia y ausencia de conespecíficos, con el fin de discernir el impacto de las interacciones sociales en los patrones de comportamiento de *C. compressus*.

En este estudio, se ha evidenciado que *C. compressus* exhibe una capacidad para resolver tareas visuo-espaciales complejas, lo cual suma a las ventajas previamente demostradas en crustáceos malacostrácos, consolidándolos como posibles modelos experimentales comparables con vertebrados. En las últimas dos décadas, los crustáceos han contribuido en diversos campos de la neurobiología, destacando al



estudio de los procesos de toma de decisiones (Herberholz & Maquart, 2012) y los mecanismos de consolidación de la memoria (Pedreira & Maldonado, 2003).



Conclusiones

El cangrejo ermitaño semiterrestre del Pacífico, *Coenobita compressus*, ha revelado una capacidad para resolver y mejorar su desempeño en pruebas complejas de aprendizaje espacial aloentrico a travs de la experiencia, demostrando una memoria persistente a largo plazo. Este estudio no solo valida la capacidad de *C. compressus* para aprender la ubicaci3n de estmulos alimenticios utilizando seales olfativas y visuales, sino que tambi3n destaca su capacidad para retener memorias espaciales aloentricas largo plazo basadas exclusivamente en seales visuales, persistiendo hasta siete d1as.

La influencia combinada de patrones visuales y olfativos de diversos or1genes en la formaci3n de la memoria espacial de *C. compressus* desempe1a un papel clave en la motivaci3n del organismo y en la expresi3n de conductas orientadas hacia la eficiencia. En este contexto, nuestro trabajo resalta la habilidad de *C. compressus* para resolver tareas de aprendizaje visuo-espacial complejas, posicion3ndolo como un potencial sistema modelo dentro de los crust3ceos malacostr3cos.



Referencias Bibliográficas

Aguado-Aguilar, L. (2001). Aprendizaje y memoria. *Revista de neurología*, 32(4), 373-381.

<http://dx.doi.org/10.33588/rn.3204.2000154>

Alem, S., Perry, C. J., Zhu, X., Loukola, O. J., Ingraham, T., Søvik, E., & Chittka, L. (2016).

Associative mechanisms allow for social learning and cultural transmission of string pulling in an insect. *PLoS Biology*, 14(10), e1002564. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.1002564>

Barnes, D. K. (1997). Ecology of tropical hermit crabs at Quirimba Island, Mozambique: vertical migration (tree climbing). *Marine Ecology Progress Series*, 158, 233-240.

Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., & Walker, S. (2019). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>

Bateson, P. (1991). Assessment of pain in animals. *Animal Behaviour*, 42(5), 827-839. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472\(05\)80127-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472(05)80127-7)

Barrows, E. M., Bell, W. J., & Michener, C. D. (1975). Individual odor differences and their social functions in insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(7), 2824-2828. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.72.7.2824>

Bechtel, W. (2013). Seminar description for "Cognitive Biology" in the "Cognitive Science 200" series for "Fall, 2013" at University of California, San Diego. Retrieved from <http://mechanism.ucsd.edu/teaching/f13/cs200/>



Beecher, M. D. (1989). Signalling systems for individual recognition: an information theory approach. *Animal Behaviour*, 38(2), 248-261. [http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472\(89\)80087-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0003-3472(89)80087-9)

Boal, J. G., Dunham, A. W., Williams, K. T., & Hanlon, R. T. (2000). Experimental evidence for spatial learning in octopuses (*Octopus bimaculoides*). *Journal of Comparative Psychology*, 114(3), 246. <http://dx.doi.org/10.1037/0735-7036.114.3.246>

Bob B.M. Wong, Ulrika Candolin, Behavioral responses to changing environments, *Behavioral Ecology*, Volume 26, Issue 3, May-June 2015, Pages 665–673, <https://doi.org/10.1093/beheco/aru183>

Boisvert, M. J., & Sherry, D. F. (2006). Interval timing by an invertebrate, the bumble bee *Bombus impatiens*. *Current Biology*, 16(16), 1636-1640.

Boogert, N. J., Madden, J. R., Morand-Ferron, J., & Thornton, A. (2018). Measuring and understanding individual differences in cognition. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 373, 20170280. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2006.09.003>

Boles, L. C., & Lohmann, K. J. (2003). True navigation and magnetic maps in spiny lobsters. *Nature*, 421(6918), 60-63.

Botello, A. V., Toledo, A. O., de la Lanza-Espino, G., & Villanueva-Fragoso, S. (2000). The Pacific Coast of Mexico.

Briffa, M., & Elwood, R. W. (2005). Metabolic consequences of shell choice in *t*: do hermit crabs prefer cryptic or portable shells?. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 59(1), 143-148. <http://dx.doi.org/10.1007/s00265-005-0020-0>



Briffa, M., Rundle, S. D., & Fryer, A. (2008). Comparing the strength of behavioural plasticity and consistency across situations: animal personalities in the hermit crab *Pagurus bernhardus*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1640), 1305-1311. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2008.0025>

Briffa, M., Arnott, G., & Hardege, J. D. (2024). Hermit crabs as model species for investigating the behavioural responses to pollution. *Science of the Total Environment*, 906, 167360.

Brodie, R. J. (1998). Movements of the terrestrial hermit crab, *Coenobita clypeatus* (Crustacea, Coenobitidae). *Revista de Biologia Tropical*, 46(Suppl. 4), 181-185.

Bueno-Guerra, N., & Amici, F. (Eds.). (2018). *Field and laboratory methods in animal cognition: a comparative guide*. Cambridge University Press. <http://dx.doi.org/10.1017/9781108333191>

Cahill, L., & McGaugh, J. L. (1996). Modulation of memory storage. *Current opinion in neurobiology*, 6(2), 237-242. [http://dx.doi.org/10.1016/S0959-4388\(96\)80078-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0959-4388(96)80078-X)

Cannicci, S., Ritossa, S., Ruwa, R. K., & Vannini, M. (1999). The influence of selection of food patches by herbivorous crabs on the architecture of Kenyan mangroves. *Marine Biology*, 134(2), 309-316.

Cannicci, S., Ritossa, S., Ruwa, R. K., & Vannini, M. (1996). Tree fidelity and hole fidelity in the tree crab *Sesarma leptosoma* (Decapoda, Grapsidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 196(1-2), 299-311. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-0981\(95\)00136-0](http://dx.doi.org/10.1016/0022-0981(95)00136-0)



Carbó Tano, M. (2013). Rol del sistema GABAérgico sobre las distintas fases de la memoria de extinción en el cangrejo *Neohelice granulata* (Doctoral dissertation, Tesis doctoral (dir. ME Pedreira) Fac. Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina). www.digital.bl.fcen.uba.ar).

Changizi, M. A. (2013). The brain from 25,000 feet: High level explorations of brain complexity, perception, induction and vagueness (Vol. 317). Springer Science & Business Media. <http://dx.doi.org/10.1007/978-94-017-0293-5>

Chelazzi, G. (1992). Invertebrates (excluding arthropods). Animal homing (pp. 19-43). Springer, Dordrecht. http://dx.doi.org/10.1007/978-94-011-1588-9_2

Chersi, F., & Burgess, N. (2015). The cognitive architecture of spatial navigation: hippocampal and striatal contributions. *Neuron*, 88(1), 64-77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuron.2015.09.021>

Chittka, L., & Niven, J. (2009). Are bigger brains better? *Current Biology*, 19(21), R995-R1008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2009.08.023>

Collett, T. S., & Kelber, A. (1988). The retrieval of visuo-spatial memories by honeybees. *Journal of Comparative Physiology A*, 163(1), 145-150. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00612004>

Collett, M. (2009). Spatial memories in insects. *Current Biology*, 19(24), R1103-R1108. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2009.10.004>

Croll, R. P., & Chase, R. (1980). Plasticity of olfactory orientation to foods in the snail *Achatina fulica*. *Journal of Comparative Physiology*, 136(3), 267-277.



Crump, A., Browning, H., Schnell, A., Burn, C., & Birch, J. (2022). Sentience in decapod crustaceans: A general framework and review of the evidence. *Animal Sentience*, 7(32), 1.

Dacke, M., & Srinivasan, M. V. (2008). Evidence for counting in insects. *Animal cognition*, 11(4), 683-689. <http://dx.doi.org/10.1007/s10071-008-0159-y>

Dall, S. R. X., Houston, A. I. & McNamara, J. M. (2004) The behavioral ecology of personality: consistent individual differences from an adaptive perspective. *Ecol. Lett.* 7, 734–739. (doi:10.1111/j.1461-0248.2004.00618.x)

Dale, K., Harland, D. P., Manning-Jones, A., & Collett, T. S. (2005). Weak and strong priming cues in bumblebee contextual learning. *Journal of experimental biology*, 208(1), 65-74. <http://dx.doi.org/10.1242/jeb.01370>

Davies R, Gagen MH, Bull JC, Pope EC. (2019) Maze learning and memory in a decapod crustacean. *Biol. Lett.* 15: 20190407. <http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2019.0407>

Desouhant, E., Lucchetta, P., Giron, D., & Bernstein, C. (2010). Feeding activity pattern in a parasitic wasp when foraging in the field. *Ecological Research*, 25(2), 419-428.

Dere, E., Kart-Teke, E., Huston, J. P., & Silva, M. D. S. (2006). The case for episodic memory in animals. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 30(8), 1206-1224.

Dicke, U., & Roth, G. (2016). Neuronal factors determining high intelligence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1685), 20150180.



Domjan, M. (2005). Pavlovian conditioning: A functional perspective. *Annual Review Psychology*, 56, 179-206.

Domjan, M. (2007). *Principios de aprendizaje y conducta*. Editorial Paraninfo.

Drummond, H. (2006). Dominance in vertebrate broods and litters. *The Quarterly Review of Biology*, 81(1), 3-32.

Durrieu, M. (2021). Behavioural, molecular and cellular bases of ambiguous learning and memory in *Drosophila* (Doctoral dissertation, Université Paul Sabatier-Toulouse III).

Dugatkin, L. A. (1997). Winner and loser effects and the structure of dominance hierarchies. *Behavioral Ecology*, 8(6), 583-587.

Dunham, D. W., & Gilchrist, S. L. (1988). Behaviour. Pp. 97-137 in: Burggren, W.W., and McMahon, B.R. (eds.), *Biology of the land crabs*. Cambridge University Press: New York.

Edwards, M. (1836). Observations zoologiques sur les pagures et description d'un genre nouveau de la tribu des Paguriens. In *Annales des Sciences Naturelles, Zoologie* (Vol. 6, pp. 257-288).

Elwood, R. W., & Appel, M. (2009). Pain experience in hermit crabs? *Animal Behaviour*, 77(5), 1243-1246.

Fahrbach, S. E., Farris, S. M., Sullivan, J. P., & Robinson, G. E. (2003). Limits on volume changes in the mushroom bodies of the honey bee brain. *Journal of neurobiology*, 57(2), 141-151.

Feld, M., Locatelli, F., Freudenthal, R., Merlo, E., & Romano, A. (2003). Bases moleculares de la memoria ¿Qué nos enseña el cangrejo?. *Química Viva*, 2(2), 64-78.



Fukushi, T. (2001). Homing in wood ants, *Formica japonica*: use of the skyline panorama. *J. Exp. Biol.* 204, 2063-2072.

Fukushi T, Wehner R (2004) Navigation in wood ants *Formica japonica*: context dependent use of landmarks. *J Exp Biol* 207(19):3431–3439.

Fustiñana, M. S., Tano, M. C., Romano, A., & Pedreira, M. E. (2013). Contextual Pavlovian conditioning in the crab *Chasmagnathus*. *Animal Cognition*, 16(2), 255-272.

Gherardi, F. (2006). Fighting behavior in hermit crabs: the combined effect of resource-holding potential and resource value in *Pagurus longicarpus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 59(4), 500-510.

Gherardi F, Atema J (2003) Individual recognition in hermit crabs: learning and forgetting the opponent's identity. *Integr Comp Biol* 43(6):854

Gherardi F, Atema J (2005) Memory of social partners in hermit crab dominance. *Ethology* 111(3):271–285

Gherardi, F., Micheli, F., & Vannini, M. (1990). Movement patterns and dispersal of the hermit crab *Clibanarius longitarsus* in a mangrove swamp. *Marine & Freshwater Behaviour & Phy*, 16(4), 209-223.

Gherardi, F., & Tiedemann, J. (2004). Chemical cues and binary individual recognition in the hermit crab *Pagurus longicarpus*. *Journal of Zoology*, 263(1), 23-29.

Gherardi, F., Tricarico, E., & Atema, J. (2005). Unraveling the nature of individual recognition by odor in hermit crabs. *Journal of Chemical Ecology*, 31(12), 2877-2896.

Godfrey-Smith, P. (2016). *Other minds: The octopus, the sea, and the deep origins of consciousness*. Farrar, Straus and Giroux.

Gottlieb, G. (1976). The roles of experience in the development of behavior and the nervous system. In *Studies on the development of behavior and the nervous system* (Vol. 3, pp. 25-54). Elsevier.

Greenaway, P. (2003). Terrestrial adaptations in the anomura (Crustacea: Decapoda). *Memoirs of Museum Victoria*, 60(1), 13-26.



Greenberg, R. S. (1990). Ecological plasticity, neophobia, and resource use in birds. *Studies in Avian Biology*.

Hagen, H. O. von. (1977). The tree-climbing crabs of Trinidad. *Studies on the Fauna of Curacao*, 54, 25–59.

Hartnoll, R. G. (1988). Evolution, systematic, and geographical distribution. *Biology of the land crabs*.

Harzsch, S., & Hansson, B. S. (2008). Brain architecture in the terrestrial hermit crab *Coenobita clypeatus* (Anomura, Coenobitidae), a crustacean with a good aerial sense of smell. *BMC Neuroscience*, 9(1), 58.

Hazlett, B. A. (1994). Crayfish feeding responses to zebra mussels depend on microorganisms and learning. *Journal of Chemical Ecology*, 20(10), 2623-2630.

Hazlett, B. A. (1995). Behavioral plasticity in crustacea: why not more? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 193(1-2), 57-66.

Hazlett, B. A. (1966). Factors affecting the aggressive behavior of the Hermit Crab *Calcinus tibicen* 1. *Zeitschrift für Tierpsychologie*, 23(6), 655-671.

Hazlett, B. A. (1969). "Individual" recognition and agonistic behaviour in *Pagurus bernhardus*. *Nature*, 222(5190), 268-269.

Hazlett, B. A. (1971a). Chemical and chemotactic stimulation of feeding behavior in the hermit crab *Petrochirus diogenes*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 39(4), 665-670.



Hazlett, B. A. (1971b). Influence of Rearing Conditions On Initial Shell Entering Behavior of a Hermit Crab (Decapoda, Paguridea) 1. *Crustaceana*, 20(2), 167-170.

Hazlett, B. A. (1978). Shell exchanges in hermit crabs: aggression, negotiation, or both? *Animal Behaviour*, 26(4), 1278-1279.

Hazlett, B. A. (1980). Communication and mutual resource exchange in North Florida hermit crabs. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 6(3), 177-184.

Hazlett, B. A. (1981). The behavioral ecology of hermit crabs. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 12(1), 1-22.

Hazlett, B. A. (1992). The effect of past experience on the size of shells selected by hermit crabs. *Animal Behaviour*, 44, 203-205.

Hazlett, B. A. (1995). Behavioral plasticity in crustacea: why not more? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 193(2), 57-66.

Hazlett, B. A., Acquistopace P., & Gherardi F. (2002). Differences in memory capabilities in invasive and native crayfish. *Journal of Crustacean Biology*, 22, 439-448.

Herreid, C. F., & Full, R. J. (1986). Locomotion of hermit crabs (*Coenobita compressus*) on beach and treadmill. *Journal of Experimental Biology*, 120(1), 283-296.

Hoppitt W, Laland KN (2013). *Social learning: an introduction to mechanisms, methods and models*. Princeton University Press, Princeton.

Jackson, N. W., & Elwood, R. W. (1989). Memory of information gained during shell investigation by the hermit crab, *Pagurus bernhardus*. *Animal Behaviour*, 37, 529-534.



Jackson, N. W., & Elwood, R. W. (1990). Interrupting an assessment process to probe changes in the motivational state. *Animal Behaviour*, 39(6), 1068-1077.

Jakob, E., Skow, C. D., & Long, S. M. (2011). Plasticity, learning and cognition. *Spider behavior: Flexibility and versatility*.

Jiménez-Morales, N., Mendoza-Ángeles, K., Porrás-Villalobos, M., Ibarra-Coronado, E., Roldán-Roldán, G., & Hernández-Falcón, J. (2018). Who is the boss? Individual recognition memory and social hierarchy formation in crayfish. *Neurobiology of Learning and Memory*, 147, 79-89.

Kandel, E. R., & Pittenger, C. (1999). The past, the future and the biology of memory storage. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 354(1392), 2027-2052.

Karavanich, C., & Atema, J. (1998). Individual recognition and memory in lobster dominance. *Animal Behaviour*, 56(6), 1553-1560.

Kawai, N., Kono, R., & Sugimoto, S. (2004). Avoidance learning in the crayfish (*Procambarus clarkii*) depends on the predatory imminence of the unconditioned stimulus: a behavior systems approach to learning in invertebrates. *Behavioural Brain Research*, 150(1-2), 229-237.

Klappenbach, M., Nally, A., & Locatelli, F. F. (2017). Parallel memory traces are built after an experience containing aversive and appetitive components in the crab *Neohelice*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(23), E4666-E4675.



Krieger, J., Hörnig, M. K., & Laidre, M. E. (2020). Shells as 'extended architecture': to escape isolation, social hermit crabs choose shells with the right external architecture. *Animal Cognition*, 1-11.

Kurta, A. (1982). Social facilitation of foraging behavior by the hermit crab, *Coenobita compressus*, in Costa Rica. *Biotropica*, 14, 132-136.

Laidre, M. E. (2010). How rugged individualists enable one another to find food and shelter: field experiments with tropical hermit crabs. *Proc R Soc Lond B*, 277, 1361-1369.

Laidre, M. E. (2012a). Homes for hermits: temporal, spatial and structural dynamics as transportable homes are incorporated into a population. *J Zool*, 288, 33-40.

Laidre, M. E. (2012b). Niche construction drives social dependence in hermit crabs. *Curr Biol*, 22, R861-R863.

Laidre, M. E. (2013). Foraging across ecosystems: diet diversity and social foraging spanning aquatic and terrestrial ecosystems by an invertebrate. *Mar Ecol*, 34, 80-89.

Laidre, M. E. (2019). Architectural modification of shells by terrestrial hermit crabs alters social dynamics in later generations. *Ecology*, 100, e02767.

Laidre, M. E., & Trinh, R. (2014). Unlike terrestrial hermit crabs, marine hermit crabs do not prefer shells previously used by conspecifics. *Crustaceana*, 87, 856-865.

Laidre, M. E., & Vermeij, G. J. (2012). A biodiverse housing market in hermit crabs: proposal for a new biodiversity index. *UNED Research Journal*, 4(2), 175-179.



Laming, P. R., Kimelberg, H., Robinson, S., Salm, A., Hawrylak, N., Müller, C., ... & Ng, K. (2000). Neuronal–glial interactions and behaviour. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 24(3), 295-340.

Larrañaga, O., & Kruesi, K. (2018). Análisis de rastros en el desplazamiento de cangrejos ermitaño terrestres: una ventaja al usar conchas ligeras. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 70(2), 369-377.

Leadbeater, E., & Chittka, L. (2007). Social learning in insects—from miniature brains to consensus building. *Current biology*, 17(16), R703-R713.

Leonard, J. E., Ehrman, L., & Schorsch, M. (1974). Bioassay of a *Drosophila* pheromone influencing sexual selection. *Nature*, 250(5463), 261-262.

Liechti, P. M., & Bell, W. J. (1975). Brooding behavior of the Cuban burrowing cockroach *Byrsotria fumigata* (Blaberidae, Blattaria). *Insectes Sociaux*, 22(1), 35-45.

Loukola, O. J., Perry, C. J., Coscos, L., & Chittka, L. (2017). Bumblebees show cognitive flexibility by improving on an observed complex behavior. *Science*, 355(6327), 833-836.

MaBouDi, H., Dona, H., Gatto, E., Loukola, O. J., Buckley, E., Onoufriou, P. D., ... & Chittka, L. (2020). Bumblebees use sequential scanning of countable items in visual patterns to solve numerosity tasks. *Integrative and Comparative Biology*.

Mackintosh, N. J. (1975). Blocking of conditioned suppression: role of the first compound trial. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 1(4), 335.

Magani, F., Luppi, T., Nunez, J., & Tomsic, D. (2016). Predation risk modifies behavior by shaping the response of identified brain neurons. *J. Exp. Biol.*, 219, 1172-1177.



Mann J., Patterson EM (2013) Tool use by aquatic animals. *Philos Trans R Soc Lond B*, 368, 20120424.

Martínez-Pacheco, H., Zepeda, R. C., Picazo, O., Quirarte, G. L., & Roldán-Roldán, G. (2024). Class I histone deacetylases inhibition reverses memory impairment induced by acute stress in mice. *Plos one*, 19(4), e0302374.

Maza, F. J., Sztarker, J., Shkedy, A., Peszano, V. N., Locatelli, F. F., & Delorenzi, A. (2016). Context-dependent memory traces in the crab's mushroom bodies: Functional support for a common origin of high-order memory centers. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(49), E7957-E7965.

Menzel, R. (1993). Associative learning in honey bees. *Apidologie*, 24(3), 157-168.

Menzel, R. (1999). Memory dynamics in the honeybee. *Journal of Comparative Physiology A*, 185(4), 323-340.

Menzel, R., & Giurfa, M. (2001). Cognitive architecture of a mini-brain: the honeybee. *Trends in cognitive sciences*, 5(2), 62-71.

Mery, F., & Burns, J. G. (2010). Behavioural plasticity: an interaction between evolution and experience. *Evolutionary Ecology*, 24, 571-583.

Mima, A., Wada, S., & Goshima, S. (2003). Antipredator defence of the hermit crab *Pagurus filholi* induced by predatory crabs. *Oikos*, 102(1), 104-110.

Miner, B. G., Sultan, S. E., Morgan, S. G., Padilla, D. K., & Relyea, R. A. (2005). Ecological consequences of phenotypic plasticity. *Trends in ecology & evolution*, 20(12), 685-692.



Miron G, Audet D, Landry T, Mariyasu M (2005) Predation potential of the invasive green crab and other common predators on commercial bivalve species found on Prince Edward Isl. *J Shellfish Res*, 24(2), 579–586.

Mizunami, M., Weibrecht, J. M., & Strausfeld, N. J. (1998). Mushroom bodies of the cockroach: their participation in place memory. *Journal of Comparative Neurology*, 402(4), 520-537.

Monserrat, J. (2001). Engramas neuronales y teoría de la mente. *Pensamiento*, 57(2001), 176-211.

Morrow, J. E., & Smithson, B. L. (1969). Learning sets in an invertebrate. *Science*, 164(3881), 850-851.

Owens, I. P. (2006). Where is behavioral ecology going?. *Trends in Ecology & Evolution*, 21(7), 356-361.

Papi, F. (1992). General aspects. In *Animal homing* (pp. 1-18). Springer, Dordrecht.

Pompilio, L., Kacelnik, A., & Behmer, S. T. (2006). State-dependent learned valuation drives choice in an invertebrate. *Science*, 311(5767), 1613-1615.

Paul DH: Neurobiology of the Anomura: Paguroidea, Galathea and Hippidae. *Memoirs of Museum Victoria* 2003, 60, 3-11.

Pavlov, I. P. (1927). *Conditioned reflexes*. Oxford: Oxford University Press.

Pedreira, M. E., Perez-Cuesta, L. M., & Maldonado, H. (2002). Reactivation and reconsolidation of long-term memory in the crab *Chasmagnathus*: Protein synthesis



requirement and mediation by NMDA-type glutamatergic receptors. *Journal of Neuroscience*, 22(18), 8305-8311.

Pérez-Cuesta, L. M., & Maldonado, H. (2009). Memory reconsolidation and extinction in the crab: Mutual exclusion or coexistence?. *Learning & Memory*, 16(11), 714-721.

Perry, C. J., Barron, A. B., & Cheng, K. (2013). Invertebrate learning and cognition: relating phenomena to neural substrate. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Cognitive Science*, 4(5), 561-582.

Rankin, C. H., Abrams, T., Barry, R. J., Bhatnagar, S., Clayton, D. F., Colombo, J., ... & 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.

Reinhard, J., Srinivasan, M. V., & Zhang, S. (2004). Scent-triggered navigation in honeybees. *Nature*, 427(6973), 411-411.

Reinhard, J., Srinivasan, M. V., & Zhang, S. (2006). Complex memories in honeybees: can there be more than two?. *Journal of Comparative Physiology A*, 192(4), 409-416.

Reese, E. S. (1962). Shell selection behavior of hermit crabs. *Animal Behaviour*, 10(3-4), 347-360.

Richter, S., & Scholtz, G. (2001). Phylogenetic analysis of the Malacostraca (Crustacea). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 39(3), 113-136.

Rittschof, D. (1992). Chemosensation in the daily life of crabs. *American Zoologist*, 32(3), 363-369.



Roth, G. (2015). Convergent evolution of complex brains and high intelligence. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1684), 20150049.

Roudez, R. J., Glover, T., & Weis, J. S. (2008). Learning in an invasive and a native predatory crab. *Biological Invasions*, 10(8), 1191-1196.

Sandeman, D., Sandeman, R., Derby, C., & Schmidt, M. (1992). Morphology of the brain of crayfish, crabs, and spiny lobsters: a common nomenclature for homologous structures. *The Biological Bulletin*, 183(2), 304-326.

Sara, S. J., & Hars, B. (2006). In memory of consolidation. *Learning & Memory*, 13(5), 515-521.

Scholtz, G., & Richter, S. (1995). Phylogenetic systematics of the reptantian Decapoda (Crustacea, Malacostraca). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 113(3), 289-328.

Sinclair, M. E. (1977). Agonistic behaviour of the stone crab, *Menippe mercenaria* (Say). *Animal Behaviour*, 25, 193-207.

Li, Shan, Sen Lu, Jing Wang, Zhicheng Chen, Ya Zhang, Jie Duan, Peng Liu, Xueyan Wang, and Junkang Guo. 2023. "Responses of Physiological, Morphological and Anatomical Traits to Abiotic Stress in Woody Plants" *Forests* 14, no. 9: 1784. <https://doi.org/10.3390/f14091784>

Shragai, T., Ping, X., Arakaki, C., Garlick, D., Blumstein, D. T., & Blaisdell, A. P. (2017). Hermit crab response to a visual threat is sensitive to looming cues. *PeerJ*, 5, e4058.

Shepherd, G. M. (1988). *Neurobiology*. Oxford University Press.



Shettleworth SJ (2010) Cognition, evolution, and behavior. Oxford University Press, New York

Sherrington, C. (1952). The integrative action of the nervous system. CUP Archive.

Skinner, B. F. (1938). The Behavior of Organisms; an Experimental Analysis. New York London: D. Appleton-Century Company, incorporated.

Snell-Rood, E. C. (2013). An overview of the evolutionary causes and consequences of behavioural plasticity. *Animal Behaviour*, 85(5), 1004-1011.

Spence, R., & Smith, C. (2008). Innate and learned colour preference in the zebrafish, *Danio rerio*. *Ethology*, 114(6), 582-588.

Squire, L. R., & Dede, A. J. (2015). Conscious and unconscious memory systems. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 7(3), a021667.

Squire, L. R., & Wixted, J. T. (2011). The cognitive neuroscience of human memory since HM. *Annual review of neuroscience*, 34, 259-288.

Staddon, J. E. R. (2016). Adaptive behavior and learning. Cambridge University Press.

Sztarker, J., Strausfeld, N. J. and Tomsic, D. (2005). Organization of optic lobes that support motion detection in a semiterrestrial crab. *J. Comp. Neurol.* 493, 396-411.

Sztarker, J. and Tomsic, D. (2008). Neuronal correlates of the visually elicited escape response of the crab *Chasmagnathus* upon seasonal variations, stimuli changes and perceptual alterations. *J. Comp. Physiol. A* 194, 587-596.



Tang, Y. P., Shimizu, E., Dube, G. R., Rampon, C., Kerchner, G. A., Zhuo, M., ... & Tsien, J. Z. (1999). Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature*, 401(6748), 63.

Tano, M. C. (2013). Rol del sistema GABAérgico sobre las distintas fases de la memoria de extinción en el cangrejo *Neohelice granulata* (Doctoral dissertation, Tesis doctoral (dir. ME Pedreira) Fac. Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina. www.digital.bl.fcen.uba.ar).

Thacker, R W. 1996. Food choices of land hermit crabs (*Coenobita compressus* H. Milne Edwards) depend on past experience. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 199: 179–191.

Thorndike, E. L. (1970). *Animal intelligence: Experimental studies*. Transaction Publishers.

Tomsic D, DeAstrada MB, Sztarker J (2003) Identification of individual neurons reflecting short- and long-term visual memory in an arthropod. *J Neurosci* 23(24):8539–8546

Tomsic, D., Sztarker, J., de Astrada, M. B., Oliva, D., & Lanza, E. (2017). The predator and prey behaviors of crabs: from ecology to neural adaptations. *Journal of Experimental Biology*, 220(13), 2318-2327.

Tran, M. V. (2015). Behavioral reactions to novel food odors by intertidal hermit crabs. *Behavioural processes*, 113, 35-40.

Trestman, M. (2013). The Cambrian explosion and the origins of embodied cognition. *Biological Theory*, 8(1), 80-92.



Van Swinderen, B., & Greenspan, R. J. (2003). Salience modulates 20–30 Hz brain activity in *Drosophila*. *Nature neuroscience*, 6(6), 579-586.

Vannini, M. (1976). *Researches On The Coast Of Somalia. The Shore And The Dune Of Sar Uanle: 7. Field Observations On The Periodical Transdunal Migrations Of The Hermit Crab Coenobita Rugosus Milne Edwards: Pubblicazioni Del Centro Di Studio Per La Faunistica Ed Ecologia Tropicali Del Cnr: Cvi. Monitore Zoologico Italiano. Supplemento, 7(1), 145-185.*

Vannini, M., & Cannicci, S. (1995). Homing behaviour and possible cognitive maps in crustacean decapods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 193(1), 67-91.

Vannini, M., & Ruwa, R. K. (1994). Vertical migrations in the tree crab *Sesarma leptosoma* (Decapoda, Grapsidae). *Marine Biology*, 118(2), 271-278.

Vermeij, G. J. (2012). Evolution: remodelling hermit shellters. *Current Biology*, 22(20), R882-R884

Vorhees, C. V., & Williams, M. T. (2006). Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature protocols*, 1(2), 848.

Vu, E. T., & Krasne, F. B. (1993). Crayfish tonic inhibition: prolonged modulation of behavioral excitability by classical GABAergic inhibition. *Journal of Neuroscience*, 13(10), 4394-4402.

Wehner, R. (1992). Arthropods. In *Animal homing* (pp. 45-144). Springer, Dordrecht.

Werner, E. E. & Hall, D. J. (1974). "Optimal Foraging and the Size Selection of Prey by the Bluegill Sunfish (*Lepomis macrochirus*)". *Ecology*. 55 (5): 1042



Wiegmann, D. D., Hebets, E. A., Gronenberg, W., Graving, J. M., & Bingman, V. P. (2016). Amblypygids: model organisms for the study of arthropod navigation mechanisms in complex environments?. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 10, 47.

Wight, K., Frances, L., Eldridge, D., 1990. Food aversion learning by the hermit crab *Pagurus granosimanus*. *Biol. Bull.* 178, 205–209.

Wilber, D. H. (1986). The distribution and daily movement of stone crabs (*Menippe mercenaria*) in an intertidal oyster habitat on the northwest coast of Florida. *Marine & Freshwater Behaviour & Phy*, 12(4), 279-291.

de Wilde, P. A. W. J. (1973). On the ecology of *Coenobita clypeatus* in Curacao with reference to reproduction, water economy and osmoregulation in terrestrial hermit crabs. *Studies on the Fauna of Curaçao and other Caribbean Islands*, 44(1), 1-138.

Wiersma, C. A. (1957). On the number of nerve cells in a crustacean central nervous system. *Acta Physiologica et Pharmacologica Neerlandica*, 6, 135-142.

Wittenberger, J. F. (1981). *Animal Social Behavior*. Duxbury Press.

Wolff, G. H., & Strausfeld, N. J. (2016). Genealogical correspondence of a forebrain centre implies an executive brain in the protostome–deuterostome bilaterian ancestor. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1685), 20150055.

Ydenberg RC, Giraldeau LA, Falls JB (1988) Neighbors, strangers, and the asymmetric war of attrition. *Animal Behavior* 36:343–347



Zeil, J. and Al-Mutairi, M. (1996). The variation of resolution and of ommatidial dimensions in the compound eyes of the fiddler crab *Uca lactea annulipes* (Ocypodidae, Brachyura, Decapoda). *J. Exp. Biol.* 199, 1569-1577

Zwoinska, M. K., Lind, M. I., Cortazar-Chinarro, M., Ramsden, M., & Maklakov, A. A. (2016). Selection on learning performance results in the correlated evolution of sexual dimorphism in life history. *Evolution*, 70(2), 342-357



Anexo (artículo requisito para la obtención de grado)

Se presenta el artículo completo en virtud de que no hay restricciones por parte de la revista.

PLOS ONE

RESEARCH ARTICLE

Evidence of long-term allocentric spatial memory in the Terrestrial Hermit Crab *Coenobita compressus*

Ilse Lorena Vargas-Vargas¹, Estefany Pérez-Hernández¹, Daniel González², Marcos Francisco Rosetti^{2,3}, Jorge Contreras-Galindo⁴, Gabriel Roldán-Roldán^{1*}

1 Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico, **2** Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico, **3** Instituto Nacional de Psiquiatría, Ramón de la Fuente Muñiz, Mexico City, Mexico, **4** ENES unidad Morelia, Universidad Nacional Autónoma de México, Mexico City, Mexico

* gabargico@gmail.com



OPEN ACCESS

Citation: Vargas-Vargas IL, Pérez-Hernández E, González D, Rosetti MF, Contreras-Galindo J, Roldán-Roldán G (2023) Evidence of long-term allocentric spatial memory in the Terrestrial Hermit Crab *Coenobita compressus*. PLOS ONE 18(10): e0293358. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293358>

Editor: Khor Waiho, Universiti Malaysia Terengganu, MALAYSIA

Received: March 14, 2023

Accepted: October 10, 2023

Published: October 26, 2023

Peer Review History: PLOS recognizes the benefits of transparency in the peer review process; therefore, we enable the publication of all of the content of peer review and author responses alongside final, published articles. The editorial history of this article is available here: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293358>

Copyright: © 2023 Vargas-Vargas et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All the data included in this manuscript is available at the following links:

Abstract

Spatial learning is a complex cognitive skill and ecologically important trait scarcely studied in crustaceans. We investigated the ability of the Pacific (Ecuadorian) hermit crab *Coenobita compressus*, to learn an allocentric spatial task using a palatable novel food as reward. Crabs were trained to locate the reward in a single session of eleven consecutive trials and tested subsequently, for short- (5 min) and long-term memory 1, 3 and 7 days later. Our results indicate that crabs were able to learn the location of the reward as they showed a reduction in the time required to find the food whenever it was present, suggesting a visuo-spatial and olfactory cue-guided task resolution. Moreover, crabs also remember the location of the reward up to 7 days after training using spatial cues only (without the food), as evidenced by the longer investigation time they spent in the learned food location than in any other part of the experimental arena, suggesting a visuo-spatial memory formation. This study represents the first description of allocentric spatial long-term memory in a terrestrial hermit crab.

Introduction

Animal cognitive abilities have been shaped by natural selection from the ecological and social challenges each species must contend with, resulting in specialized forms of learning and memory [1]. Although non-associative (habituation and sensitization) and associative (classical and operant conditioning) types of learning are well documented in invertebrates [2, 3] complex forms of cognition such as spatial and episodic memory have been poorly studied beyond cephalopods [4–7] and insects [8, 9].

Spatial learning is a complex ability essential for self-location in the environment and the location of resources in defined time and space. There are two main reference frames of spatial learning: egocentric (sequential) and allocentric (place). The egocentric reference system depends on memorizing the sequence of body movements such as the number of steps and



<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.22266400>
<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.22259743>

Funding: This research received financial support from the Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) of the Dirección General Asuntos del Personal, UNAM through grant IN224019 awarded to G.R.R. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: Authors have NO competing interests.

turns as well as their direction to reach a goal, while the allocentric strategy involves remembering the location of spatial cues external to the subject, such as visual and olfactory landmarks in the environment. Allocentric spatial learning has been demonstrated in the octopus [10], cuttlefish [4] and insects like wood ants [11, 12], honeybees [13, 14] and fruit flies [15, 16]. Studies in crustaceans suggest that spatial learning abilities also exist in this group. For instance, evidence of path integration and egocentric spatial learning has been observed in fiddler crabs [17–19] as well as the use of both egocentric and allocentric strategies for maze solving in the crayfish *Orconectes rusticus* [20, 21]. However, examples are still lacking, as to the best of our knowledge, there are no formal studies focused on the evaluation of allocentric learning in Anomuran crustaceans, although previous studies have suggested it might exist [22, 23].

In this study we evaluated the spatial learning abilities of *Coenobita compressus* in a single multi-trial training session, which allowed us to build up a learning curve based exclusively on its working memory capabilities. The task consisted of locating a highly palatable food reward hidden in an open field with a three-dimensional landmark configuration resembling the natural environment of these animals, using visual and olfactory cues for its resolution. Subsequently, we evaluated short- and long-term memory retention without the food reward up to 7 days.

The aim of this work was to determine if terrestrial hermit crabs can learn to solve a spatial task using an allocentric strategy and to determine if they retain this information in the long-term. To do so, we measured (a) the time it took the animals to find (and start consuming) the food reward and (b) the time spent in each of the four quadrants, in which the testing arena was divided, searching for the food reward during short- and long-term memory retrieval tests. We predicted that hermit crabs would locate food faster after repeated training trials but would take increasingly longer time to reach the food location after several unreinforced (extinction) trials. On the other hand, we predicted a longer searching time in the target quadrant during the memory retention tests.

Methods

2.1 Animals

A total of twenty-six pacific sex balanced hermit crabs *C. compressus* (H Milne Edwards, 1836; Anomura, Coenobitidae) were hand-collected from sites at Troncones, Guerrero, México (17° 47' 16"N; 101° 44' 17"W). Permission for collection was obtained beforehand from the Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental (SGPA/DGVS/03187/20). Animals were housed at collective 40-L holding tanks lined with sand from their collection site in low density (10 crabs per tank) for a minimum of 4 weeks prior to testing. Animals acclimated to this system under an illumination cycle of 12:12 (lights on at 7:00 h), a 28°C temperature and were fed *ad libitum* with hermit crab pellets (TetraFauna), apple slices, drinking water and 1% salt solution. All animals were healthy with intact appendages. The experiments employed a repeated measures design, which required the identities of the test animals to be tracked throughout the experiment. The crabs were individually identified and marked at least one day prior to experiments, with nail polish (enamel) on the shell. No ovigerous females, premolt or recently molted crabs were used. No crabs molted or died during the study. According to Klappenbach et al. [24] satiated animals present a poor food-driven appetitive behavior. For this reason, crabs were unfed 3 days prior the acquisition session to standardize hunger levels across individuals and encourage them to search for food during the training trials. Although animals were housed in groups, they were tested individually in all experiments.



2.2 Behavioral procedures

Experiments were conducted in a 30 cm square arena, divided into four quadrants of 15 by 15 cm: upper left (UL), upper right (UR), bottom left (BL) and bottom right (BR), filled with 5 cm of hydrated sea sand. A set up of four objects of different color and size was placed inside. Each object was placed 7 cm from one wall of the arena and centered with respect the two lateral walls. Objects were considered as contextual visual cues. To induce the animals into searching a square plastic tray of 2 by 2 cm with 2 grams of peanut butter was placed in the upper left (UL) quadrant (Fig 1). The amount of food provided (2 grams) was higher than the usual animals' consumption overnight. Peanut butter (Hartleys brand, purchased from a local vendor and stored at room temperature) was used as a reward since it was the most preferred food for crabs in a pilot study we previously conducted on an independent group of experimental subjects. After the tray with the food reward was positioned inside the arena, we placed an individual crab at the starting point. Upon introduction, we restricted the crab's movement by placing a plastic shelter over it for a 1-min acclimation period, so as to minimize inter-individual variation on the initial exploratory activity. After acclimation, the shelter was removed, and the crab was allowed to freely explore the arena for a maximum of 180 sec. Since hermit crabs often respond to overhead movements by retracting into their shells, we were careful not to cast a shadow over them. Observers were not present in the testing room during the trials, and the arena was monitored remotely. The crab's behavior was recorded using a Canon 80D high-definition camera mounted on a tripod without additional lighting. Additionally, the time taken to locate the food was noted down. Trials were stopped when the crab located the food and began to feed, or after 180 sec had elapsed. If a crab located the food, it was allowed to feed on the peanut butter for 5 sec, then gently removed and transferred to a neutral keeping cage covered with a wet sand layer to keep them humid (without food). If a crab failed to locate the food, it was withdrawn and taken to the keeping cage and a time of 180 seconds was noted down. We fixed a 5-minute inter-trial interval during which the sand was rehydrated and mixed-up in order to keep it wet and eliminate possible odoriferous cues left by the subject in the previous trial. All the sessions were video recorded allowing us to analyze the videos offline using Solomon Coder software [25]. Results are expressed as the time to reach the exact place where the food was located, and time spent in each quadrant of the arena (see Fig 1) during the short- and long-term memory retrieval tests.

2.3 Training and testing

In this study, we decided to use the standard experimental paradigm for the analysis of allocentric spatial memory in rodents, which fundamentally consists of repeatedly training each experimental subject until reaching a learning criterion, which in our case was the asymptotic decrease in latency to find the reward. Additionally, we measured the distance traveled to reach it. Subsequently, both short- and long-term memory were analyzed by removing the reinforcer and quantifying the latency and distance required to reach the exact location of the reward, as well as the time the subject spent exploring each of the four quadrants of the testing arena. We conducted a total of eleven consecutive training trials on Day 1. In the first three trials the starting point was in the BR quadrant and the food was located opposite to it, in the UL. In order to facilitate the location of the food, the tray with the peanut butter was placed at the level of the sand in such a way that it was visible when the crab had overcome the landmarks in the arena and was inside the target quadrant (UL). In these three trials animals were examined for behavioral reactions to the novel food reinforcement (peanut butter). Crabs were observed during feeding to ensure they were showing foraging behavior [26] and consumed the food. In the next eight trials we evaluated whether animals' performance improved over time. In these,



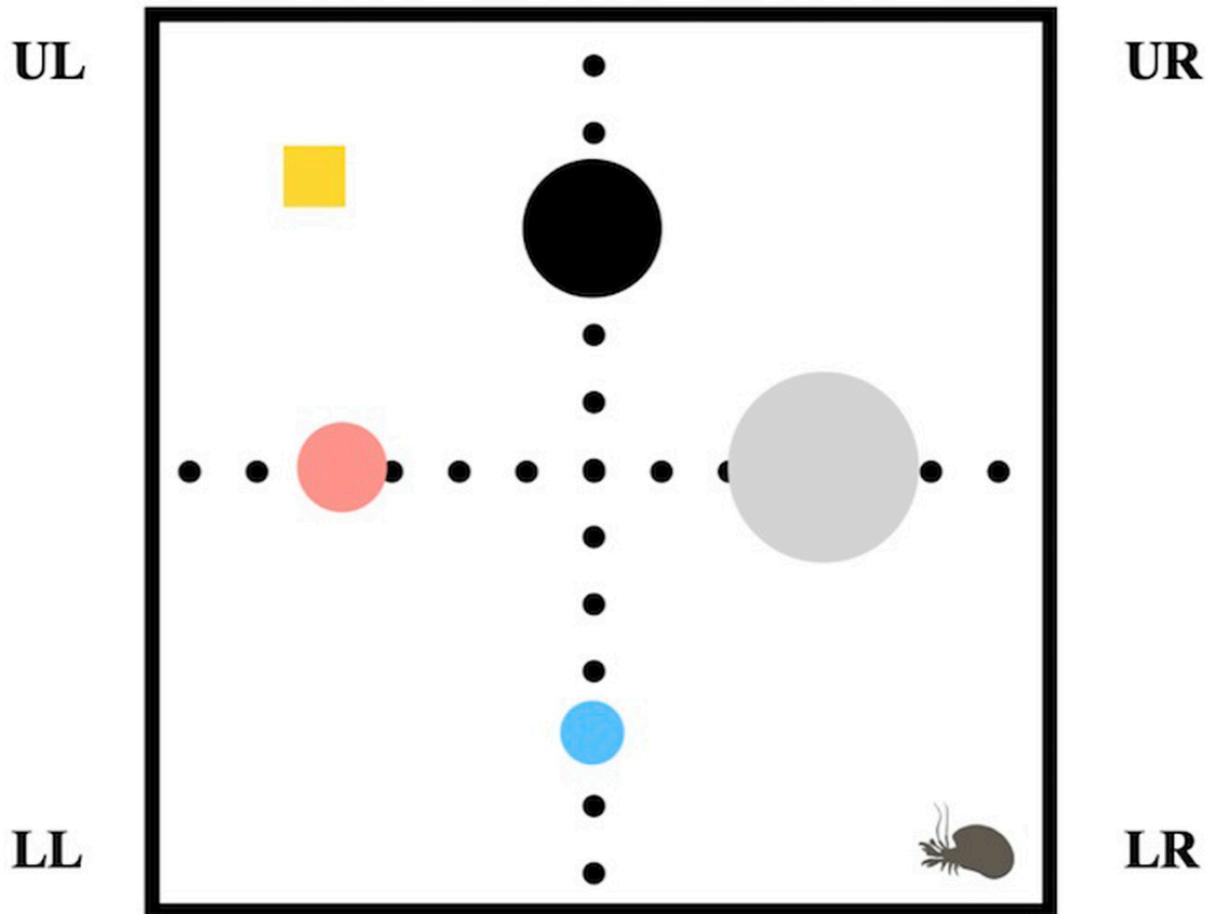


Fig 1. Scheme of the experimental arena. Diagram shows a bird's eye view of the arena, quadrants' limits (dotted lines) and visual cues' positions (colored circles). Crab silhouettes indicate the alternating starting points used throughout training trials and the yellow square shows the target location (in the upper left (UL) quadrant). Other quadrants named as upper right (UR), bottom left (BL), and bottom right (BR).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293358.g001>

the starting point was changed in each trial (excluding the UL quadrant where the food was placed, see Fig 1) in a semi-random sequence as follows: UR, BL, BR, BL, UR, BR, UR, BL. In addition, the tray with food was placed below the sand surface, so that it would only be visible when the animals were very close (1 cm), thus the crabs were able to locate it from afar using only olfactory stimuli and the visual cues from the arena. The short-term memory retrieval test was carried out in the same way as the training trials, except that the food was withdrawn and the starting point was in the BR quadrant. This test was performed 5 minutes after the last training trial. Finally, the same experimental protocol was followed for long term-memory retrieval testing on Days 2, 4 and 7 after training (i.e., 24, 72 and 168 h after the last conditioning trial) (Fig 2).

2.4 Statistical analysis

The effect of training on the time to solve the task was evaluated using a generalized linear mixed-effect model or GLMM [27], where the time need to reach the tray was modeled as a



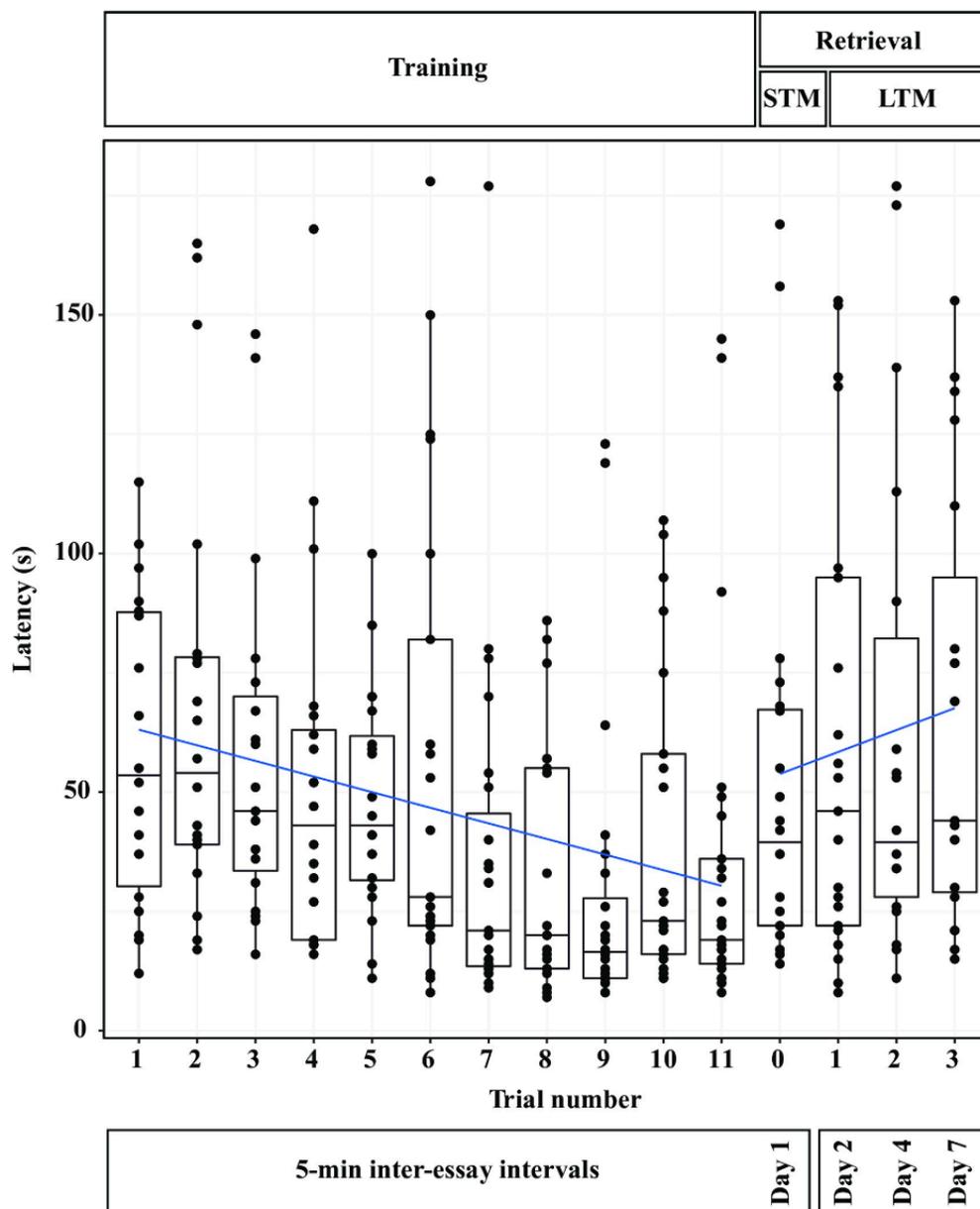


Fig 2. Latency to reach the reward location during learning and testing. Solid blue lines represent a function describing the training and retrieval phases of $n = 26$ hermit crabs as modeled by a generalized linear mixed-effect model (GLMM). Points (closed circles) represent latency for each crab. Median and interquartile ranges latency in seconds are presented. Decrease in latency to reach the target during training and increase during short- and long-term memory retrieval were significant.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293358.g002>

Poisson process. GLMMs allows to specify a family parameter that better matched the distribution of the response variable, which in this case was composed of positive integers with a heavy left skew. Models were ran using time evaluated as categorical (trial number) or continuous variable (hours elapsed between trials) as the main effect. Data were grouped by individual



crab, fitted as random intercepts. The significance of fixed effects was tested using likelihood ratios tests. We inspected diagnostic plots for the model to find that while residuals were symmetrically distributed, they were heteroscedastic with a bias towards lower values. In addition, time spent exploring in the quadrant that originally housed the reward vs all others were compared by post hoc Tukey tests. We provide medians and interquartile ranges (IQR) or mean and standard error of the mean (SEM) in text and figures. Statistical analyses were performed using R [28] and GraphPad Prism 9 [29]. Significance was set at $p < 0.05$.

Results

All crabs tested were able to locate the food in at least 9 of the 15 trials. Individuals that did not reach the tray within 180 sec were not included in the statistical analysis in that particular trial. Over the course of 11 trials, crabs were trained to locate the food reward. We observed a negative and significant decrement in the time to solve the task during this acquisition phase (Est = -0.09 ± 0.02 , $p < 0.001$), indicating that the crabs learned the location of the food and reached the hidden tray quicker as the number of trials increased (Fig 2). After the food was removed in the short-term, as well as in the three long-term memory tests we observed a positive and significant increase in the time needed to reach the tray (Est = 0.11 ± 0.05 , $p = 0.03$), suggesting that crabs were using olfactory cues to find the food reward and were not able to reach its placement quickly in the absence of food (Fig 2). A significant increase of the time to find the food location was found between the last training trial and the short-term memory test (median = 19, IQR = 14–36 vs median = 39.5, IQR = 22–67.25, $W = 26$, $p = 0.003$). In the same way as for latency, the average distance traveled to reach the reward decreased during training and subsequently increased in the memory retention tests. The slope between the distance travelled and the training trials was negative but not significant (Est = -0.08 ± 0.02 , $p > 0.05$). Similarly, the slope between the distance travelled and the retrieval trials was positive but not significant (Est = 0.1 ± 0.06 , $p > 0.05$) (see S1 Fig). As for in latency analysis, we excluded the trials where the crabs did not reach the food tray. However, in the single short-term and the three long-term memory retrieval testing, crabs spent significantly more time exploring in the UL quadrant than in any other quadrant of the arena. Three out of four ANOVAs comparing percent of activity between quadrants were significant (Day 1: $F(3) = 18.06$, $p < 0.001$; Day 2: $F(3) = 6.81$, $p < 0.001$, Day 4: $F(3) = 2.22$, $p = 0.09$; Day 7: $F(3) = 13.61$, $p < 0.001$); post hoc Tukey tests, revealed that the comparison between the UL and all other quadrants were significant for Day 1 and for Day 7; only BR vs UL and UR vs UL for Day 2, and UR vs UL for Day 4 (Fig 3). Additionally, when in the UL quadrant, they spent most of the time above the precise location where the food reward was hidden (same location as during training) (Day 1: $62.70 \pm 18.49\%$; Day 2: $67.95 \pm 16.85\%$; Day 4: $76.01 \pm 14.71\%$; Day 7: $70.3 \pm 19.94\%$). The percentage of time spent in the tray's former place spot indicates that even in the absence of food reward, *C. compressus* could find its location, presumably based only on the visual cues of the experimental arena they had retained.

Discussion

In the current study we evaluated the behavioral response of terrestrial hermit crabs in an allocentric spatial learning task using novel food as reinforcement. Thus, we assessed the strategy used by these animals to solve the task and their learning capabilities in a single multi-trial acquisition session; we also determined whether spatial memory persists after one short-term and three long-term memory tests without the food reinforcement. Crabs were successfully trained to search and locate the food reward, as evidenced by the significant decrease in the time they required to find it until reaching an asymptotic performance. This was probably due



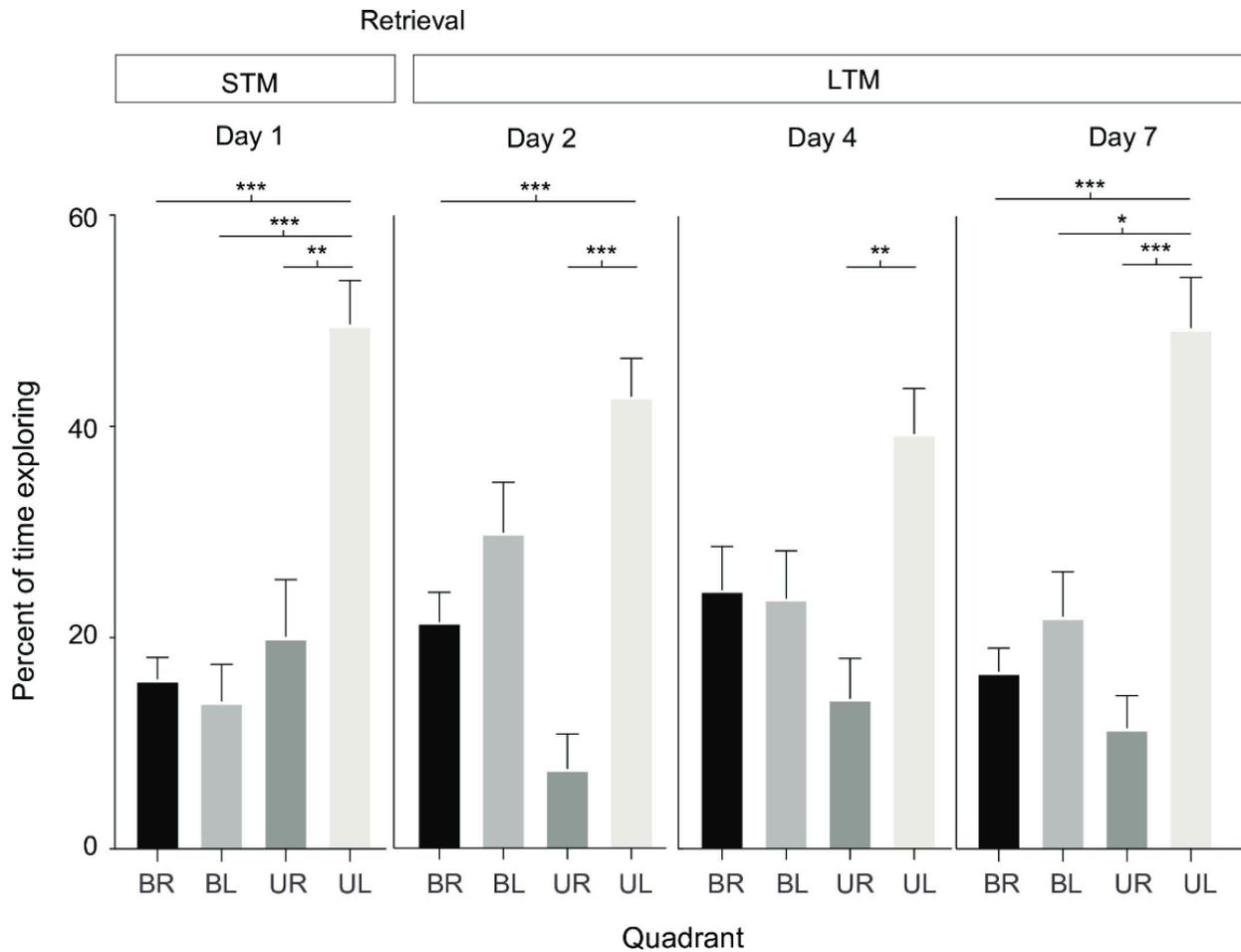


Fig 3. Percent of time exploring per quadrant. Mean percentage \pm SEM of time spent actively exploring each quadrant for tests done on Days 1, 2, 4 and 7. Significance is specified as * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, as per the results of a Tukey test.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0293358.g003>

to the use of a highly palatable stimulus (peanut butter was the crabs' most preferred food in the pilot study), which is consistent with Klappenbach et al. [24] and Elwood & Appel [30], in the sense that animals' motivational state is crucial for behavioral expression during training and memory retrieval. Thus, most of the experimental protocols using appetitive food reinforcement are usually associated with chronic food deprivation [31]. In the present study however, as peanut butter acted as a novel and very rewarding stimulus, a short three-day fasting period prior the single training session was enough to elicit persistent seeking behavior for eleven consecutive trials apparently driven by a sustained motivation to find and consume the food reinforcer. This finding is in line with Tran [32] who reports that novel food items represent valuable resources for generalist scavengers, such as hermit crabs, because of the nutritional supplements they can provide, making them an adaptive foraging strategy. Moreover, it is worth noting that chemosensory detection of the reward (peanut butter odor) played an important role in the crabs' drive to search during the training phase and it was undoubtedly used to guide them to the target. This was evident in the retrieval testing trials without food, since from the short-term memory test performed only 5 min after the last training trial, the



latency to reach the place where the food was located significantly increased (as compared by a Wilcoxon test: $W = 26$, $p = 0.003$). This finding could be interpreted as an indication that crabs were not able to learn the spatial food location, however the fact that they still reached the precise place where the food was located in a shorter time than at the beginning of the training phase together with the relevant finding that crabs remained a greater percentage of time in the target quadrant (UL) and particularly in the exact food place spot, clearly indicates that animals remembered the reward location and could reach the target using solely the spatial cues found in the arena. Our data showed that when exposed repeatedly to the same task crabs were able to find the food in progressively shorter times which matches with prior observations, since early reports, e.g., Yerkes [33], who found that Brachyuran *Carcinus maenas* learned to avoid blind alleys on a simple labyrinth path, to recent studies that have confirmed and extended them [23, 34, 35]. Remarkably, eighty percent (18 of 26) of the crabs solved the task since the first trial and all of them showed consistent downward trends in the time employed to locate the food. However, this consistency was not observed in the distance traveled to reach the food, despite the fact that it also decreased with the progress of the training trials, indicating that the crabs improved their search strategy without optimizing it using only an allocentric spatial orientation. This is in line with our findings from short- and long-term memory tests showing that animals could arrive at the exact location of the reward, but required more time and traveled more distance than during the last training trials.

Unlike previous work, in the current study we decided to train the crabs in a single acquisition session in order to build up the learning curve based exclusively on their working memory and to assess short- and long-term memory separately. This allowed us to realize that although the olfactory component plays an important role in tracking the peanut butter to locate it, the visual clues of the arena were enough to reach the exact place where the reward was in its absence. Likewise, we were able to verify that although the time taken to reach the reward site gradually increased in the three long-term retrieval tests, the search for and permanence of the crabs in the target quadrant did not decrease, indicating a preserved spatial memory.

On the other hand, the current results reveal that after a single training session of eleven trials crabs consolidate a persistent long-term spatial memory, revisiting the spot where the food was hidden even seven days after it was removed. Brachyuran crustaceans [23] and hermit crabs [32] also retain for several days their attraction to known odors that have accurately predicted food availability in the past. Therefore, it is not surprising that *C. compressus* showed a robust long-term memory as consequence of the repeated reinforcing events experienced during conditioning. Studies in the crayfish *Procambarus clarkii* [36] and the crab *Chasmagnathus granulatus* [37] have evidenced the existence of both short- and long-term memory systems in crustaceans and some of its neurological basis, while other studies suggested long-term social memory capabilities in Anomurans [38]. However, our findings regarding extinction were unexpected, since we had hypothesized that crabs would quickly extinguish searching behavior in the absence of reward as they no longer obtained the reinforcer in the place where it was found, acquiring this new information and updating their memory. Interestingly, while the increased latency could be interpreted as an extinction process, the persistence in seeking the reward where it was previously found indicates the opposite and, in fact, suggests that the crabs do not extinguish the original learning, showing little behavioral flexibility, as occurs with social memory [36, 38]. This finding contrasts with previous studies showing clear evidence in crabs that long-term associative memories exhibit both extinction and reconsolidation processes depending on the duration of the reminder (i.e., re-exposure to the conditioned stimulus) [39–41].

It is important to highlight that the main difference between the training session and the short- and long-term memory tests was the absence of the reinforcement which, as mentioned



above, seems to have affected crabs' behavior for reasons other than learning itself, causing the increase in latency. It is difficult to estimate the contribution of the lack of reinforcement, on the one hand, and an extinction process on the other, in the gradual latency increase to reach the exact place where the food was located, since the most reliable parameter to assess memory retention (i.e., time spent exploring in the target quadrant) changed little on all four memory tests (one short-term and three long-term), showing a gradual decline on Days 2 and 4 but recovery on Day 7, suggesting that crabs had a well-preserved spatial memory.

Like other taxa, hermit crabs possess innate sensory mechanisms that allow them to discriminate between edible and inedible novel items upon the first encounter without the requirement of associative learning [32, 33]. In the context of foraging, novel food reinforcement takes place when, after sensing it, the animal consumes it [32]. Therefore, it was important to let the crabs to eat the peanut butter during the conditioning session to maintain the baseline level of motivation and consequently responding to the food stimulus. Coenobitids (Anomura) have evolved a good aerial sense of distance olfaction that is anatomically centered on the first antenna and behaviorally highly relevant [42], detecting food as far as 5 m [43, 44], however there is some controversy about the existence of an odoriferous chemical substances release system that could be left as a trace in the substrate for spatial orientation in this group [22]. Though, when in threatening situations, hermit crabs use multisensory channels to evaluate their environment [45], which has also been observed in other crustaceans as fiddler crabs (*Uca vomeris*) [46]. More studies are needed to determine the sensory inputs used in this group for the resolution of spatial tasks.

Coenobitids are attracted preferentially by the odors of foods that they have not eaten recently rather than foods eaten in the previous feeding event [47], even when these events take place in the last 24 hours [48]. This was not observed in our study, perhaps because animals have been deprived from food three days before the beginning of experiment so they could be more eager to eat and also, or because they did not have any other food option than peanut butter. In some insects, such as locusts, it has been noticed that stimulus strength depends on the internal state of animals, such as hunger levels [49].

One novelty of our visuospatial design that contrasts with other allocentric spatial learning tasks was that the visual cues were immersed on the experimental arena as it occurs with landmarks in the wild and manipulates variables that are relevant to crabs' modes of adjustment. This intended to be an analog paradigm to hermit crabs natural foraging routines, in which the accessibility of resources could be cyclical but some landmarks are maintained for long periods of time. *C. compressus* may performed well because of the learning processes involved might be used in tasks encountered by crabs naturally and reflect essential features of the behavior occurring in the natural environment [31, 50, 51].

Despite the large body of studies evaluating learning abilities of Anomuran crustaceans, e.g., shell exchange [52–54], conspecific recognition [38, 55], social information transmission [56], food preference [48], solution of novel situations [57], and homing [58], there is no evidence of allocentric spatial learning in this crustacean order, even though the potential use of landmarks for spatial orientation (allocentric memory) has been previously suggested [23]. Few studies have shown plasticity in *C. compressus* learning simple “spatial” tasks, such as avoiding noxious stimuli [30] or decision making regarding external shell architecture on novel tasks [57]. However, none of them evaluate long-term memory. All these studies point out to *C. compressus* possessing an outstanding learning ability but were all performed over shorter time periods than in the present study, noticing the importance to explore complex relevant tasks such as spatial learning. Altogether our results suggest that the stimuli related with the reinforcement as well as the ones related with the environment influence the expression of behavior. This first description of allocentric spatial long-term memory in a terrestrial hermit



crab suggests a visuospatial memory formation. In nature, it is crucial for animals to learn and remember which places represent danger or which ones are associated with appetitive rewards such as food, shelter or mate [24]. A better appreciation of this adaptive trait in these animals will develop our understanding of resource exploitation by terrestrial crustaceans and their ecological roles as well as leading to potential comparative studies.

Conclusion

We show that *C. compressus* was capable of solving a complex visuospatial learning task in addition to the other mentioned advantages which are demonstrated in malacostracan crustaceans as a potential model system. This first approach to spatial learning in a terrestrial hermit crab could lead to additional studies that let us have a better appreciation of this adaptive trait in these animals, such as individual variation factors (e.g., age, sex or personality) to predict whether and how the individuals locate the food in the most efficient way.

In the present study we show that the terrestrial hermit crab *C. compressus* is capable of learning the location of a palatable food stimulus using olfactory and visual cues, which was reflected in a gradual improvement in the execution of the task. Although this was an important finding because it implies that the standardization of the experimental conditions to evaluate the spatial abilities in this species were adequate, i.e., the motivation to execute and solve the test in a single multi-trial session, the most relevant finding was the fact that crabs retained a long-term spatial memory up to seven days based solely on visual cues, strongly suggesting an allocentric targeting strategy.

Supporting information

S1 Fig. Distance travelled from starting point to the reward location during learning and testing. Solid blue lines represent a function describing the training and retrieval phases of $n = 26$ hermit crabs as modeled by a generalized linear mixed-effect model (GLMM). Points (closed circles) represent distance for each crab. Median and interquartile ranges distance in cm are presented. Decrease in distance to reach the target during training and increase during short- and long-term memory retrieval followed the expected trend but was non-significant. (TIF)

Acknowledgments

This paper serves as fulfillment of ILVV for obtaining a PhD degree in Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM. We thank the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de Mexico (CONACyT) for the graduate scholarship awarded to ILVV (630753). Finally, we appreciate the valuable comments of the reviews.

Ethics in publishing

Experiments were carried out in accordance with the National Institutes of Health guide for the care and use of laboratory animals.

Author Contributions

Conceptualization: Ilse Lorena Vargas-Vargas, Jorge Contreras-Galindo, Gabriel Roldán-Roldán.

Data curation: Marcos Francisco Rosetti.

Formal analysis: Ilse Lorena Vargas-Vargas, Marcos Francisco Rosetti, Gabriel Roldán-Roldán.



Funding acquisition: Gabriel Roldán-Roldán.

Investigation: Ilse Lorena Vargas-Vargas, Gabriel Roldán-Roldán.

Methodology: Ilse Lorena Vargas-Vargas, Estefany Pérez-Hernández, Daniel González.

Project administration: Gabriel Roldán-Roldán.

Resources: Gabriel Roldán-Roldán.

Software: Marcos Francisco Rosetti.

Supervision: Marcos Francisco Rosetti, Gabriel Roldán-Roldán.

Visualization: Gabriel Roldán-Roldán.

Writing – original draft: Ilse Lorena Vargas-Vargas, Marcos Francisco Rosetti, Gabriel Roldán-Roldán.

Writing – review & editing: Ilse Lorena Vargas-Vargas, Daniel González, Marcos Francisco Rosetti, Jorge Contreras-Galindo, Gabriel Roldán-Roldán.

References

1. Shettleworth S J. Cognition, evolution, and behavior. Oxford University Press, 2009.
2. Bhimani R, Huber R. Operant avoidance learning in crayfish, *Orconectes rusticus*: Computational ethology and the development of an automated learning paradigm. *Learn Behav.* 2016; 44:239–249. <https://doi.org/10.3758/s13420-015-0205-y>
3. Chittka L, Niven J. Are bigger brains better? *Curr Biology.* 2009; 19(21):995–1008. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.08.023> PMID: 19922859
4. Alves C, Boal JG, Dickel L. Short-distance navigation in cephalopods: A review and synthesis. *Cogn Process.* 2008; 9(4):239–247. <https://doi.org/10.1007/s10339-007-0192-9> PMID: 17932698
5. Boal JG, Dunham AW, Williams KT, Hanlon RT. Experimental evidence for spatial learning in octopuses (*Octopus bimaculoides*). *J Comp Psychol.* 2000; 114(3):246–252. <https://doi.org/10.1037/0735-7036.114.3.246>
6. Jozet-Alves C, Bertin M, Clayton NS. Evidence of episodic-like memory in cuttlefish. *Curr Biol.* 2013; 23:1033–1035. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.10.021> PMID: 24309275
7. Schnell AK, Clayton NS, Hanlon RT, Jozet-Alves C. Episodic-like memory is preserved with age in cuttlefish. *Proc of the R Society B.* 2021; 288(1957):20211052. <https://doi.org/10.1098/rspb.2021.1052> PMID: 34403629
8. Collett M. Spatial memories in insects. *Curr Biol.* 2009; 19(24):1103–1108. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.10.004> PMID: 20064415
9. Perry CJ, Barron AB, Cheng K. Invertebrate learning and cognition: Relating phenomena to neural substrate. *Wiley Interdiscip Rev Cogn Sci.* 2013; 4(5):561–582. <https://doi.org/10.1002/wcs.1248> PMID: 26304245
10. Schnell AK, Clayton NS. Cephalopod cognition. *Curr Biol.* 2019; 29(15):726–732. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.06.049> PMID: 31386844
11. Fukushi T, Wehner R. Navigation in wood ants *Formica japonica*: Context dependent use of landmarks. *J Exp Biol.* 2004; 207(19):3431–3439. <https://doi.org/10.1242/jeb01159>
12. De Agrò M, Oberhauser FB, Loconsole M, Galli G, Dal Cin F, Moretto E, et al. Multi-modal cue integration in the black garden ant. *Anim Cogn.* 2020; 23:1119–1127. <https://doi.org/10.1007/s10071-020-01360-9> PMID: 32076920
13. Menzel R, Brandt R, Gumbert A, Komischke B, Kunze J. Two spatial memories for honeybee navigation. *Proc Biol Sci.* 2000; 267(1447):961–968. <https://doi.org/10.1098/rspb.2000.1097> PMID: 10874744
14. Menzel R. Serial position learning in honeybees. *PLoS One.* 2009; 4(3):e4694. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004694> PMID: 19259265
15. Han R, Huang HP, Chuang CL, Yen HH, Kao WT, Chang HY, et al. Coordination through inhibition: Control of stabilizing and updating circuits in spatial orientation working memory. *Eneuro.* 2021; 8(5). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0537-20.2021> PMID: 34385152
16. Lyu C, Abbott LF, Maimon G. Building an allocentric travelling direction signal via vector computation. *Nature.* 2022; 601(7891):92–97. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04067-0> PMID: 34912112



17. Layne JE, Barnes WJP, Duncan LM. Mechanisms of homing in the fiddler crab *Uca rapax* 1. Spatial and temporal characteristics of a system of small-scale navigation. *J Exp Biol.* 2003; 206(24):4413–4423. <https://doi.org/10.1242/jeb.00660>
18. Walls ML, Layne JE. Fiddler crabs accurately measure two-dimensional distance over three-dimensional terrain. *J Exp Biol.* 2009; 212(20):3236–3240. <https://doi.org/10.1242/jeb.031831> PMID: 19801428
19. Murakami H, Tomaru T, Gunji YP. Interaction between path integration and visual orientation during the homing run of fiddler crabs. *R Soc Open Sci.* 2017; 4(9):170954. <https://doi.org/10.1098/rsos.170954> PMID: 28989787
20. Tierney AJ, Lee J. Spatial learning in a T-maze by the crayfish *Orconectes rusticus*. *J Comp Psychol.* 2011; 125(1):31–39. <https://doi.org/10.1037/a0020866> PMID: 21244140
21. Tierney AJ, Andrews K. Spatial behavior in male and female crayfish (*Orconectes rusticus*): Learning strategies and memory duration. *Animal Cognition*, 2013; 16:23–34. <https://doi.org/10.1007/s10071-012-0547-1> PMID: 22890833
22. Vannini M, Cannicci S. Homing behaviour and possible cognitive maps in crustacean decapods. *J Exp Mar Biol Ecol.* 1995; 193(1):67–91. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(95\)00111-5](https://doi.org/10.1016/0022-0981(95)00111-5)
23. Davies R, Gagen MH, Bull JC, Pope EC. Maze learning and memory in a decapod crustacean. *Biol Lett.* 2019; 15:20190407. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2019.0407>
24. Klappenbach M, Nally A, Locatelli FF. Parallel memory traces are built after an experience containing aversive and appetitive components in the crab *Neohelice*. *PNAS.* 2017; 114(23):4666–4675. <https://doi.org/10.1073/pnas.1701927114> PMID: 28507135
25. Péter A. Solomon Coder: A Simple Solution for Behavior Coding. Ver. Beta 15.11.19. 2015. <https://solomon.andraspeter.com>
26. Lee PG, Meyers SP. Chemoattraction and feeding stimulation in crustaceans. *Aquac Nutr.* 1996; 2:157–164. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.1996.tb00055.x>
27. Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw.* 2019; 67:1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
28. R Core Team, R: A Language and Environment for Statistical Computing. Ver. 3.6.0. 2021; <https://www.r-project.org>
29. Radushev D. GraphPad Software, GraphPad Prism. Ver 9. 0. 1. For MacOs. 2021; <https://www.graphpad.com>
30. Elwood RW, Appel M. Pain experience in hermit crabs? *Anim Behav.* 2009; 77(5):1243–1246. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.01.028>
31. Morrow JE, Smithson BL. Learning sets in an invertebrate. *Science.* 1969; 164(3881):850–851. <https://doi.org/10.1126/science.164.3881.850> PMID: 5767791
32. Tran MV. Behavioral reactions to novel food odors by intertidal hermit crabs. *Behav Process.* 2015; 113:35–40. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2014.12.015> PMID: 25562193
33. Yerkes R. Habit-formation in the green crab, *Carcinus granulatus*. *Biol Bull.* 1902; 3(5):241–244. <https://doi.org/10.2307/1535878>
34. Roudez RJ, Glover T, Weis JS. Learning in an invasive and a native predatory crab. *Biol Invasions.* 2008; 10(8):1191–1196. <https://doi.org/10.1007/s10530-007-9195-9>
35. Ramey PA, Teichman E, Oleksiak J, Balci F. Spontaneous alternation in marine crabs: Invasive versus native species. *Behav Process.* 2009; 82(1):51–55. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2009.04.006> PMID: 19379799
36. Jiménez-Morales N, Mendoza-Ángeles K, Porras-Villalobos M, Ibarra-Coronado E, Roldán-Roldán G, Hernández-Falcón J. Who is the boss? Individual recognition memory and social hierarchy formation in crayfish. *Neurobiol Learn Mem.* 2018; 147:79–89. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.11.017> PMID: 29198599
37. Tomsic D, DeAstrada MB, Sztarker J. Identification of individual neurons reflecting short- and long-term visual memory in an arthropod. *J Neurosci.* 2003; 23(24):8539–8546. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-24-08539>
38. Gherardi F, Atema J. Memory of social partners in hermit crab dominance. *Ethol.* 2005; 111(3):271–285. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2004.01060.x>
39. Pedreira ME, Pérez-Cuesta LM, Maldonado H. Mismatch between what is expected and what actually occurs triggers memory reconsolidation or extinction. *Learn. Mem.* 2004; 11(5):579–85. <https://doi.org/10.1101/lm.76904> PMID: 15466312
40. Merlo E, Romano A. Memory extinction entails the inhibition of the transcription factor NF- κ B. *PLoS ONE.* 2008; 3(11): e3687. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003687> PMID: 18997870



41. Hepp Y, Pérez-Cuesta LM, Maldonado H, Pedreira ME. Extinction memory in the crab *Chasmagnathus*: recovery protocols and effects of multi-trial extinction training. *Anim. Cogn.* 2010; 13:391–403 <https://doi.org/10.1007/s10071-009-0288-y> PMID: 19813034
42. Harzsch S, Hansson BS. Brain architecture in the terrestrial hermit crab *Coenobita clypeatus* (Anomura, Coenobitidae), a crustacean with a good aerial sense of smell. *BMC Neurosci.* 2008; 9(1):58. <https://doi.org/10.1186/1471-2202-9-58> PMID: 18590553
43. Dunham DW, Gilchrist SL. Behaviour. In: Burggren WW, McMahon BR, editors. *Biology of the land crabs*. New York: Cambridge University Press; 1988. pp. 97–137.
44. Rittschof D. Chemosensation in the daily life of crabs. *Am Zool.* 1992; 32(3):363–369. <https://doi.org/10.1093/icb/32.3.363>
45. Shragai T, Ping X, Arakaki C, Garlick D, Blumstein DT, Blaisdell AP. Hermit crab response to a visual threat is sensitive to looming cues. *PeerJ.* 2017; 5:e4058. <https://doi.org/10.7717/peerj.4058> PMID: 29204320
46. Hemmi JM. Predator avoidance in fiddler crabs: 2. The visual cues. *Anim Behav.* 2005; 69(3):615–625. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2004.06.019>
47. Greenaway P. Terrestrial adaptations in the Anomura (Crustacea: Decapoda). *Memoirs Mus Vic.* 2003; 60(1):13–26. <https://doi.org/10.24199/J.MMV.2003.60.3>
48. Thacker RW. Food choices of land hermit crabs (*Coenobita compressus* H. Milne Edwards) depend on past experience. *J Exp Mar Biol Ecol.* 1996; 199:179–191. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(95\)00192-1](https://doi.org/10.1016/0022-0981(95)00192-1)
49. Pompilio L, Kacelnik A, Behmer ST. State-dependent learned valuation drives choice in an invertebrate. *Science.* 2006; 311(5767):1613–1615. <https://doi.org/10.1126/science.1123924> PMID: 16543461
50. Tomsic D, Sztarker J, de Astrada MB, Oliva D, Lanza E. The predator and prey behaviors of crabs: From ecology to neural adaptations. *J Exp Biol.* 2017; 220(13):2318–2327. <https://doi.org/10.1242/jeb.143222> PMID: 28679790
51. Loukola OJ, Perry CJ, Coscos L, Chittka L. Bumblebees show cognitive flexibility by improving on an observed complex behavior. *Science.* 2017; 355(6327):833–836. <https://doi.org/10.1126/science.aag2360> PMID: 28232576
52. Hazlett BA. Behavioral plasticity in crustacea: Why not more? *J Exp Mar Biol Ecol.* 1995; 193(2):57–66. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(95\)00110-7](https://doi.org/10.1016/0022-0981(95)00110-7)
53. Hazlett BA. Influence of rearing conditions on initial shell entering behavior of a hermit crab (Decapoda, Paguridea) 1. *Crustaceana.* 1971; 20(2):167–170. <https://doi.org/10.1163/156854069X00196>
54. Hazlett BA. Shell exchanges in hermit crabs: aggression, negotiation, or both?. *Anim Behav.* 1978; 26(4):1278–1279. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(78\)90123-9](https://doi.org/10.1016/0003-3472(78)90123-9)
55. Hazlett BA. “Individual” recognition and agonistic behaviour in *Pagurus bernhardus*. *Nat.* 1969; 222(5190):268–269. <https://doi.org/10.1038/222268a0> PMID: 5813518
56. Laidre ME. How rugged individualists enable one another to find food and shelter: Field experiments with tropical hermit crabs. *Proc. R. Society Lond. B* 2010; 277:1361–1369. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1580> PMID: 20031987
57. Krieger J, Hörnig MK, Laidre ME. Shells as ‘extended architecture’: To escape isolation, social hermit crabs choose shells with the right external architecture. *Anim. Cognition.* 2020; 1–11. <https://doi.org/10.1007/s10071-020-01419-7> PMID: 32770436
58. Gherardi F, Micheli F, Vannini M. Movement patterns and dispersal of the hermit crab *Clibanarius longitarsus* in a mangrove swamp. *Mar Behav Physiol.* 1990; 16(4):209–223. <https://doi.org/10.1080/10236249009378750>.

