



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE PSICOLOGÍA

*Efecto de la privación de sueño sobre el aprendizaje en  
Drosophila melanogaster*

*TESIS*

*Que para obtener el título de  
Licenciado en Psicología*

*Presenta*

Rodolfo Cebreros Paniagua

Director de tesis

Dr. Fructuoso Ayala Guerrero

Ciudad Universitaria, México, Marzo 2012





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.

# INDICE

Resumen.....	1
--------------	---

## Capítulo I

1. Antecedentes.....	2
1.1. <i>El sueño y su función</i> .....	2
1.1.1. Características generales.....	2
1.1.2. Fases del sueño.....	2
1.1.3. Cambios fisiológicos.....	4
1.1.4. Funciones.....	5
1.2. <i>Filogenia del sueño y modelos animales</i> .....	6
1.2.1. Mamíferos.....	6
1.2.2. Aves.....	7
1.2.3. Reptiles y anfibios.....	7
1.2.4. Peces.....	8
1.2.5. Invertebrados.....	8
1.3. <i>Sueño y aprendizaje en <i>Drosophila melanogaster</i></i> .....	9
1.3.1. Características generales.....	9
1.3.2. Sueño.....	10
1.3.3. Aprendizaje.....	13
1.3.4. Relación sueño-aprendizaje.....	17

## Capítulo II

2.1. Planteamiento del problema.....	20
2.2. Justificación.....	22

2.3. Hipótesis y objetivos.....	23
2.3.1. Hipótesis.....	23
2.3.2. Objetivo general.....	24
2.3.3. Objetivos específicos.....	24

### **Capítulo III**

3. Método.....	25
3.1. Tipo y diseño de investigación.....	25
3.2. Definición de variables.....	25
3.3. Sujetos de estudio.....	25
3.4. Materiales e instrumentos.....	26
3.5. Procedimientos.....	29
3.6. Preparación y análisis estadístico de los datos.....	32

### **Capítulo IV**

4. Presentación, análisis e interpretación de los datos.....	35
4.1. Grupo control.....	35
4.2. Grupo experimental.....	38
4.3. Comparación control-experimental.....	42
4.4. Resultados cualitativos.....	46

### **Capítulo V**

5.1. Discusión.....	47
5.2. Conclusión.....	52
5.3. Referencias.....	53

## Resumen

El estudio del sueño y su importancia en los organismos vivos es un tema que ha intrigado a los investigadores desde hace varias décadas. La mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) es un modelo animal que puede ser fundamental para comprender las funciones del sueño ya que presenta periodos de reposo semejantes a los del humano. El objetivo del presente estudio es analizar el efecto de la privación de sueño sobre la consolidación del aprendizaje de una tarea de localización de alimento en la mosca de la fruta después de varias sesiones de entrenamiento. Para la investigación se utilizó a 50 moscas de la especie *Drosophila melanogaster* de tipo silvestre las cuales se entrenaron individualmente durante 6 días en una tarea de localización de alimento utilizando pistas visuales, después de los 6 días se llevó a cabo la privación de sueño utilizando estimulación mecánica. Después de la privación de sueño se repitió la tarea con la finalidad de analizar el efecto observado en el aprendizaje. Se utilizó un grupo control de 50 moscas a las que se les entrenó de la misma forma que al grupo experimental, pero sin la aplicación de la privación de sueño. Las moscas privadas de sueño tardan significativamente más tiempo en localizar el alimento en comparación al tiempo que tardan antes de la privación; así mismo presentan más errores y menos aciertos una vez privadas de sueño. Por otro lado, se observa que las moscas del grupo experimental presentan un déficit significativo en el aprendizaje posterior a la privación de sueño con respecto al grupo control, tardan aproximadamente 300 segundos más en localizar el alimento y presentan más errores y menos aciertos. Se puede concluir que la privación de sueño provoca un déficit en la consolidación del aprendizaje de localización de alimento en la mosca *Drosophila melanogaster*, que se ve reflejado en un aumento significativo en la latencia de llegada al alimento, en un aumento en el número de errores y en una disminución en el número de aciertos, todo esto con respecto a su desempeño anterior a la privación y al grupo control con el que se comparó.

# Capítulo I

## 1. Antecedentes

### *1.1. El sueño y su función*

#### 1.1.1. Características generales

El sueño es un fenómeno que ha sido caracterizado principalmente en los vertebrados homeotermos en donde se han identificado regiones cerebrales que participan en su regulación. Sin embargo, a pesar de los esfuerzos que se han hecho para poder comprender la función del sueño, aún resulta difícil afirmar cuál o cuáles son estas funciones que son fundamentales para el correcto funcionamiento de los organismos (Tomado de Carlson, 2006).

El sueño es una conducta biológicamente necesaria que se caracteriza por la presencia de varias características conductuales. Entre estas se encuentran: una postura estereotipada de descanso, una marcada ausencia de movimientos corporales voluntarios, escasa respuesta a estímulos externos de baja intensidad que en vigilia son percibidos sin dificultad y por una duración limitada y reversible del estado de sueño (Tomado de Ramos, 1996). Todas estas características varían dependiendo de la especie animal que se observe.

#### 1.1.2. Fases del sueño

A diferencia de lo que se pensaba con anterioridad, la actividad cerebral de los organismos durante el sueño no desaparece. Gracias a la técnica del electroencefalograma (EEG), se ha encontrado diferentes etapas del sueño con diferentes características electrofisiológicas. En el humano se pueden diferenciar 4 fases de sueño con diferentes características: 3 fases de sueño lento (sueño no-MOR) y una fase de sueño con Movimientos Oculares Rápidos (sueño MOR) (Tomado de Carlson, 2006; Ramos, 1996).

- Vigilia

En humanos durante la vigilia se puede observar un patrón de actividad cerebral con ondas de alta frecuencia y baja amplitud denominado ritmo beta, que va de los 13 a los 30 Hz; este ritmo indica alta actividad cerebral y una tasa de disparo de las células nerviosas variable. Al cerrar los ojos durante la vigilia se puede observar un cambio en esta actividad que se caracteriza por la presencia de ritmo alfa, con menor frecuencia y mayor amplitud que el beta; el ritmo alfa va de los 8 a los 12 Hz (Tomado de Carlson, 2006; Ramos, 1996).

- Fase 1

La fase 1 de sueño es la fase inicial y se caracteriza por una reducción significativa del ritmo alfa y por la presencia de una actividad eléctrica mixta de bajo voltaje, denominada ritmo theta, que va de los 3.5 a los 7.5 Hz. Esta etapa suele ser algo inestable y al despertarse los sujetos durante este periodo suelen reportar que aun no habían comenzado a dormir, por lo que se dice que esta fase es en realidad una transición entre el sueño y la vigilia. Se ha observado que en esta fase los ojos se pueden abrir y cerrar lentamente y en ocasiones se mueven hacia arriba y hacia abajo (Tomado de Carlson, 2006; Ramos, 1996).

- Fase 2

La fase 2 aparece aproximadamente 10 minutos después de la iniciación al sueño y se caracteriza por la aparición de husos de sueño y complejos K, además de un patrón general de ritmo theta de bajo voltaje. Los husos de sueño son pequeñas ondas de alta frecuencia y baja amplitud que pueden ir de 12 a 14 Hz y suelen acompañarse de complejos K, ondas agudas individuales de gran amplitud que suelen aparecer con una frecuencia aproximada de 1 por minuto. Estos elementos suelen aparecer como respuesta a estímulos sensoriales externos y algunos investigadores piensan que se trata de mecanismos relacionados con mantener a la persona dormida (Tomado de Carlson, 2006; Ramos, 1996).

- Fase 3

La fase 3 se caracteriza por la presencia del ritmo delta, una actividad de gran amplitud y baja frecuencia que cuenta con menos de 3.5 Hz; es por esta actividad que se le conoce a estas fases como sueño de ondas lentas o sueño delta. Es la fase de sueño más profunda y los sujetos al despertar de ésta pueden presentar aturdimiento y confusión, asimismo reportan una actividad mental semejante a la de pensamientos durante la vigilia. Se ha observado en el electrooculograma (EOG) que los ojos presentan movimientos asimétricos (Tomado de Carlson, 2006; Ramos, 1996).

- Fase de Movimientos Oculares Rápidos (MOR)

Aproximadamente 90 minutos después de iniciarse el periodo de sueño y 45 minutos después del inicio de la fase de ondas lentas aparece la fase de sueño MOR. Esta fase se caracteriza por la presencia de actividad de bajo voltaje semejante a la que se encuentra en vigilia, pero a diferencia de la vigilia, en esta etapa de sueño se presenta una atonía muscular total. Otra característica que resalta es la presencia de movimientos oculares sincronizados y rápidos. Si se despierta a sujetos humanos en esta fase reportan la presencia de ensoñaciones que suelen tener una estructura narrativa. (Tomado de Carlson, 2006; Ramos, 1996).

Las fases de sueño aparecen varias veces repitiéndose cíclicamente durante la noche, su ciclo tiene una duración aproximada de 90 minutos. Cabe resaltar que, en humanos, la primera parte del sueño se caracteriza por mayor presencia de sueño de ondas lentas; en la segunda mitad aparecen periodos de sueño MOR cada vez mayores, en comparación a la primera mitad del sueño (Tomado de Carlson, 2006; Ramos, 1996).

### 1.1.3. Cambios fisiológicos

El sueño está acompañado de variaciones en la actividad del sistema nervioso autónomo. Entre estas se encuentran cambios en la respiración, actividad cardiovascular, termorregulación (en animales endotermos), actividad endócrina y actividad del sistema

inmunitario. Durante el sueño no-MOR se observa una disminución en la frecuencia de la respiración mientras que en sueño MOR se vuelve irregular. En cuanto a la actividad cardiovascular se ha observado que durante el sueño no-MOR (Fases 1, 2 y 3 de sueño) disminuye la presión arterial y durante el sueño MOR se vuelve irregular. La temperatura corporal en animales endotermos desciende durante el sueño no-MOR, mientras que en el sueño MOR la temperatura se va ajustando a la del ambiente. Existen varias hormonas que alcanzan sus niveles más altos dentro del cuerpo en el periodo del sueño, algunas de estas son la hormona del crecimiento, la renina, la prolactina, las gonadotropinas, la hormona folículo-estimulante y la hormona luteinizante (Tomado de Ramos, 1996).

#### 1.1.4. Funciones

Utilizando a animales de laboratorio se ha comenzado a poner en evidencia cuales pueden ser las funciones del sueño. Privando totalmente de sueño a ratas de laboratorio se observó que los efectos son devastadores para el animal. Se encontró que estas ratas se debilitaron, perdieron coordinación y perdieron la capacidad para regular su temperatura. Su actividad metabólica se elevó y sufrieron pérdida de peso significativa. Es probable que el sueño ayude a mantener regulados estos procesos, aunque aun no es muy claro como lo hace. La privación total de sueño terminó siendo fatal en todos los casos (Everson & Wehr, 1993).

Se ha observado que la privación de sueño MOR provoca déficits en el aprendizaje en la rata. Se comprobó que la privación de sueño MOR antes de la realización de tareas de evitación activa y pasiva provoca fallas en la adquisición de la información (Stern, 1971); además se ha observado que la privación de sueño después del entrenamiento provoca fallas en el desempeño de ciertas tareas, por lo que se concluye que la privación de sueño también afecta la consolidación del aprendizaje. A su vez se presentan aumentos en la cantidad de sueño MOR después de la presentación de tareas de aprendizaje (Smith, 1996). En humanos también se ha encontrado esta relación, pues se ha visto que el sueño MOR de estudiantes universitarios aumenta significativamente después de periodos de exámenes; estos aumentos se observan sobre todo en el cuarto y quinto periodos de

sueño MOR de la noche (Smith & Lapp, 1991). Estos experimentos aportan evidencia de la participación del sueño en procesos de plasticidad neuronal. Se ha observado también una relación entre el sueño y la plasticidad neuronal durante el desarrollo de estructuras cerebrales como la corteza visual (Frank et al., 2001).

Varios investigadores han descrito que el aumento en la actividad mental de sujetos resulta en cambios importantes en la estructura y duración del sueño, principalmente del sueño MOR. Al estimularse mecánicamente la mano de una persona, evento que activa la corteza somatosensorial, se ha encontrado que aumenta la cantidad de actividad delta dentro de esta región cerebral durante la primera hora de sueño (Kattler et al., 1994). En otro experimento se observó que la estimulación de la actividad mental durante la vigilia, sin aumentar la actividad física ni el nivel de estrés, provoca aumentos significativos en el sueño de ondas lentas (Horne & Minard, 1985).

## 1.2. *Filogenia del sueño y modelos animales*

El sueño, así como diferentes variedades de tipos de sueño, se ha observado en la mayoría de los animales estudiados hasta el momento (Ayala & Mexicano, 2008; Ramos, 1996). El estudio de la filogenia del sueño nos puede ayudar a comprender su importancia evolutiva a lo largo de los años.

### 1.2.1. Mamíferos

Se ha observado que todos los mamíferos placentarios y marsupiales presentan las características electrofisiológicas y conductuales mencionadas anteriormente, lo que permite identificar la presencia de fase de sueño lento y sueño MOR. A pesar de que la mayoría de los mamíferos presentan características generales de sueño semejantes, se ha visto que estas pueden variar considerablemente dependiendo de la especie. Hay mamíferos que presentan más sueño no-MOR que los humanos, como el gato; otras especies duermen significativamente menos, como el conejillo de indias. Además la duración de los ciclos de fases dentro del sueño varía en cada especie. En mamíferos

acuáticos, a diferencia de lo encontrado en los demás mamíferos, se presenta sueño lento unihemisférico, que consiste en que los hemisferios pueden presentar ondas lentas de forma independiente con respecto al otro hemisferio (Ayala & Mexicano, 2008; Ramos, 1996).

### 1.2.2. Aves

Diversos estudios han concluido que las aves también presentan los dos tipos de sueño mencionados anteriormente, el sueño MOR y el sueño no-MOR (fase 1, 2 y sueño de ondas lentas). Se ha observado que los periodos de sueño MOR y no-MOR en las aves son bastante más cortos que en los mamíferos, además de que la mayoría de aves no pierde el tono muscular al dormir, cosa que sí ocurre en los mamíferos. (Ayala & Mexicano, 2008; Ramos, 1996).

### 1.2.3. Reptiles y anfibios

En reptiles y anfibios se han identificado con éxito periodos de reposo semejantes al de mamíferos y aves, aunque no se ha logrado distinguir la presencia de sueño MOR, por lo que esto hace pensar a los investigadores que el sueño MOR evolucionó independientemente en las aves y en los mamíferos. Sin embargo estudios recientes han encontrado la presencia de dos diferentes fases de sueño en reptiles y anfibios, una fase de sueño pasivo y una fase de sueño activo; estas dos fases presentan características semejantes al sueño lento y sueño MOR de aves y mamíferos. Los investigadores han concluido que el sueño pasivo encontrado en estos animales se desarrollo como sueño lento a medida que fue evolucionando el cerebro de los organismos y el sueño activo derivó finalmente en el sueño MOR (Ayala & Mexicano, 2008).

#### 1.2.4. Peces

Los investigadores han observado, utilizando criterios conductuales, que varias especies de peces presentan periodos de inactividad en diferentes periodos del día acompañados de una disminución en su actividad cardiaca y respiratoria; además presentan un alto umbral para reaccionar a estimulación externa, por lo que concluyeron que los peces, al igual que los animales mencionados anteriormente, también presentan periodos de sueño. Posteriormente se observó que estos organismos presentan fases de sueño activo y pasivo, semejantes a las encontradas en reptiles y anfibios, por lo que se concluye que todos los animales vertebrados presentan 2 fases generales de sueño, una pasiva y una activa (Ayala & Mexicano, 2008).

#### 1.2.5. Invertebrados

Hasta hace algunos años se descartaba que animales invertebrados presentaran periodos de sueño semejantes a los descritos en otros animales. Recientemente se empezó a considerar que animales más simples, como algunos invertebrados, presentan un periodo de reposo parecido al sueño y con características semejantes al que presentan animales ampliamente estudiados con anterioridad (Ramón et al., 2004; Reizen et al., 2008; Hendricks et al., 2000).

Se ha observado un cambio en la actividad electrofisiológica de los acociles durante periodos de inactividad. Estos animales invertebrados presentan ondas lentas durante su periodo de reposo, semejante a lo que ocurre en otros animales (Ramón et al., 2004). Así mismo se ha observado que en organismos primitivos como el nematodo *C. Elegans* también se presentan periodos de reposo semejantes al sueño. En este nematodo se han observado estos periodos de reposo anteriores a periodos importantes de su desarrollo (Reizen et al., 2008).

Los primeros estudios del sueño en invertebrados se realizaron en la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*), un animal ampliamente usado en la investigación. Hendricks et al. (2000) comenzó con estas investigaciones y a partir de ahí se ha logrado avanzar en

el estudio de la filogenia y de la función del sueño. En el siguiente apartado se describirán las aportaciones más importantes de la investigación de la mosca de la fruta en el sueño.

### *1.3. Sueño y aprendizaje en *Drosophila melanogaster**

#### 1.3.1. Características generales

La mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) es una especie animal invertebrada ampliamente usada en la investigación. Debido a su fácil manejo, su corto ciclo de vida y su capacidad para reproducirse rápidamente, se convirtió en un modelo ideal para estudiar como un organismo modelo en la biología, principalmente en genética (Reeve, 2001). Su amplio estudio y su relación con genes humanos permitieron comprender la genética detrás de diferentes fenómenos homólogos, incluyendo procesos cognitivos y conductuales (Zhong et al., 1992). A raíz de su gran uso en la investigación se logró secuenciar el genoma completo de la mosca, lo que permite que su estudio vaya en ascenso (Adams, 2000).

La mosca de la fruta es un insecto volador de alrededor de 2.5 milímetros de longitud. Su cuerpo presenta un color amarillo-café con aros de color negro atravesando su abdomen. Una de sus principales características físicas es la presencia de dos grandes ojos rojos, que en realidad se componen de aproximadamente 760 subunidades; cada subunidad se compone células foto-receptoras, células de soporte, células pigmentadas y cornea, lo que le proporciona una vista avanzada entre los insectos y le permite distinguir colores en el ambiente (Fig.1). Su ciclo de vida dura aproximadamente 30 días a una temperatura de 25°C. El tiempo de desarrollo desde huevo a mosca adulta es de 8 días, aunque puede variar si se modifica la temperatura. Una vez en estado adulto las hembras requieren de 8 a 12 horas para alcanzar la madurez sexual (Ashburner et al., 2005).

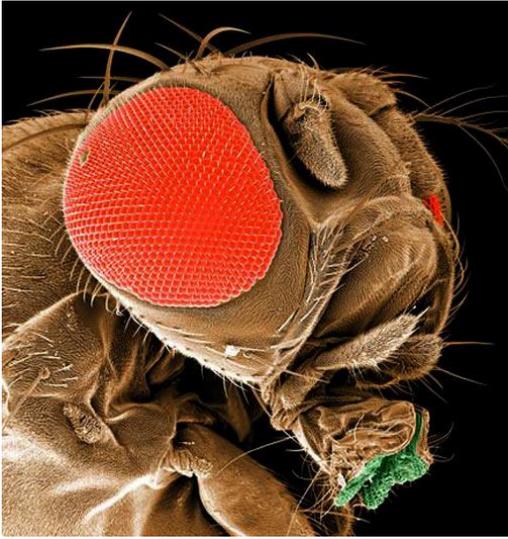


Figura 1. Imagen de microscopio electrónico de barrido de la mosca *Drosophila*. En esta figura se pueden observar los complejos ojos (color rojo) de este animal (Science, 2010).

### 1.3.2. Sueño

Al convertirse la mosca de la fruta en un importante modelo experimental para explicar fenómenos encontrados en el humano, se hizo posible que se pudiera estudiar el sueño utilizando este útil insecto. Como se mencionó con anterioridad, Hendricks y colaboradores (2000) encontraron que los periodos de reposo en la mosca siguen las mismas pautas conductuales que se presentan en el sueño en animales “superiores” (como aves y mamíferos), estas pautas son: periodos circadianos consolidados de inmovilidad, posturas y lugares específicos, incremento del umbral para retornar a la vigilia y mecanismos homeostáticos reguladores en donde la privación de sueño tiene como resultado un incremento en el estado de reposo siguiente . También se han observado algunos cambios electrofisiológicos en potenciales locales situados en estructuras nerviosas relacionadas con la modulación de la actividad locomotora en moscas en reposo; se observaron potenciales en forma de pico rodeados de actividad de baja amplitud, estos potenciales tienden a ocurrir en ráfagas (Nitz et al., 2002). Esta evidencia sugiere que *Drosophila Melanogaster* presenta cambios de la actividad nerviosa cuando pasa de la vigilia a un estado de reposo, lo que también ocurre en otros animales.

Retomando las características conductuales de la mosca, se ha descrito que este organismo presenta un comportamiento de reposo que consiste en una inmovilidad relajada en una postura y localización determinadas. Se observa que justo antes del

periodo de reposo la mosca se aleja unos milímetros de la fuente de comida y adquiere una posición de soporte en donde se recuesta ligeramente boca abajo. La mosca presenta un estado de inmovilidad total de alrededor de 26 minutos donde solo se observan movimientos respiratorios. Además, se pueden observar pequeños movimientos esporádicos principalmente en la proboscide, en el abdomen y en las extremidades (Hendricks et al., 2000).

Las moscas presentan periodos de reposo y de actividad en diferentes momentos del día. Se han analizado periodos de reposo y de actividad observándose que los periodos de reposo aumentan significativamente en la noche (Hendricks et al., 2000; Shaw et al., 2000).

Utilizando estimulación mecánica de golpeteo leve en contenedores con moscas se observó que las que se encuentran en estado de reposo no responden a esta estimulación, a diferencia de las moscas que se encuentran activas, las cuales tienden a volar en cuanto se produce la estimulación. Asimismo, se observó que se requiere de cada vez mayor intensidad de estimulación para que las moscas despierten. Se ha observado que la privación de sueño por medio de un ligero golpeteo aplicado durante 12 horas en el periodo de oscuridad de las moscas, tuvo como consecuencia la aparición de periodos de reposo en las siguientes 6 horas del periodo de luz, los cuales no aparecen normalmente. El rebote de sueño mencionado se encontró solamente en moscas a las que se les privó por más de 1.5 horas, pero no se encontró rebote significativo en moscas con menor privación. Esto indica que el ciclo de sueño-vigilia en la mosca de la fruta está controlado por influencias circadianas y también por un proceso homeostático (Hendricks et al., 2000; Shaw et al., 2000).

Shaw et al. (2000) observaron que el patrón de reposo de la mosca durante su ciclo de vida, es similar al presentado por los mamíferos. En el primer día de adultez de las moscas se observa una gran cantidad de horas de reposo, pero a partir de los 3 días de adultez la cantidad de reposo comienza a descender. En moscas de 33 días de adultez se observa una cantidad de reposo muy por debajo de la observada en los adultos jóvenes.

En estudios recientes se ha comprobado que la administración crónica de cafeína en la mosca de la fruta puede reducir y fragmentar su sueño y también aumenta su periodo de actividad circadiana (Wu et al., 2009). Efectos similares se han encontrado con otro tipo de fármacos como el Modafinil (Hendricks et al., 2003). Esta evidencia indica que los mismos fármacos que alteran el sueño en mamíferos, también tienen efecto en el estado de reposo de la mosca de la fruta; el estudio de los procesos que intervienen en el efecto observado puede coadyuvar a explicar a nivel genético y molecular lo que ocurre en el interior de organismos más complejos.

La privación de sueño ha sido una herramienta útil para explicar la función evolutiva que tiene el sueño en los animales. Anteriormente se explicó que el sueño en *Drosophila* obedece a un mecanismo homeostático, pues la privación de sueño provoca un efecto de rebote compensatorio, por lo tanto el organismo tratará siempre de reponer parte del sueño perdido. Estudios más recientes han profundizado en este fenómeno y han concluido que la respuesta homeostática del sueño en la mosca comparte casi todas las características homeostáticas del sueño en mamíferos, incluyendo un decremento en la vigilancia o alerta de la mosca privada de sueño (Huber et al., 2004; Cirelli & Bushey, 2008).

Actualmente se han distinguido estructuras neurales en la mosca de la fruta relacionadas con el control del sueño, una de las más estudiadas son los cuerpos fungiformes (Joiner et al., 2006). Estudios recientes han confirmado que la eliminación química de los cuerpos fungiformes produce una importante reducción en el sueño de la mosca de la fruta, por lo que su función se relaciona con la regulación del sueño (Pitman et al., 2006). Como se verá más adelante, esta estructura neuronal también está implicada en diferentes tipos de aprendizaje en la mosca (Wang et al., 2007). Lo mismo sucede con otra estructura neuronal de la mosca: los cuerpos en forma de abanico. Se ha observado que al alterar genéticamente esta estructura, provocando mayor actividad de sus neuronas, la mosca de la fruta tiende a dormir más; como se verá más adelante este efecto tiene consecuencias en el aprendizaje (Donlea et al., 2011).

El sueño en animales se ha relacionado con el proceso de aprendizaje. Ratas privadas de sueño tienen dificultades para aprender dentro de laberintos (Smith, 1996). Asimismo se ha visto que el sueño MOR en humanos aumenta considerablemente en épocas en donde se requiere mayor almacenaje de información, como en época de exámenes (Smith & Lapp, 1991). En la mosca de la fruta también se ha comenzado a observar una relación entre el sueño y el aprendizaje, pero antes de entrar en ese tema se describirán algunas características del aprendizaje en este organismo.

### 1.3.3. Aprendizaje

Antes de continuar se debe mencionar que se pueden distinguir tres fases dentro del aprendizaje y memoria: la fase de adquisición, la fase de consolidación y la fase de recuperación de la información. La fase de adquisición se refiere al periodo en el cual un organismo codifica y fortalece la información que recibe del exterior. Durante la consolidación se estabiliza la información recibida durante la etapa de adquisición, formando memorias de largo plazo. Una vez que la información fue adquirida y consolidada se requiere del proceso de recuperación para reutilizar la información que se ha almacenado. Las tres etapas mencionadas siguen mecanismos diferentes para su formación, por lo que es importante conocer el efecto de la privación de sueño en todas las etapas del aprendizaje (Abel & Lattal, 2001).

Desde hace varias décadas se comenzó a observar la gran capacidad de aprendizaje que presenta *Drosophila melanogaster*. Una de las primeras investigaciones sobre el aprendizaje en *Drosophila* fue llevada a cabo por Quinn et al. (1973), en donde se logró condicionar a una mosca a distinguir entre dos olores y dos colores diferentes. Estos investigadores prepararon dos experimentos de condicionamiento clásico. En el primero utilizaron dos estímulos olfativos (estímulos incondicionados) utilizando tubos de ensayo, uno relacionado con un electrochoque y otro relacionado con alimento (estímulos condicionados); después de varias sesiones de entrenamiento observaron que las moscas aprendieron a evitar el tubo de ensayo con el olor relacionado con electrochoque y a dirigirse al tubo con el olor relacionado con el alimento. En el segundo experimento se

utilizaron luces de color rojo y azul (estímulos incondicionados) y se asoció cada una con un estímulo aversivo y con alimento (estímulos condicionados); al igual que en el experimento anterior, las moscas aprendieron a evitar el tubo iluminado con el color relacionado con el estímulo aversivo y a dirigirse al tubo iluminado con el color relacionado con la comida (Quinn et al., 1973). A pesar de que los investigadores lograron observar aprendizaje en la mosca de la fruta, concluyen que este aprendizaje es de corta duración y solo un tercio de la muestra demostró el aprendizaje en ambos experimentos; sin embargo mencionan que todas las moscas presentan la capacidad para aprender (Quinn et al., 1973). Este trabajo no solamente demostró la capacidad de aprendizaje de la mosca, sino que también demostró la capacidad sensorial que presenta para diferentes modalidades de estimulación.

Investigaciones posteriores comprobaron la capacidad de aprendizaje de la mosca. Se ha observado que la mosca puede aprender a evitar descensos en la temperatura relacionados con olores diferentes (Phelan et al., 2001). En este experimento se entrenó a las moscas de forma individual para que logaran evitar recipientes con un olor determinado relacionados con descensos bruscos en la temperatura. El condicionamiento clásico realizado en esta investigación presenta las mismas características encontradas en el condicionamiento de animales superiores; la fuerza del condicionamiento incrementa cuando el descenso de temperatura es más intenso, así mismo el condicionamiento decreciente si el tiempo de presentación del olor y del descenso de temperatura se extiende. Este trabajo muestra evidencia de aprendizaje en moscas de forma individual, además de contribuir con más información acerca del condicionamiento clásico en la mosca.

Recientemente se ha mostrado que la capacidad de aprendizaje de la mosca dentro del condicionamiento clásico es aun más compleja de lo que parecía. Tabone y de Belle (2011) demostraron que este animal es capaz de aprender un condicionamiento de segundo orden, en donde un estímulo condicionado previamente se puede usar como un nuevo estímulo incondicionado para un segundo estímulo condicionado. Estos investigadores utilizaron condicionamiento aversivo utilizando estímulos olfativos.

El desarrollo de la tecnología ha permitido que se pueda observar aprendizaje más complejo en la mosca *Drosophila*, aprendizaje de tipo operante en donde la mosca debe emitir una respuesta para obtener una recompensa o evitar un castigo. El simulador de vuelo de la mosca *Drosophila* permite que se entrene a moscas individuales en una arena con estímulos visuales a su alrededor. Con este aparato se ha podido observar con éxito la capacidad que tiene la mosca *Drosophila* de memorizar patrones visuales, así como diferentes colores, y relacionarlos con estímulos aversivos, específicamente con ondas de calor (Brembs & Hempel, 2006; Brembs & Wiener, 2006). Además de simplemente evitar el estímulo aversivo relacionándolo con figuras de diferente color, forma u orientación; se descubrió que la mosca es capaz de utilizar las pistas visuales como pistas de aprendizaje de alto orden que indiquen los patrones visuales relacionados con la onda de calor utilizada. Esto ha permitido estudiar cómo es que la mosca observa y aprende de su entorno utilizando pistas visuales.

Este tipo de trabajos también ha permitido que se distingan estructuras neuronales dentro de la mosca relacionadas con su capacidad de aprendizaje y memoria visual; entre estas estructuras se encuentra el cuerpo en forma de abanico y el cuerpo elipsoidal, estructuras neuronales presentes en el complejo central que es una prominente estructura en el sistema nervioso de la mosca (Li, et al., 2009; Pan et al., 2009). Moscas con mutaciones relacionadas con fallas en el funcionamiento de las estructuras nerviosas antes mencionadas provocan déficits en el aprendizaje dentro del simulador de vuelo, relacionado con aprendizaje visual (Pan et al., 2009). En la Figura 2 se pueden observar las estructuras neuronales mencionadas anteriormente.

Otra estructura relacionada con el aprendizaje en *Drosophila* son los cuerpos fungiformes (mencionados anteriormente como reguladores del sueño). En cuanto a su papel en el aprendizaje de la mosca de la fruta se han realizado experimentos donde se elimina esta estructura, ya sea de forma química (De Belle & Heisenberg, 1994) o de forma térmica (Wang et al., 2007), y se observa un déficit en el aprendizaje, principalmente en aprendizaje de estímulos olfativos y en aprendizaje relacionado con inhibición de respuesta con estímulos visuales (Seugnet et al., 2008).

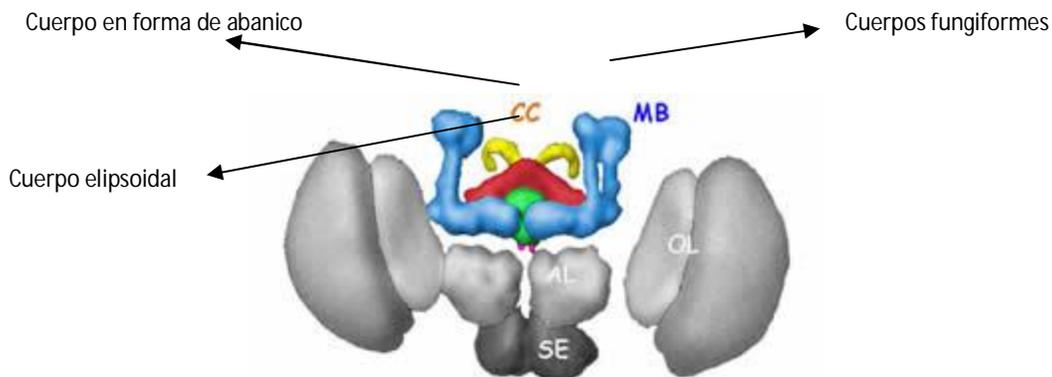


Figura 2. Representación tridimensional de estructuras del cerebro de la mosca de la fruta tomada de la Universidad de Texas en El Paso. En azul se pueden observar los cuerpos fungiformes, en rojo el cuerpo en forma de abanico y en verde el cuerpo elipsoidal; las tres estructuras se encuentran en el sistema nervioso central de la mosca.

Se ha observado también que la mosca requiere de retroalimentación visual para acceder al alimento durante la conducta de forrajeo. Se ha visto que la mosca de la fruta localiza un olor atractivo, pero falla en llegar a la fuente si es que no tiene retroalimentación visual del objetivo (Frye et al., 2003). En este experimento se observó que cuando se coloca un estímulo olfativo en algún lugar determinado dentro de una arena de un metro de diámetro las moscas fallan en encontrar la fuente del olor cuando la arena es blanca y sin ninguna pista visual identificable; sin embargo tienden a sobrevolar el área relacionada con el olor cuando se presentan patrones visuales dentro de la arena de experimentación (Frye et al., 2003).

#### 1.3.4. Relación sueño-aprendizaje

Si el sueño en *Drosophila* presenta características homeostáticas similares a las de los mamíferos, es probable que la privación de sueño tenga algún efecto en la capacidad de aprendizaje o en el desempeño de la mosca de la fruta en tareas como las mencionadas anteriormente. Así mismo es importante destacar la relación que tiene la estructura de los cuerpos fungiformes con dos procesos diferentes (sueño y aprendizaje) y la relación de dependencia que pueden presentar estos dos procesos (Joiner et al., 2006). La evidencia

científica comienza a sugerir que efectivamente el desempeño de *Drosophila* en algunas tareas decae después de la privación de sueño (Li, et al., 2009; Seugnet et al., 2008; Seugnet et al., 2009; Seugnet et al., 2011).

La privación de sueño durante etapas tempranas del desarrollo de la mosca adulta (de 1 día en estado adulto) provoca un déficit de larga duración en el aprendizaje de inhibición de respuesta utilizando estimulación visual (Seugnet et al., 2011). Esta tarea consiste en colocar a las moscas en un laberinto T en donde un extremo está iluminado y el otro no lo está, sin embargo el extremo iluminado presenta un papel filtro con una solución que resulta aversiva para la mosca; las moscas tienden a dirigirse hacia la luz (fototaxia), por lo tanto dentro de esta tarea deben de inhibir esta respuesta de fototaxia y dirigirse hacia el extremo no iluminado del laberinto. Las moscas privadas de sueño antes del entrenamiento fallan en aprender la tarea y no logran recuperarse después de periodos de sueño subsecuentes. Utilizando el mismo procedimiento, pero en moscas más avanzadas en su desarrollo, se observó que cuando las moscas recuperan el sueño, son capaces de realizar esta tarea sin fallas significativas (Seugnet et al., 2008). La relación entre el sueño y etapas de desarrollo de los organismos, así como de plasticidad cerebral, ya se ha mencionado con anterioridad (Frank et al., 2001; Raizen et al., 2008); con esto se puede observar esta relación y su efecto en el desarrollo de la capacidad de aprender de la mosca.

En un modelo de Parkinson con moscas alteradas genéticamente se ha observado el mismo efecto cuando se realiza la privación, sin embargo estas moscas no recuperan su capacidad de aprendizaje después de volver a dormir (Seugnet et al., 2009). Seugnet et al. (2009) también lograron desarrollar una cepa de moscas genéticamente insomnes y observaron sus características. Estas moscas, que solo duermen alrededor de 60 minutos al día, presentan un pobre desempeño en la tarea de inhibición de respuesta fototáctica.

La inducción al sueño de forma experimental dentro del laboratorio también tiene notables efectos en el aprendizaje. Alteraciones genéticas que provocan un aumento en la actividad de neuronas del cuerpo en forma de abanico tienen como efecto un aumento en

la cantidad de horas de sueño de la mosca de la fruta, este procedimiento funciona como un “switch” de control de sueño. Con este procedimiento se logró que la mosca consolidara información a largo plazo en una tarea relacionada con cortejo cuando se indujo al sueño después del entrenamiento. La tarea consistió en exponer a machos adultos a otros machos genéticamente modificados para generar feromonas normalmente secretadas por las hembras. Los sujetos machos se acercan a las moscas modificadas debido a las feromonas, pero son rechazados; después de varios ensayos las moscas aprenden a evitar a los machos modificados genéticamente. Cuando se indujo al sueño artificialmente después del entrenamiento las moscas lograron formar memoria a largo plazo, cosa que no ocurrió cuando no se provocó que las moscas durmieran; esto muestra la importancia del sueño en la consolidación del aprendizaje (Donlea et al., 2011).

Se ha observado que la privación de sueño de 8 a 9 horas produce un déficit en el desempeño de moscas *Drosophila* entrenadas en una tarea de condicionamiento olfativo de tipo pavloviano. En esta tarea a las moscas se les presentaron dos estímulos olfativos, uno de ellos relacionado con un choque eléctrico, después las moscas entraban en un laberinto T donde se presentaba cada uno de los olores en los extremos del laberinto, las moscas lograron asociar el estímulo con el electrochoque dirigiéndose al extremo del laberinto que contenía el olor neutro. Se privó de sueño a las moscas por 24 horas y se aplicó la tarea de aprendizaje después de 1, 3 y 7 horas de la privación; se observó que las moscas presentaban un déficit significativo en la adquisición del aprendizaje 1 hora después de la privación, pero no se observaron diferencias significativas con un grupo control al presentar la tarea 3 y 7 horas después de dicha privación. En este estudio se probó también el efecto de la privación de sueño antes del entrenamiento en una tarea de localización espacial que produce memoria a largo plazo; no se observaron diferencias significativas entre el grupo control y grupo experimental. Es así que se considera que la privación de sueño produce un déficit en la memoria a corto plazo en condicionamiento olfativo pavloviano (Li et al., 2009).

Es importante continuar investigando el efecto de la privación de sueño en diferentes tareas aprendidas por *Drosophila melanogaster*. Observar lo que ocurre en tareas de condicionamiento operante utilizando pistas visuales es útil para ampliar la información que se tiene acerca de la capacidad de aprendizaje de la mosca de la fruta y el efecto de la privación de sueño sobre el mismo.

## Capítulo II

### 2.1. Planteamiento del problema

El tema de estudio de esta investigación es el papel del sueño en el proceso de aprendizaje. A pesar de que el sueño ha llamado la atención de científicos y pensadores desde hace ya algunos siglos, es hasta años recientes cuando la tecnología nos ha permitido comprender de mejor manera las características generales del sueño en humanos y otros muchos organismos vertebrados e invertebrados como la mosca de la fruta (Hendricks et al., 2000). Aunque estos avances científicos han sido de gran importancia aun no se sabe con certeza la función o funciones del sueño en el organismo, por lo que es pertinente continuar con esta rama de investigaciones.

El sueño es una conducta que se caracteriza por periodos de inmovilidad que pueden variar dependiendo del organismo (Campbell & Tobler, 1984). Durante estos periodos se dan cambios importantes en la actividad eléctrica neuronal del durmiente, lo que se ha estudiado ampliamente en el humano y otros vertebrados (Campbell & Tobler, 1984). Durante el transcurso de los periodos de sueño se requiere de cada vez mayor intensidad de estimulación para despertar al organismo, por lo que se puede decir que su umbral a la estimulación va aumentando progresivamente durante el sueño (Campbell & Tobler, 1984). Otra característica importante de este proceso es que tras privaciones agudas de sueño los organismos extienden la duración de su siguiente periodo de sueño, lo que se relaciona con un proceso homeostático (Campbell & Tobler, 1984).

La privación de sueño es una herramienta útil para observar lo que ocurre en sujetos que no duermen y así darnos una idea de la importancia del sueño. La privación total de sueño tiene graves consecuencias en los organismos; experimentos con ratas han demostrado que los animales privados de sueño se debilitan, pierden coordinación y capacidad para regular su temperatura, sufren de una pérdida importante de peso y terminan muriendo (Everson & Wehr, 1993). La privación aguda de sueño provoca déficits en el aprendizaje de animales después de varias sesiones de entrenamiento (Smith, 1996). Aunque está

clara la relación entre el sueño y el aprendizaje, aún no son claros los mecanismos relacionados entre estos dos procesos.

La mosca de la fruta juega un papel importante en la investigación del sueño desde la última década. En este animal se ha puesto en evidencia un periodo de reposo similar al de otros animales ampliamente estudiados, incluyendo al humano (Hendricks et al., 2000). Recientemente se comienza a tener evidencia sobre el papel del sueño en el aprendizaje de la mosca de la fruta (Li et al., 2009; Seugnet et al., 2009), por lo que es importante continuar con la investigación en relación al aprendizaje y el sueño de este animal.

Las investigaciones mencionadas anteriormente han observado un déficit en la adquisición del aprendizaje en tareas relacionadas con inhibición de respuesta utilizando estímulos visuales y condicionamiento clásico utilizando estímulos olfativos. Pero **¿Cómo se ve afectada la consolidación de información dentro del aprendizaje operante en una tarea de localización de alimento utilizando pistas visuales y espaciales después de la privación de sueño?** A pesar de que ya existe evidencia de que efectivamente la privación de sueño causa déficits en el aprendizaje, aun falta observar si la privación afecta al aprendizaje en diferentes tipos de tareas utilizando diferente tipo de estimulación; así mismo es importante observar si la privación de sueño afecta al aprendizaje en diferentes etapas (adquisición, consolidación y recuperación de información). En este aspecto es en donde radica la importancia de la presente investigación.

La principal aportación de este trabajo al estudio del sueño y el aprendizaje de la mosca, además de lo mencionado anteriormente, es la incorporación de métodos de entrenamiento, aprendizaje y privación de sueño utilizados tradicionalmente en estudios con organismos mayores (aves y mamíferos) al estudio de *Drosophila melanogaster*. La innovación de este método de aprendizaje y privación permite observar y manipular estos fenómenos en la mosca de la fruta cuando no se cuenta con el instrumental y la tecnología utilizada típicamente. Dentro del presente estudio se aplica un método fácil de

replicar con resultados positivos dentro del estudio del aprendizaje y el sueño de la mosca de la fruta.

## 2.2. Justificación

La investigación con *Drosophila melanogaster* abre una gran posibilidad para manipular variables que nos permitan aportar información con respecto al significado funcional del sueño. Como se mencionó anteriormente, el estudio del sueño en la mosca de la fruta comenzó en la última década; así mismo las investigaciones que involucran el efecto de la privación de sueño en el aprendizaje de la mosca son muy recientes (Seugnet et al., 2008; Li et al., 2009; Seugnet et al., 2011; Donlea et al., 2011). Estos trabajos han concluido que la privación de sueño provoca un déficit en la adquisición del aprendizaje de la mosca de la fruta; también se concluye que la facilitación artificial al sueño provoca que la adquisición y consolidación de la información se realice más rápidamente.

Los estudios de privación de sueño mencionados en el párrafo anterior tienen en común la presentación de la privación de sueño en una etapa temprana del aprendizaje, antes de que se lleve a cabo cualquier tipo de entrenamiento de la tarea, por lo que es importante ver cuál es el efecto de la privación de sueño después de varios días de entrenamiento. La presente investigación tiene como objetivo privar de sueño a las moscas en el momento en el que se comienza a dar la consolidación de información dentro del aprendizaje, después de varias sesiones de entrenamiento, lo cual aporta información adicional a lo realizado con anterioridad.

El tipo de tarea que la mosca debe de aprender también puede ser importante en este tipo de estudios, ya que diferentes formas de aprendizaje se pueden procesar en diferentes ganglios neuronales de la mosca de la fruta (Wang et al., 2007; Pan et al., 2009). Las publicaciones relacionadas con la privación de sueño y su efecto en el aprendizaje utilizan principalmente tareas que involucran inhibición de respuesta a estímulos luminosos y condicionamiento clásico relacionado con estimulación olfativa. Se

ha visto que el aprendizaje de estos dos tipos de tareas requieren que los cuerpos fungiformes estén intactos en la mosca (Wang et al., 2007; Seugnet et al., 2008). Es importante observar los efectos de la privación de sueño sobre otros tipos de aprendizaje, que probablemente requieran diferentes estructuras neuronales dentro de la mosca. En esta investigación se presentó una tarea de aprendizaje operante utilizando estímulos visuales de diferente color, así como pistas espaciales dentro de un ambiente constante. El aprendizaje de patrones visuales, como el de el presente estudio, requiere de otras estructuras neuronales intactas, como lo son los “cuerpos en forma de abanico” y los “cuerpos elipsoidales” (Pan et al., 2009).

En resumen, lo que este trabajo busca aportar al conocimiento actual es si el efecto de la privación de sueño sobre el aprendizaje puede extenderse a diferentes tipos de aprendizaje que no se han estudiado con anterioridad; también observar si este efecto puede causar déficits en diferentes momentos del aprendizaje, como lo es la consolidación de información después de varias sesiones de entrenamiento.

Como se mencionó anteriormente, el objetivo general de este trabajo es introducir un nuevo método de aprendizaje y privación de sueño que simplifique la investigación con la mosca de la fruta. El procedimiento utilizado en el presente estudio es fácil de replicar sin necesidad de contar con instrumentos usados frecuentemente para observar aprendizaje y privación de sueño en *Drosophila melanogaster*.

## 2.3. Hipótesis y objetivos

### *2.3.1. Hipótesis*

Las hipótesis principales dentro de la investigación son:

- La mosca *Drosophila melanogaster* aprenderá a localizar alimento basándose en pistas visuales y espaciales a lo largo de varios ensayos.

- La privación aguda de sueño provocará un déficit en la consolidación del aprendizaje de la mosca *Drosophila melanogaster* en una tarea de localización de alimento.

### *2.3.2. Objetivo general*

Analizar el efecto de la privación de sueño sobre la consolidación del aprendizaje operante en la mosca de la fruta.

### *2.3.3. Objetivos específicos*

- Implementar una tarea de localización de alimento para la mosca de la fruta.
- Implementar un mecanismo efectivo de privación de sueño para la mosca de la fruta.
- Identificar características del aprendizaje de la mosca de la fruta en una tarea de localización de alimento utilizando pistas visuales y espaciales.
- Comprobar que lo aprendido por la mosca está relacionado con pistas visuales y espaciales y no con alguna otra variable.
- Observar cantidad de errores, aciertos y tiempo de realización de la tarea a lo largo de varios días de experimentación.
- Identificar el momento en donde se comienza a dar la consolidación de información en la mosca dentro del proceso de aprendizaje de esta tarea específica.

# Capítulo III

## 3. Método

### *3.1. Tipo y diseño de investigación*

La investigación tuvo un tipo de diseño experimental, ya que se realizó una manipulación de la variable independiente y se comparó el resultado entre un grupo control y un grupo experimental. El tipo de estudio fue transversal ya que la experimentación y análisis se llevarán a cabo solamente en una fase.

### *3.2. Definición de variables*

Variable dependiente: Consolidación del aprendizaje en una tarea de localización de alimento utilizando pistas visuales.

Variable independiente: Privación de sueño

Se tomara como muestra de aprendizaje una disminución de la latencia de llegada al alimento, una disminución en el número de errores y un aumento en el número de aciertos durante cada día de experimentación. Se tomará como muestra de déficit de aprendizaje un aumento en la latencia de llegada al alimento, un aumento en el número de errores y una disminución en el número de aciertos.

### *3.3. Sujetos de estudio*

Para realizar esta investigación se utilizaron miembros silvestres de la especie *Drosophila melanogaster* proporcionadas por el Banco de Moscas de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México. Las moscas utilizadas fueron hembras y machos de entre 1 y 5 días de estado adulto. Las moscas se encontraron a una temperatura constante de 25°Cy se mantuvieron bajo un régimen de luz/oscuridad de 12/12 horas, las luces se encendían a las 8:00 am y se apagaba a las 8:00 pm. Las moscas estudiadas se dividieron en un grupo control y un grupo experimental, cada grupo contó

con 50 moscas. La selección de las moscas para cada grupo se realizó de forma aleatoria. Los dos grupos siguieron exactamente el mismo procedimiento, con la única diferencia de que no se presentó la privación de sueño en el grupo control.

### 3.4. *Materiales e instrumentos*

- Mantenimiento de las moscas

Se utilizaron dos tubos pequeños de plástico con alimento para mantener a las moscas en constante reproducción. Una vez que las moscas depositaban sus larvas en uno de los tubos, se les trasladaba al otro recipiente con el objetivo de controlar la edad de las larvas que nacían en el primer tubo ya sin moscas adultas. De estas nuevas moscas se seleccionaron los sujetos para la experimentación (Fig. 3).

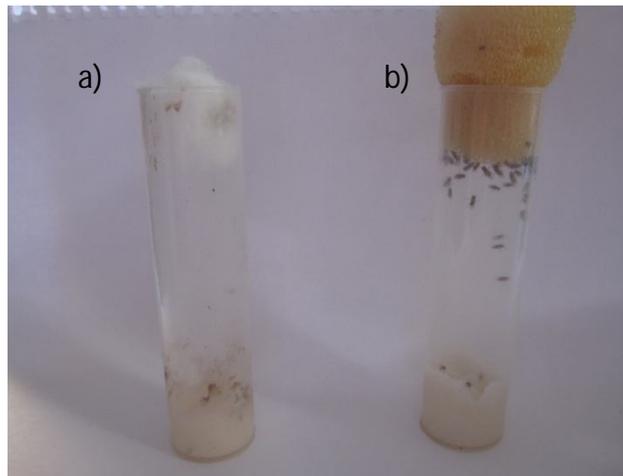


Figura 3. Fotografía que muestra: a) Contenedor con larvas. b) Nuevas moscas nacidas de las larvas, estas moscas serán seleccionadas para el experimento

Las moscas seleccionadas se separaron individualmente en diferentes contenedores de plástico con el fin de mantenerlas numeradas, permanecían separadas hasta el final de la experimentación. En cada contenedor se colocó una pequeña esponja con agua y una pequeña cantidad de alimento (Fig. 4). El alimento utilizado contiene una mezcla de harina, azúcar y levadura producido en el Banco de Moscas de la Facultad de Ciencias, UNAM.



Figura 4. Recipiente contenedor de mosca para experimentación. Las moscas se mantienen de forma individual. Se puede observar la pequeña esponja con agua, el alimento y la tapa numerada para identificar a las moscas.

- Entrenamiento y prueba de aprendizaje

Para llevar a cabo la experimentación se utilizó un recipiente plástico de forma circular forrado de papel blanco, con la excepción de una pequeña ventana de observación. La tapa del recipiente contiene un orificio por donde se metía y sacaba a las moscas. Se utilizaron dos círculos de 2cm de diámetro de papel lustre, uno color rojo y uno color verde, que fueron pegados en la pared del recipiente, uno al lado opuesto del otro (Fig. 5). Los círculos estuvieron pegados siempre del mismo lado, con el objetivo de que la mosca aprendiera a discriminar el color, pero también a orientarse espacialmente utilizando también como pista visual la ventana de observación que siempre se encontró en el mismo lugar. Una lámpara de mesa iluminaba el recipiente para que el forro de papel blanco no limitara la visibilidad de la mosca que se encontraba dentro del recipiente. Se utilizó un frasco de vidrio para mover a las moscas de sus recipientes individuales al recipiente de experimentación y viceversa. Cabe resaltar que el diseño del procedimiento de la prueba de aprendizaje fue diseñado dentro del laboratorio por el autor de este trabajo y sus colaboradores.

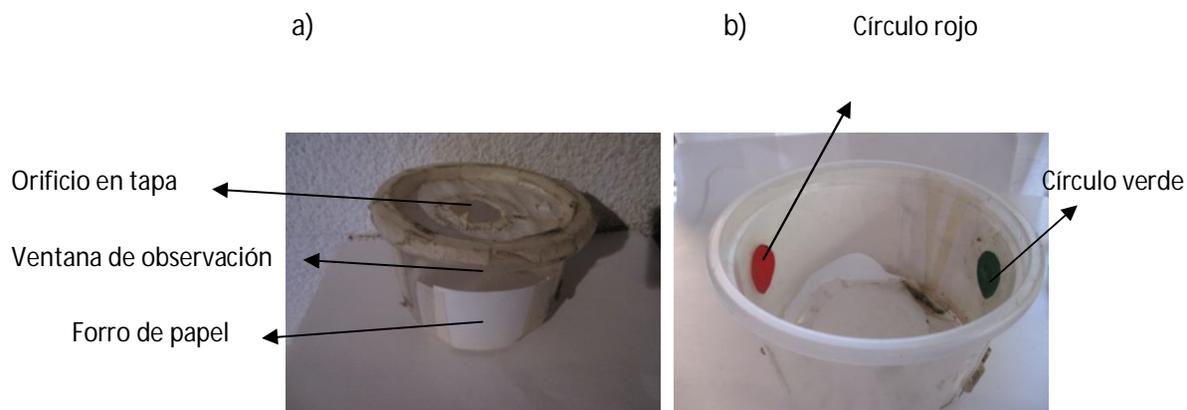


Figura 5. a) Recipiente de experimentación con forro blanco, ventana de observación y orificio de entrada. b) Dentro del recipiente de experimentación se observan los círculos verde y rojo que siempre irán colocados en el mismo lugar.

- Sistema de privación de sueño

Se utilizó un mecanismo elaborado dentro del laboratorio para privar de sueño al grupo experimental de moscas. Este mecanismo cuenta con un brazo móvil que golpea constantemente el contenedor de la mosca con una frecuencia de un golpe cada 30 segundos. El golpeteo constante no permite que la mosca asuma una posición para dormir, lo que la mantenía privada de sueño (Fig. 6). Este mecanismo está compuesto por diversos engranes desechados de material para elaboración de máquinas fotocopadoras y se conecta a la electricidad con un eliminador normal. Fue construido por un ingeniero mecánico bajo instrucciones precisas sobre la frecuencia e intensidad del golpeteo.

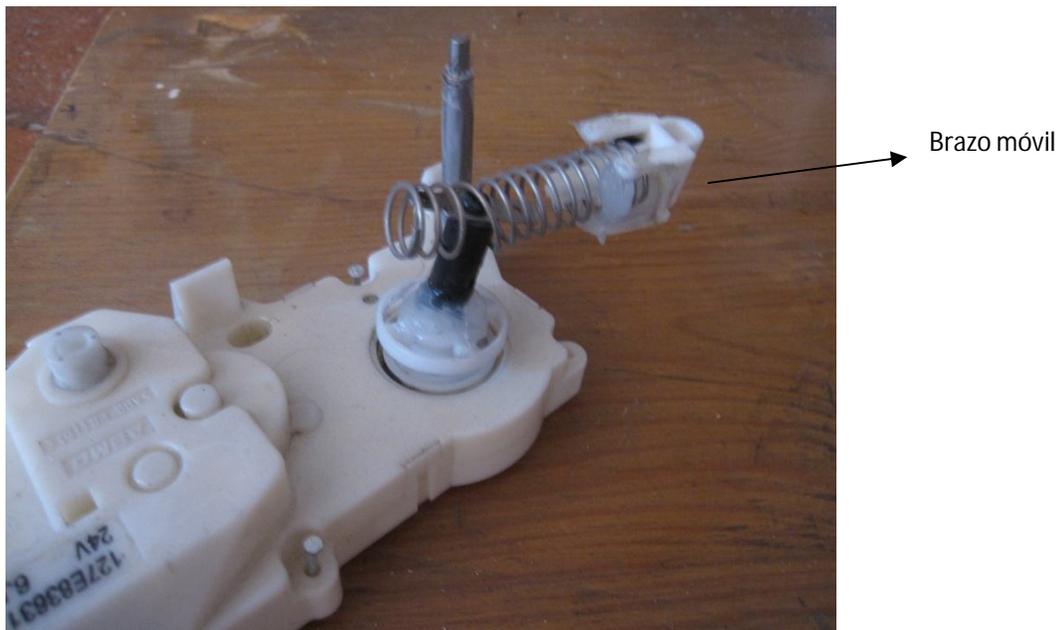


Figura 6. Mecanismo utilizado para golpear de forma automática el recipiente de las moscas con el objetivo de privarlas de sueño. La flecha señala el brazo que se mueve automáticamente para golpear el recipiente contenedor de las moscas.

### 3.5. Procedimientos

- Entrenamiento y seguimiento del aprendizaje

Para llevar a cabo las sesiones experimentales se utilizó a cada mosca de manera individual. Se removió el alimento del recipiente de cada mosca 16 horas antes de cada experimentación con el fin de generar hambre, principal motivador para la realización de la tarea que se les presenta.

Antes de iniciar la sesión experimental se colocó una pequeña cantidad de alimento en el círculo de papel verde dentro del recipiente de experimentación. El círculo rojo permanece sin alimento y funcionaba como distractor para la mosca, debido a que sus dimensiones y forma coinciden con el círculo con alimento y su única diferencia es el color y la colocación dentro del recipiente. Una vez colocado el alimento se coloca individualmente a cada mosca dentro del recipiente de experimentación.

Se comenzó a tomar el tiempo con un cronómetro cuando la mosca entraba al recipiente. Una vez que la mosca llegaba al alimento dentro del círculo verde se detenía el tiempo del cronómetro y se registraba la latencia, esto se contabilizó como un acierto; si la mosca llegaba al círculo rojo se anotaba el tiempo de llegada y se contabilizaba como un error,

pero no se detenía el tiempo del cronómetro y se permitió que la mosca continuara en el recipiente de experimentación con la oportunidad de que llegue al alimento (teniendo un acierto en el ensayo). Al llegar al círculo verde se le permitió alimentarse por 10 segundos. Después de que la mosca llegaba al círculo verde y se detuviera el tiempo en el cronómetro, se sacaba a la mosca del recipiente y se concluía el ensayo. Si la mosca no llegaba al círculo verde en 5 minutos se detenía el tiempo del cronómetro y terminaba el ensayo. En dado caso de que la mosca no presentara errores ni aciertos en 5 minutos se registraba como una omisión y terminaba el ensayo (Fig. 7). Cabe recalcar que durante el proceso de registro de los resultados observador participaron 4 diferentes registradores utilizando exactamente los mismos criterios de observación y registro.

Cada día se realizaron cuatro ensayos seguidos para cada mosca. El grupo control realizó siete días seguidos la tarea, mientras que el grupo experimental fue sometido a la privación de sueño después del sexto día de experimentación. Todas las series de ensayos de cada día se realizaron siempre a la misma hora y bajo las mismas condiciones

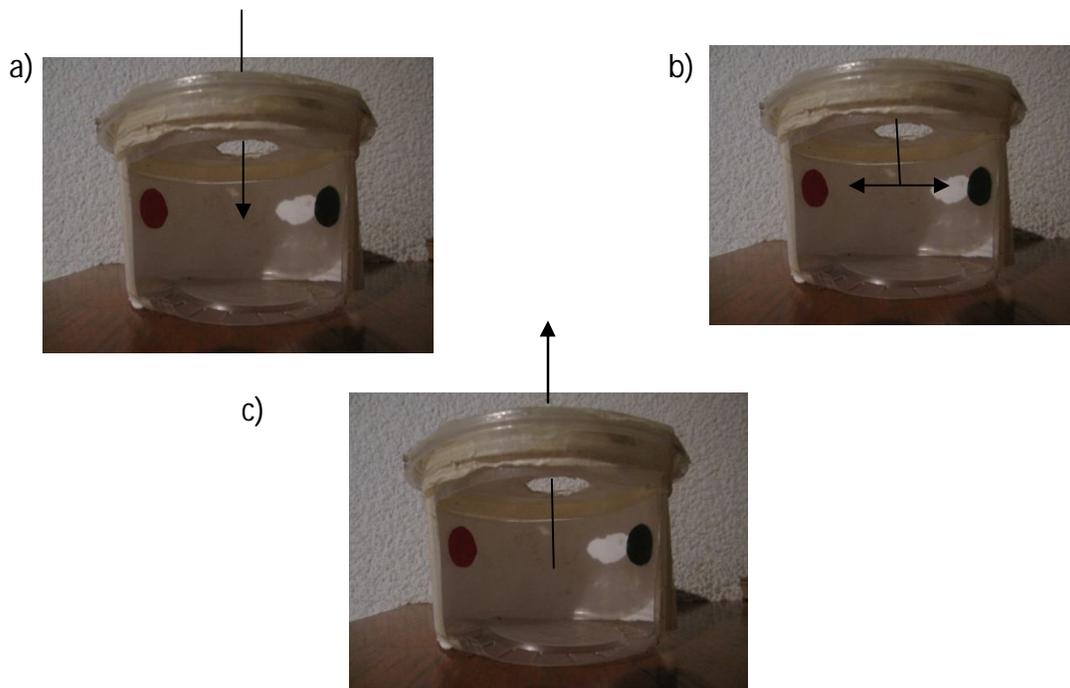


Figura 7. a) El ensayo inicia cuando una mosca entra al recipiente de experimentación. b) Una vez dentro, la mosca tiene la opción de dirigirse al círculo verde, con acceso a alimento (acierto) o al círculo rojo sin alimento (error). c) El ensayo termina cuando la mosca llega al círculo verde o cuando pasan 5 minutos sin respuesta, la mosca es sacada del recipiente y está lista para comenzar otro ensayo.

- Observación, privación de sueño y prueba final

La privación de sueño consistió en 6 horas de estimulación mecánica durante la segunda mitad de la noche aplicadas de forma individual, este tiempo de privación fue tomado de experimentos previos utilizando privación de sueño (Hendricks et al., 2000). La estimulación mecánica se llevó a cabo de forma automatizada utilizando un mecanismo de golpeteo constante hacia el recipiente de la mosca. Se eligieron las últimas seis horas de la noche con la finalidad de que la mosca no presente habituación (Hendricks et al., 2000); con esto se pudo pasar de forma directa de la privación de sueño a la siguiente serie de ensayos. Se realizaron cuatro ensayos más después de la privación, concluyendo con los siete días de experimentación del grupo experimental.

Se utilizó una cámara web para monitorear a 5 moscas durante la etapa de sueño y privación. En la grabación registrada por la cámara se observa a las moscas con poca actividad durante las horas de oscuridad previas a la privación. Durante la privación se observa a las moscas activas después de cada golpeteo del mecanismo de estimulación.

- Piloteos

Para la elaboración final de la tarea de aprendizaje aplicada a las moscas se realizaron varios piloteos para detectar el número de ensayos y condiciones ideales para la prueba. A continuación se describen algunos de estos procedimientos.

**Privación de alimento.**- Para realizar la tarea relacionada con localización de alimento fue necesario privar de comida a las moscas. Se sabe que la privación de alimento de 24 horas puede interferir en el sueño de la mosca, por lo que se debe de ser cuidadoso con el tiempo de privación (McDonald & Keene, 2010). Después de varias pruebas de privación de alimento en donde se observaba el desempeño de la mosca al localizar alimento y su conducta durante la noche, se concluyó que se privaría a las moscas por 16 horas continuas antes de cada sesión.

**Número de ensayos.**- Para identificar cuantos ensayos al día se mantendrían se realizó la prueba de localización de alimento dejando libre a la mosca hasta que se saciara, ya que después de varias llegadas al alimento su motivación decrementaría notablemente. Se concluyó que se llevarían a cabo 4 ensayos diarios, pues se observó que a partir del quinto ensayo las moscas tendían a disminuir su actividad.

**Número de días de experimentación.**- Observando el desempeño de las moscas a lo largo de varios días de experimentación se observó que a partir del sexto día de experimentación los resultados (aciertos, errores y tiempo de llegada al alimento) tendían a estabilizarse. Se concluyó que este periodo correspondía a la consolidación del aprendizaje y se decidió privar a las moscas después del sexto día de experimentación.

**Prueba de aprendizaje de pistas visuales.**- Para asegurar que la mosca aprendía de pistas visuales y no de alguna otra variable se realizaron dos pruebas. La primera consistió en cambiar de posición los círculos de color (colocando la comida siempre en el círculo verde). La segunda consistió en dejar los colores en la misma posición, pero intercalando la colocación de alimento del círculo verde al círculo rojo y viceversa. En ninguna de las pruebas se tuvieron resultados positivos en comparación a cuando se mantenía constante la colocación y el color con alimento, concluyendo que se requerían estas dos constantes para que se presentara el aprendizaje de la mosca.

### *3.6. Preparación de los datos*

Cada día de experimentación se anotaron los resultados de los cuatro ensayos realizados por cada mosca, incluyendo el número de aciertos, errores, omisiones y tiempos de llegada a cada círculo. Se promediaron los resultados de cada día de experimentación del grupo control y del grupo experimental por separado para llevar a cabo el análisis de datos. Los promedios totales cuentan con información de promedio de errores, aciertos y omisiones, así como el promedio del tiempo que tardaron las moscas en llegar por primera vez a cada círculo desde el día 1 hasta el día 7 de experimentación.

Para el análisis estadístico se tomó como muestra de aprendizaje una disminución significativa del número de errores, un aumento significativo en el número de aciertos y una disminución significativa del tiempo de llegada al alimento en el día de experimentación. Por el contrario, como muestra de déficit de aprendizaje se tomó en cuenta un aumento significativo del número de errores, una disminución significativa del número de aciertos y un aumento significativo del tiempo de llegada al alimento por cada día de experimentación. Es importante recalcar que al principio del día de experimentación fue donde más motivación (hambre) presentaba la mosca, por lo que la primera llegada al alimento era de suma importancia y por lo tanto fue tomada en cuenta para los análisis estadísticos. Después de esta llegada al alimento su motivación podría disminuir.

Se realizó un análisis estadístico t de Student para muestras relacionadas dentro del grupo experimental analizando las diferencias del número de errores, aciertos y tiempos entre el sexto y séptimo día de experimentación con el fin de observar si existen diferencias estadísticamente significativas antes y después de la privación de sueño en el desempeño de las moscas en la tarea. Este análisis intragrupal nos permitió observar directamente el efecto de la variable independiente (privación de sueño) en el desempeño de las moscas. Se consideró la existencia de diferencias significativas con valores de  $p < 0.05$ .

Se realizó un análisis estadístico t de Student para muestras independientes analizando el séptimo día del grupo experimental y el séptimo día del grupo control, incluyendo número de errores, aciertos y tiempos, con el fin de observar si existen diferencias estadísticamente significativas entre el desempeño de los grupos una vez que el grupo experimental fue privado de sueño. Este análisis intergrupar nos permitió observar las diferencias en el aprendizaje de las moscas privadas de sueño, con respecto a moscas no privadas; también permitió asegurar que la variable independiente es la que produjo cambios en la variable dependiente y que estos cambios no eran producidos por alguna otra variable dentro del experimento. Se consideró la existencia de diferencias significativas con valores de  $p < 0.05$ .

Por último se graficó el progreso de cada uno de los grupos desde el día 1 hasta el día 7 observando sus errores, aciertos y tiempos. Con esto se pudo observar de forma gráfica el desempeño de la mosca del grupo experimental, remarcando el momento de la privación de sueño. Así mismo, se pudo comparar gráficamente el desempeño de cada uno de los grupos.

## Capítulo IV

### 4. Presentación, análisis e interpretación de los datos

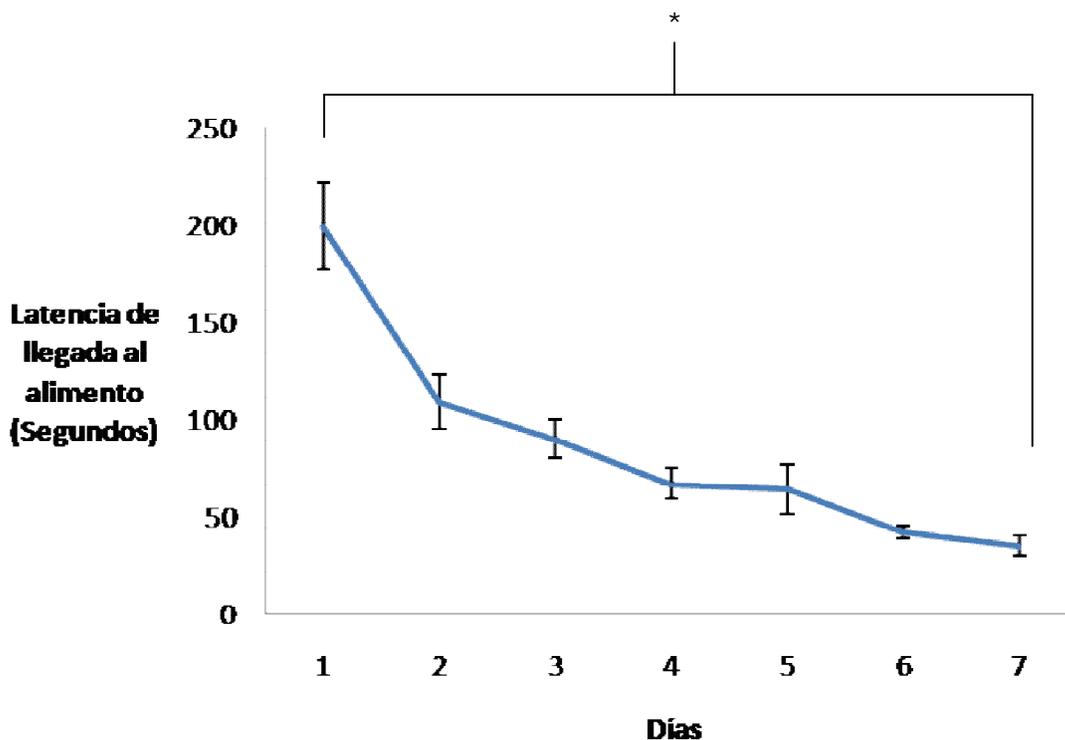
Dentro del presente experimento se realizaron siete días de experimentación utilizando a cada mosca de forma individual. Dentro de cada uno de los días de experimentación se realizaron cuatro ensayos seguidos en donde se registró la latencia de llegada al alimento en cada ensayo, pero se le dio mayor importancia al tiempo que tardaron las moscas la primera vez que llegaron al alimento dentro del día ya que es este punto donde se presenta la mayor motivación por parte de las moscas; así mismo se tomaron en cuenta todos los aciertos y errores dentro de los cuatro ensayos del día. Se realizó el mismo registro con todas las moscas de ambos grupos, control y experimental, con la única diferencia de presentar privación de sueño en el grupo experimental entre el sexto y séptimo días de experimentación. Cabe mencionar que el registro del tiempo de llegada al alimento se realizó en segundos; también es importante mencionar que el número máximo de aciertos y errores por cada día de experimentación es de cuatro, ya que se realizan cuatro ensayos al día y la mosca no puede tener más de un acierto o error por ensayo. Para realizar los análisis estadísticos se promedió la latencia de llegada al alimento por primera vez en el día, el número de errores y el número de aciertos de las 50 moscas utilizadas en cada grupo.

#### *4.1. Grupo control*

El grupo control contó con 50 moscas, este grupo presentó siete días seguidos de experimentación sin la presentación de la privación de sueño. A continuación se presenta el promedio de los datos de las tres variables que se tomaron en cuenta para el presente estudio.

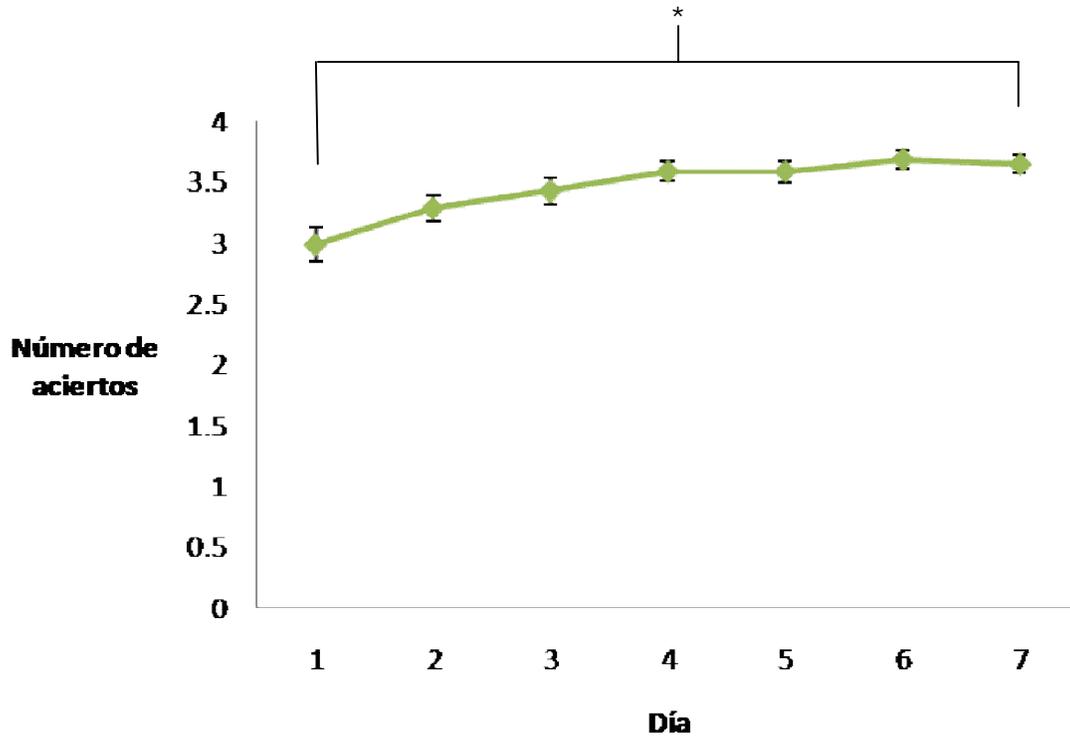
La gráfica 1 muestra el promedio en segundos de la latencia de llegada al alimento por primera vez durante el día de experimentación de las moscas del grupo control. En esta gráfica se puede observar una disminución en la latencia de llegada al alimento a lo largo de los días de experimentación, lo que indica aumento en la adquisición de la información

durante el aprendizaje. Utilizando un análisis estadístico de t de Student para muestras relacionadas se puede observar una diferencia estadísticamente significativa entre el primer y el séptimo día ( $t=7.238$ ,  $df=49$ ,  $p<0.050$ ) lo que indica que efectivamente hubo aprendizaje a lo largo del entrenamiento. Se puede observar que la disminución de la latencia se detiene entre el día sexto y séptimo, lo que indica que en este periodo consiste en consolidación de información y ya no en adquisición de la información; la privación de sueño del grupo experimental se hizo en este periodo de consolidación.



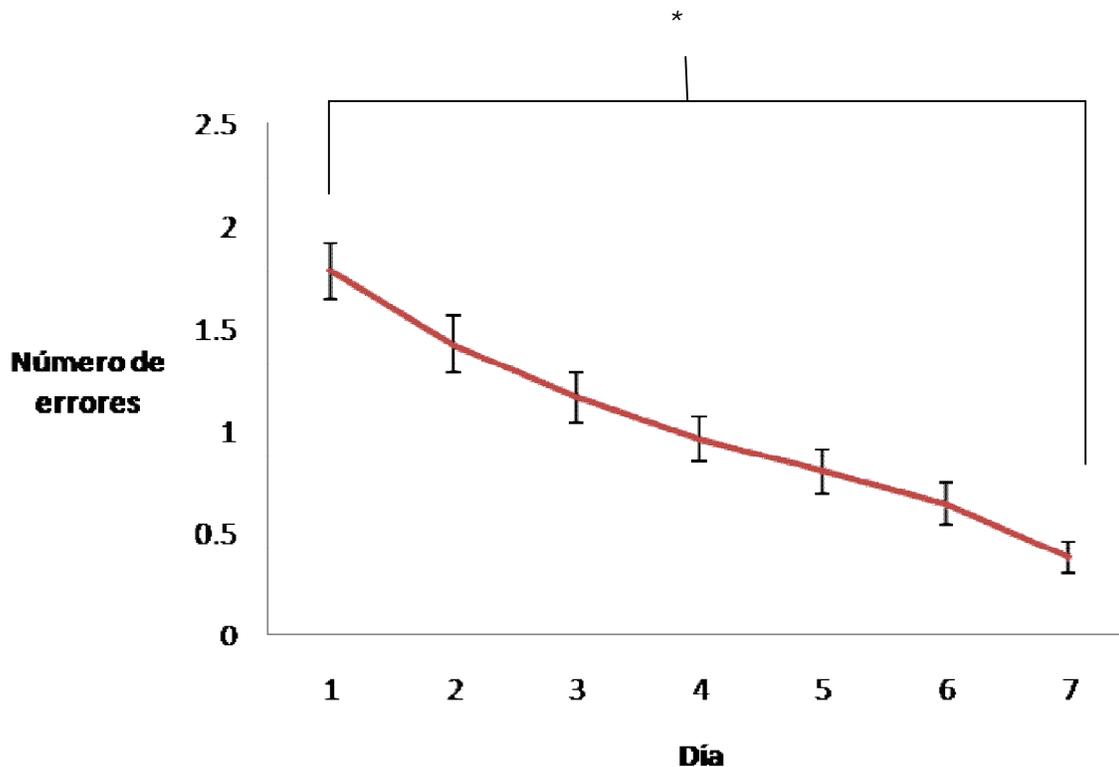
Gráfica 1. Promedio de la latencia de llegada al alimento de las moscas del grupo control a lo largo de los 7 días. La gráfica muestra el error estándar presentado a lo largo de los días. \* Diferencias significativas entre el día 1 y 7 ( $p<0.05$ ).

La gráfica 2 muestra el promedio en el número de aciertos a lo largo de los seis días de experimentación, cabe recordar que el número máximo de aciertos en cada día es de cuatro. Se puede observar un aumento en el número de aciertos a lo largo de los días de experimentación, lo que indica una mejora en el desempeño gracias al aprendizaje. Un análisis estadístico utilizando t de Student confirma que existe una diferencia significativa entre el primer y el séptimo día ( $t=4.045$ ,  $df=49$ ,  $p<0.050$ ).



Gráfica 2. Promedio del número de aciertos de las moscas del grupo control dentro de los cuatro ensayos de cada día de entrenamiento. La gráfica muestra el error estándar presentado a lo largo de los días. \* Diferencias significativas entre el día 1 y 7 ( $p < 0.05$ ).

La gráfica 3 muestra el promedio en el número de errores del grupo control a lo largo del proceso de entrenamiento. Al igual que con el número de aciertos, se puede observar que a lo largo de los días de experimentación las moscas muestran una mejora en su desempeño a lo largo de los días; este se ve reflejado en una disminución progresiva en el número de errores a lo largo de los días. Existe una diferencia estadísticamente significativa al comparar el primer y el séptimo día de experimentación, lo que confirma que hubo aprendizaje a lo largo del entrenamiento ( $t=8.662$ ,  $df=49$ ,  $p < 0.050$ ).



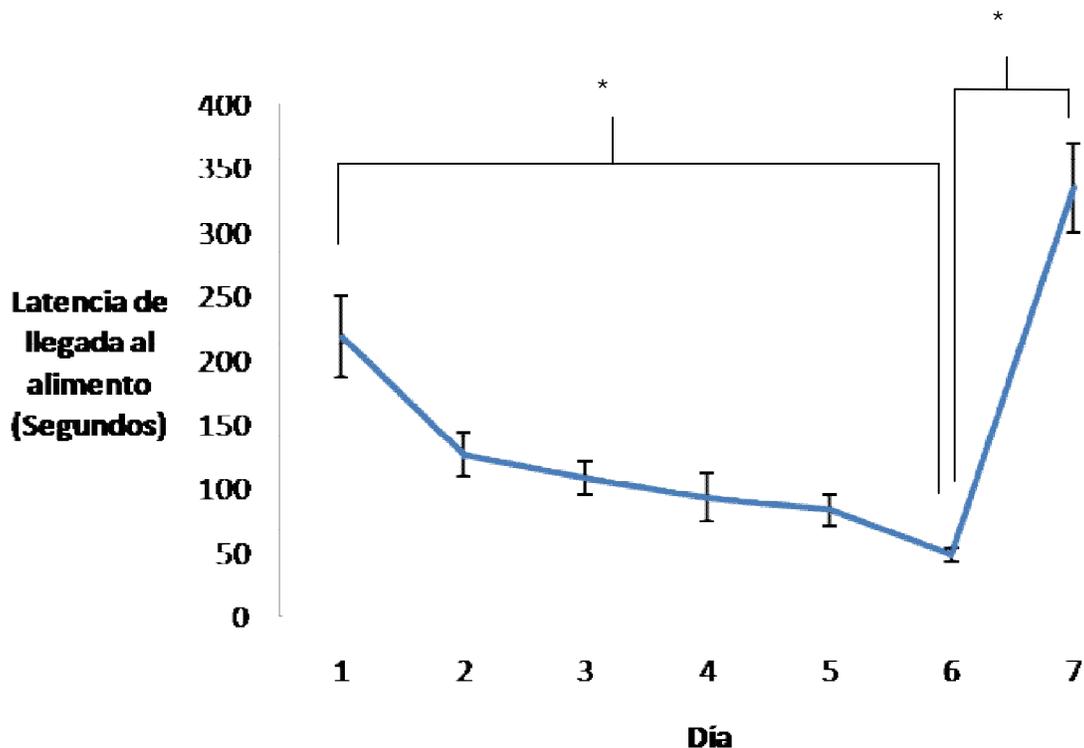
Gráfica 3. Promedio del número de errores de las moscas del grupo control dentro de los cuatro ensayos de cada día de entrenamiento. La gráfica muestra el error estándar presentado a lo largo de los días. \* Diferencias significativas entre el día 1 y 7 ( $p < 0.05$ ).

#### 4.2. Grupo experimental

El grupo experimental, al igual que el grupo control, contó con 50 moscas con las que se trabajó de forma individual. A continuación se presenta el promedio de los datos de las tres variables que se tomaron en cuenta para este estudio.

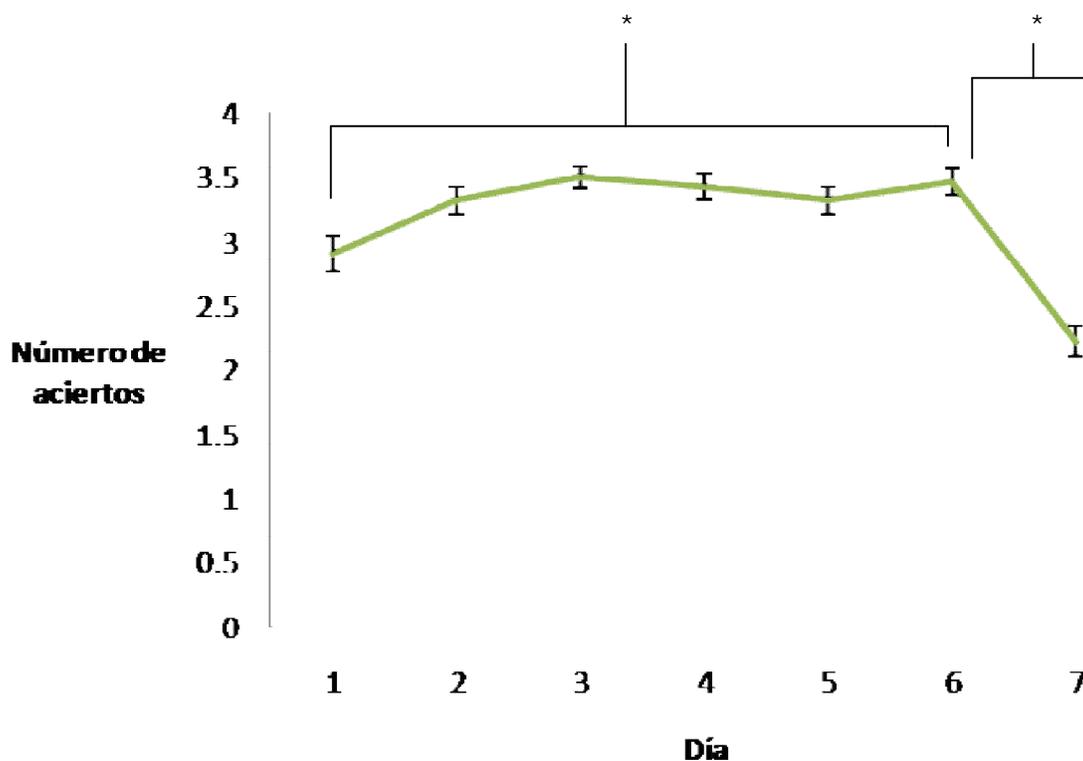
En la gráfica 4 se puede observar el desarrollo de la latencia de llegada al alimento a lo largo de los días de experimentación. Se puede observar una disminución gradual de los segundos en que las moscas llegan al alimento hasta el día 6, esta disminución es evidencia de adquisición del aprendizaje. Al realizar un análisis estadístico t de Student para muestras relacionadas se puede encontrar una diferencia significativa entre el día 1 y el día 6 ( $t=5.536$ ,  $df=49$ ,  $p < 0.050$ ), lo que confirma la considerable mejoría en ejecución que presentaron las moscas.

Como ya se ha mencionado con anterioridad, la privación de sueño en el grupo experimental se realizó entre el día seis y día siete. Se puede observar un aumento considerable en la latencia de llegada al alimento en el séptimo día de experimentación, incluso es mayor a la latencia del primer día de experimentación, donde no hubo entrenamiento previo. Existe una diferencia estadísticamente significativa entre el promedio del sexto día con el séptimo día, esto al utilizar una t de Student para grupos relacionados ( $t=8.863$ ,  $df=49$ ,  $p<0.050$ ). Estos resultados muestran un déficit en la consolidación del aprendizaje, ya que, como se vio en el grupo control, no hay más adquisición de información entre el sexto y séptimo días.



Gráfica 4. Promedio de la latencia de llegada al alimento de las moscas del grupo experimental a lo largo de los 7 días de entrenamiento y privación de sueño. La gráfica muestra el error estándar presentado a lo largo de los días. \* Diferencias significativas entre el día 1 y 6, así como en el día 6 y 7 ( $p<0.05$ ).

La gráfica 5 muestra el promedio de aciertos a lo largo de los siete días de experimentación. Cabe recordar que el número máximo de aciertos en cada día de experimentación es de cuatro. Se puede observar un aumento en promedio de aciertos con respecto al día 1 y día 6 de experimentación, esta diferencia es estadísticamente significativa ( $t=3.511$ ,  $df=49$ ,  $p<0.050$ ). El sexto día de experimentación presenta un promedio de 3.46, si recordamos que el máximo de aciertos es de 4, podemos observar que el promedio registrado es bastante alto, lo que indica que hubo adquisición de aprendizaje durante el entrenamiento.

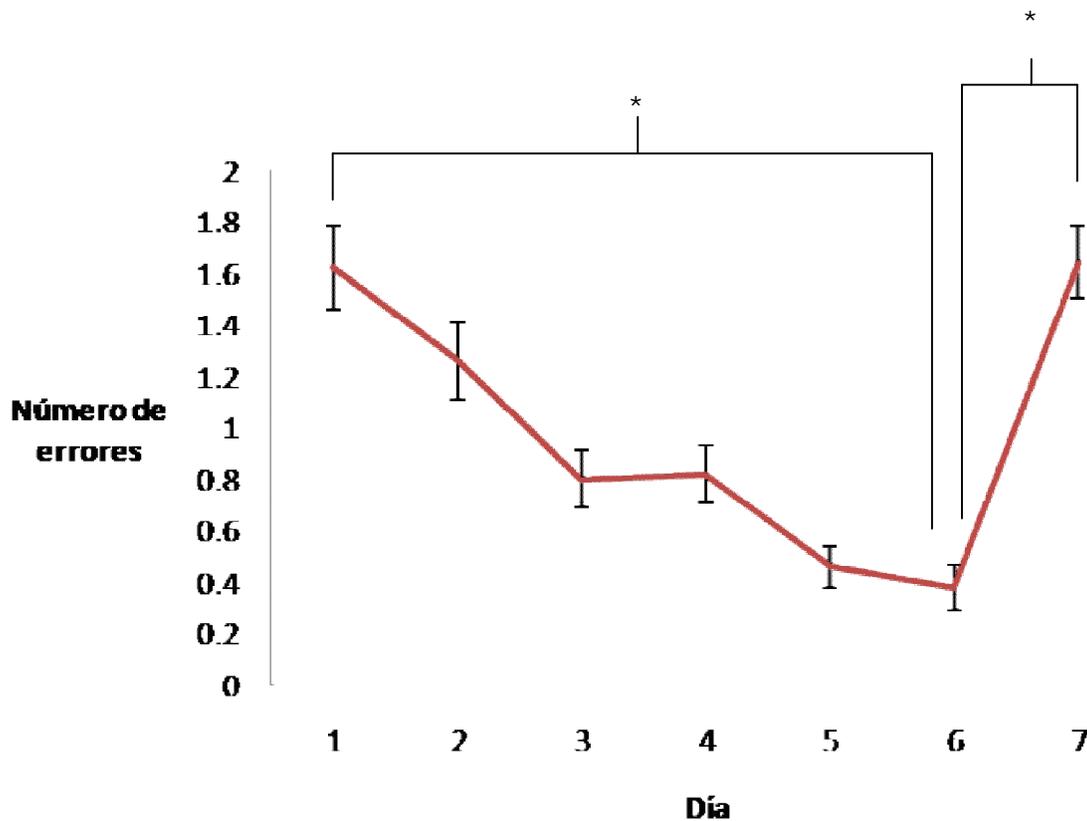


Gráfica 5. Promedio del número de aciertos de las moscas del grupo experimental dentro de los cuatro ensayos de cada día de entrenamiento y privación de sueño. La gráfica muestra el error estándar presentado a lo largo de los días. \* Diferencias significativas entre el día 1 y 6, así como en el día 6 y 7 ( $p<0.05$ ).

En el séptimo día se registra un número de aciertos por debajo de los registrados anteriormente. Al hacer el análisis estadístico correspondiente se observó que existe una diferencia significativa entre el sexto y séptimo días de experimentación, lo que indica que

la privación de sueño provocó un déficit en la consolidación del aprendizaje ( $t=10.665$ ,  $df=49$ ,  $p<0.050$ ).

En la gráfica 6 se puede observar el desarrollo del promedio de errores a lo largo de los siete días de experimentación. Se puede observar una disminución constante en el número de errores a lo largo de los primeros seis días de experimentación. Hay una diferencia estadísticamente significativa entre el primero y sexto días de experimentación ( $t=6.815$ ,  $df=49$ ,  $p<0.050$ ), lo que confirma la adquisición de aprendizaje después del entrenamiento.



Gráfica 6. Promedio del número de errores de las moscas del grupo experimental dentro de los cuatro ensayos de cada día de entrenamiento y privación de sueño. La gráfica muestra el error estándar presentado a lo largo de los días. \* Diferencias significativas entre el día 1 y 6, así como en el día 6 y 7 ( $p<0.05$ ).

En el séptimo día se observa un aumento considerable en el promedio del número de errores del grupo experimental. Al igual que en las dos variables revisadas con anterioridad, existe una diferencia estadísticamente significativa entre el sexto y el séptimo días de experimentación ( $t=7.819$ ,  $df=49$ ,  $p<0.050$ ). Se puede concluir que la

privación de sueño aplicada antes de los ensayos del séptimo día causó un déficit en la consolidación del aprendizaje de las moscas.

#### 4.3. Comparación control-experimental

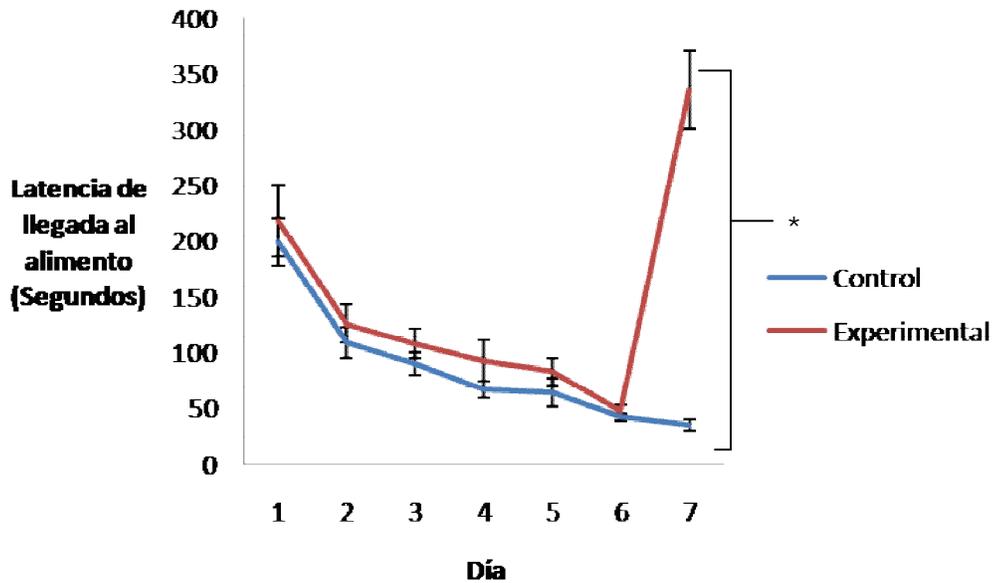
Un paso fundamental para la presente investigación es comparar el desempeño del grupo control con el del grupo experimental con el objetivo de asegurar que es la privación de sueño la que provoca los déficits observados en el grupo experimental durante el séptimo día. A continuación se presentarán las gráficas mostradas anteriormente, pero empalmando el desempeño de ambos grupos en las tres variables.

En la gráfica 7 se puede observar el desempeño del grupo experimental y del grupo control en cuanto a la latencia de llegada al alimento. Se puede observar que la ejecución de ambos grupos sigue la misma tendencia durante los primeros 6 días, de hecho no se encontraron diferencias estadísticamente significativas utilizando t de Student para grupos independientes al comparar cada día del grupo control con el del grupo experimental hasta antes de la privación de sueño (Tabla 1).

<b>Día</b>	<b>Resultado de t</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Significancia</b>
1	.479	98	.633
2	.748	98	.456
3	1.081	98	.283
4	1.294	98	.200
5	1.028	98	.307
6	.982	98	.328

Tabla 1. Resultados de la prueba estadística t al comparar la latencia del grupo control y del grupo experimental en los 6 primeros días de entrenamiento.

Como se puede observar en la gráfica 7 hay una marcada diferencia en el desempeño de ambos grupos en el séptimo día de experimentación. Existe una diferencia estadísticamente significativa entre el séptimo día del grupo experimental y el grupo control ( $t=8.436$ ,  $df=98$ ,  $p<0.05$ ).



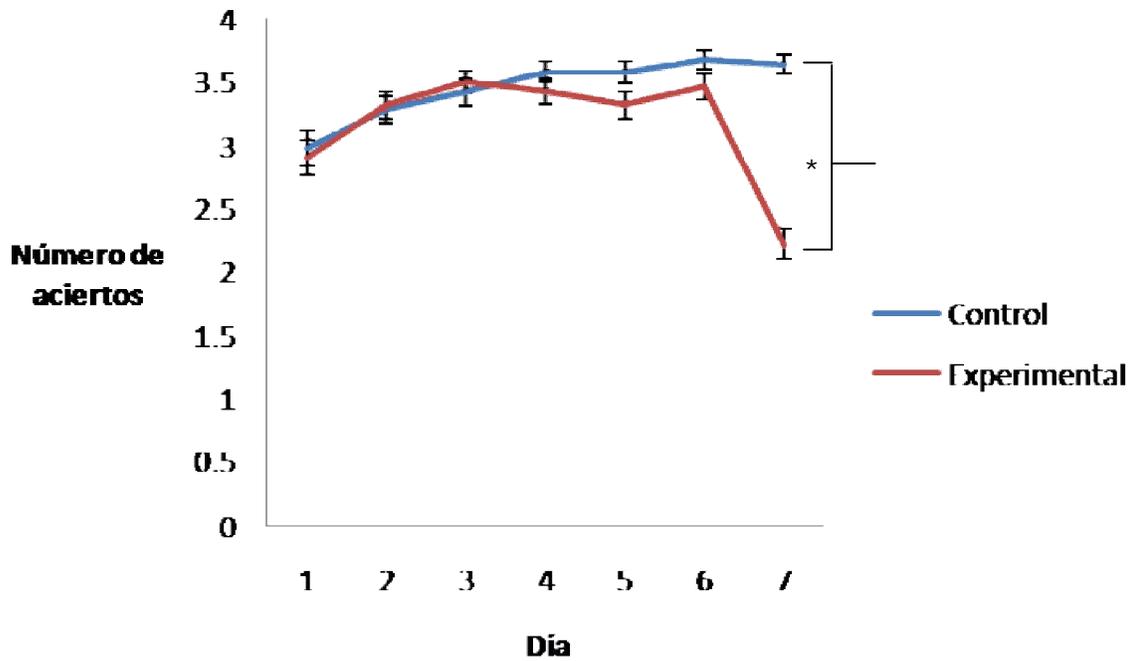
Gráfica 7. Promedio de la latencia de llegada al alimento. \* Diferencias significativas entre el día 7 del grupo control (línea azul) y el grupo experimental (línea roja) ( $p < 0.05$ ). Se observa mayor latencia de llegada al alimento del grupo experimental en comparación al control.

La gráfica 8 muestra el promedio del número de aciertos de ambos grupos. Al igual que en la gráfica 7 se puede observar que el desempeño de ambos grupos es similar durante los primeros seis días de experimentación (Tabla 2).

Día	Resultado de t	Grados de libertad	Significancia
1	.386	98	.701
2	.246	98	.806
3	.546	98	.587
4	1.16	98	.248
5	1.767	98	.080
6	1.694	98	.093

Tabla 2. Resultados de la prueba estadística t al comparar el número de aciertos del grupo control y del grupo experimental en los 6 primeros días de entrenamiento.

Analizando los datos del séptimo día se pueden observar diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $t=9.556$ ,  $df=98$ ,  $p<0.50$ ). El número de aciertos disminuye después de la privación de sueño.



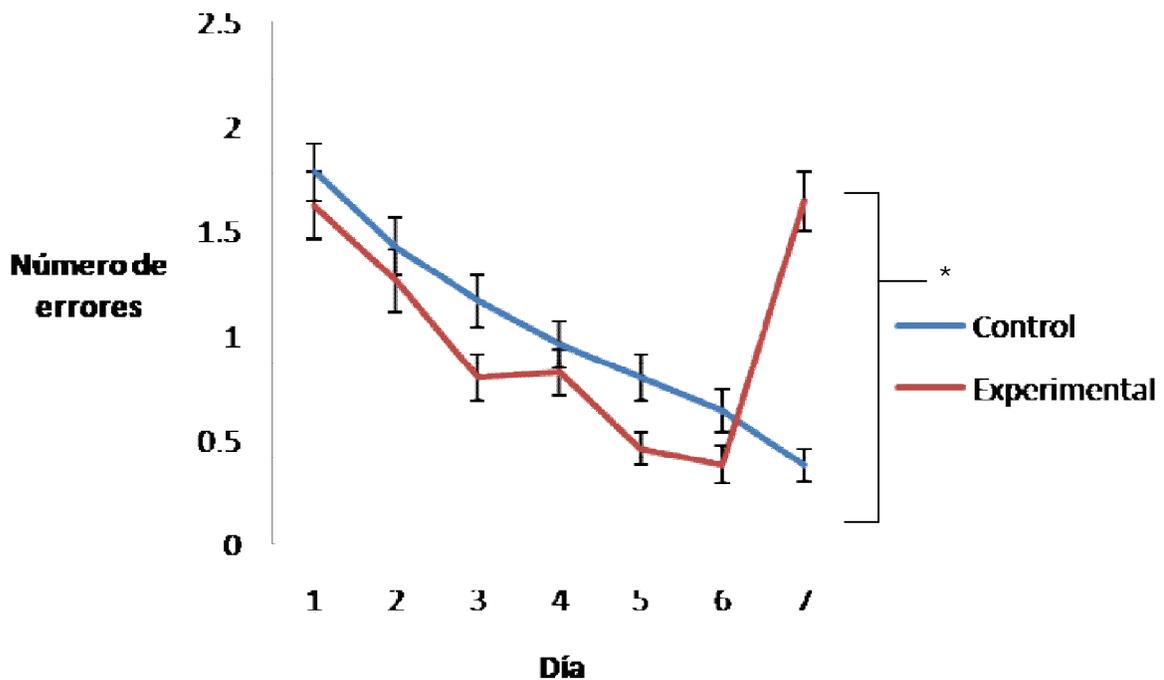
Gráfica 8. Promedio del número de aciertos de ambos grupos. La línea azul representa al grupo control mientras que la línea roja representa al grupo experimental. \* Diferencias significativas entre el día 7 del grupo control y el grupo experimental ( $p<0.05$ ).

Por último se hizo una comparación entre el promedio de número de errores entre ambos grupos (gráfica 9). Al igual que en las variables anteriores, se puede observar que el desempeño de las moscas es similar durante los primeros seis días de experimentación. Al realizar el análisis estadístico correspondiente se concluye que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo experimental dentro de esta primera etapa del entrenamiento (Tabla 3).

Día	Resultado de t	Grados de libertad	Significancia
1	.734	98	.465
2	.770	98	.443
3	2.06	98	.061
4	.845	98	.400
5	1.207	98	.198
6	1.871	98	.084

Tabla 3. Resultados de la prueba estadística t al comparar el número de errores del grupo control y del grupo experimental en los 6 primeros días de entrenamiento.

Dentro del séptimo día de experimentación es donde se puede observar una mayor diferencia entre los dos grupos utilizados. Tras el análisis estadístico se observa que existe una diferencia significativa entre el promedio del número de errores entre el grupo experimental y el grupo control después de la privación de sueño ( $t=7.386$ ,  $df=98$ ,  $p<0.050$ ).



Gráfica 9. Promedio del número de errores de ambos grupos. \* Diferencias significativas entre el día 7 del grupo control y el grupo experimental ( $p<0.05$ ).

#### *4.4. Resultados cualitativos*

A lo largo de todas las sesiones de entrenamiento se observó la conducta de las moscas y se tomaron algunas notas. Durante el primer día experimental, cuando la latencia de llegada al alimento fue la más alta, las moscas generalmente realizaban 2 diferentes patrones de conducta: varias moscas mostraron periodos de poca actividad motora, caminaban de un lado a otro del recipiente de forma lenta y rara vez se aproximaban a los estímulos visuales; el resto de las moscas se movía de forma rápida y continua a lo largo del recipiente de entrenamiento, a veces volando de un lado a otro y llegando varias veces a ambos círculos, por lo que no solo tenían aciertos, sino que también contaban con un mayor número de errores.

Conforme pasaban los ensayos las moscas iban modificando su conducta disminuyendo los periodos de inactividad en los primeros ensayos del día y disminuyendo la cantidad de veces que llegaban al círculo rojo (contabilizado como error). En los últimos días de experimentación la mayoría de las moscas se desplazaba directamente al alimento del círculo verde.

Después de la privación de sueño las moscas retomaron patrones de conducta semejantes a los que se observaron en los primeros días de experimentación; algunas moscas presentaban periodos amplios de inactividad y otras recorrían el recipiente, pero llegando al círculo rojo en varias ocasiones.

A lo largo de la experimentación se descartaron a 5 moscas que no demostraron indicios de aprendizaje a lo largo de las sesiones de entrenamiento. Sin embargo, como se observa en los resultados, todas las moscas registradas sí mostraron mejoras en su desempeño en al menos una de las tres variables tomadas en cuenta para el aprendizaje.

## Capítulo V

### 5. 1. Discusión

En el presente trabajo se encontró que la privación de sueño después de un proceso de entrenamiento provoca un déficit en la consolidación de la información dentro del aprendizaje de la mosca de la fruta. La tarea que aprendieron las moscas durante la experimentación consistió en la localización de alimento utilizando información visual relacionada con discriminación de colores y pistas espaciales. La información olfativa que se desprende del alimento dentro del experimento también es tomada en cuenta por las moscas, pero si la mosca se guía solo por el olfato para llegar al alimento no se verían las mejoras que se encontraron a lo largo de las sesiones, puesto que se ha descrito que la retroalimentación visual se relaciona con el forrajeo de la mosca de la fruta (Frye et al., 2003). Para describir el aprendizaje dentro de la tarea se tomaron en cuenta tres variables: la latencia de llegada al alimento, el número de errores y el número de aciertos.

En base a las hipótesis establecidas anteriormente se esperaba que las moscas disminuyeran la latencia de llegada al alimento a lo largo de los ensayos; asimismo se esperaba que aumentaran el número de aciertos y disminuyeran el número de errores. Se puede observar en las gráficas del apartado de resultados que las moscas entrenadas lograron mejorar en las tres variables que se tomaron en cuenta, por lo que se ha concluido que en entrenamiento aplicado provocó exitosamente que las moscas adquirieran la información dentro de la tarea. Además analizando los resultados del grupo control se observó que después de los primeros seis días de entrenamiento se estabiliza el desempeño de las moscas, por lo que se concluye que ese periodo pertenece a la etapa de consolidación de información dentro de la tarea. Las moscas pudieron aprender exitosamente a localizar el alimento utilizando pistas visuales dentro de un contexto estable.

El siguiente paso corresponde a la hipótesis de que la privación de sueño provocaría un déficit en la consolidación del aprendizaje de la tarea con entrenamiento previo. Se

esperaba que la privación de sueño provocara un aumento en la latencia de llegada al alimento, así como una disminución en el número de aciertos y un aumento en el número de errores. Después de analizar los resultados se confirma esta hipótesis. La privación de sueño aplicada entre el sexto y séptimo días de experimentación, fase correspondiente a la consolidación de información, provocó un déficit estadísticamente significativo en las tres variables relacionadas con el aprendizaje dentro de la tarea. Se puede observar en el grupo experimental que la latencia de llegada al alimento aumentó considerablemente en relación al desempeño previo de las moscas y al desempeño del grupo control; también se encuentra que hay un aumento en el número de errores y una disminución en el número de aciertos de forma intra-grupal e inter-grupal, por lo que se puede concluir que la privación de sueño después del entrenamiento provocó un déficit en la consolidación del aprendizaje de la mosca de la fruta en la tarea de localización de alimento utilizando pistas visuales.

Los resultados del aprendizaje de la mosca de la fruta en esta investigación previos a la privación de sueño son consistentes con la capacidad de aprendizaje de la mosca de la fruta descrita en la literatura. Se sabe desde hace varias décadas que la mosca es capaz de obtener aprendizaje asociativo (Quinn et al., 1973). A partir de entonces su capacidad de aprendizaje fue puesta a prueba con éxito en una gran variedad situaciones de aprendizaje, ya sea con el condicionamiento clásico utilizando estimulación aversiva (Phelan et al., 2001), condicionamiento operante utilizando pistas visuales (Brembs & Hempel, 2006) y hasta condicionamiento de segundo orden (Tabone & deBelle, 2011). En este experimento se utilizó condicionamiento operante de identificación de pistas visuales que incluyen discriminación de colores y orientación espacial semejantes a los ya probados en el simulador de vuelo por Brembs y Hempel (2006), por lo que los resultados exitosos del aprendizaje en la mosca no están en duda; la diferencia radica en que en este trabajo se utilizaron reforzadores positivos a diferencia del reforzamiento negativo utilizado en el trabajo citado anteriormente.

La participación del sueño en el proceso de aprendizaje se ha establecido en animales vertebrados, principalmente mamíferos (Stern, 1971; Smith, 1996; Smith & Lapp, 1991), y

en animales invertebrados (Seugnet et al., 2008; 2009; 2011; Li et al., 2009; Donlea et al., 2011). En animales vertebrados como la rata y el humano se ha observado una relación entre el sueño MOR y la adquisición y consolidación del aprendizaje. La adquisición del aprendizaje en la rata se ve afectada cuando se le priva de sueño MOR y se le intenta entrenar en tareas de evitación activa y pasiva (Stern, 1971); de la misma manera se ha observado que la privación de sueño MOR en la rata después de sesiones de entrenamiento provoca fallas en la consolidación del aprendizaje en tareas de reconocimiento y memoria espacial utilizando un laberinto de agua (Smith, 1996). Desde hace varias décadas se ha visto que la privación de sueño MOR provoca fallas en la adquisición de aprendizaje, así como en la recuperación de información relacionada con asociación de pares de palabras en el humano (Chernik, 1972). En estudios con humanos también se ha encontrado que después de periodos de aprendizaje intenso, como al estudiar para exámenes, se presenta un aumento en la cantidad de sueño MOR subsecuente, lo que implica una relación entre el sueño y el aprendizaje en el humano (Smith & Lapp, 1991). El presente estudio demuestra que la privación de sueño en la mosca de la fruta provoca los mismos efectos encontrados en mamíferos ampliamente estudiados. A pesar de que en *Drosophila melanogaster* aún no se ha demostrado la presencia de sueño activo equivalente al sueño MOR, la privación de sueño durante 6 horas después de varias sesiones de entrenamiento provocó un déficit en la consolidación de la información en el aprendizaje, que es equivalente al encontrado en otras especies; por lo tanto el sueño en la mosca de la fruta, además de tener características conductuales y electrofisiológicas semejantes a las de los mamíferos (Hendricks et al., 2000; Shaw et al., 2000; Nitz et al., 2002), presentan una estrecha relación con la adquisición y consolidación del aprendizaje. Esta aportación ayuda a comprender la función evolutiva del sueño desde animales relativamente más simples que los mamíferos.

Como se ha mencionado anteriormente, en los últimos años la investigación del sueño en *Drosophila melanogaster* comenzó a arrojar información sobre la relación entre el sueño y el aprendizaje de este organismo. Los resultados de varias investigaciones utilizando aprendizaje de inhibición de respuesta (Seugnet et al., 2008, 2009, 2011) y

condicionamiento pavloviano de estímulos olfativos (Li et al., 2009) concluyen que la privación de sueño previa al entrenamiento de una tarea provoca fallas en la adquisición de la información, las moscas no son capaces de aprender la tarea que se les presenta. Si el sueño en la mosca de la fruta presenta características semejantes a las de otros animales se espera que la privación de sueño afecte otras etapas del proceso del aprendizaje. Los datos obtenidos ayudan a complementar la información que ya se tenía acerca del sueño y su relación con el aprendizaje de la mosca. Al privar a la mosca de la fruta después de que se presentara adquisición de información tras varias sesiones de entrenamiento se produce un déficit en el desempeño; las moscas tienden a olvidar lo previamente aprendido cuando no duermen lo suficiente. La privación de sueño tiene un efecto negativo en el proceso de aprendizaje en la mosca de la fruta, este efecto se presenta desde la adquisición de la información hasta la consolidación de la misma.

En investigaciones previas a este estudio utilizaron principalmente el condicionamiento clásico por inhibición de respuesta fototáctica (Seugnet et al., 2008; 2009; 2011) y condicionamiento clásico olfativo (Li et al., 2009), ambos tipos de tarea requieren de la participación de los cuerpos fungiformes para ser realizadas con éxito; esta estructura se relaciona también con el control del sueño (Pitman et al., 2006). El presente trabajo utilizó una tarea operante de localización espacial de alimento parecida a tareas de memoria espacial que requieren de diferentes estructuras neuronales dentro de la mosca, los cuerpos en forma de abanico y cuerpos elipsoidales (Pan et al., 2009). Los cuerpos en forma de abanico además de participar en aprendizaje espacial, también están involucrados en el sueño ya que un aumento en la actividad de las neuronas del cuerpo en forma de abanico dorsal provocan un aumento en la cantidad de sueño de la mosca que es capaz de provocar que las moscas de la fruta consoliden la información de forma más rápida en tareas de aprendizaje de cortejo (Donlea et al., 2011). Los resultados de la presente investigación son consistentes con los encontrados por el equipo de Donlea et al. (2011), en el que la privación del sueño causa fallas en consolidar información durante el aprendizaje de localización de alimento utilizando pistas visuales.

La relación entre las funciones de estructuras neuronales de la mosca de la fruta en el aprendizaje y el sueño, principalmente los cuerpos fungiformes y los cuerpos en forma de abanico, es evidente; las dos estructuras aportan en diferente medida al sueño y al aprendizaje. Las dos estructuras parecen tener un papel en la iniciación y regulación del sueño (Pitman et al., 2006; Donlea et al., 2011). La destrucción de los cuerpos fungiformes provoca reducciones en los periodos de sueño de la mosca (Pitman et al. 2006), mientras que la hiperactividad de los cuerpos en forma de abanico dorsal provocan iniciación y aumento de los periodos del sueño (Donlea et al., 2011). Asimismo las dos estructuras están relacionadas con diferentes tipos de aprendizaje (Wang et al., 2007; Pan et al., 2009); la privación de sueño provoca déficits en aprendizaje mediado por ambas estructuras, por lo que su relación sigue siendo estrecha. Existen otras conductas que involucran a los cuerpos fungiformes y a las estructuras del complejo nervioso central (donde se encuentra el cuerpo en forma de abanico y el cuerpo elipsoidal), como la conducta de cortejo; se ha observado que los cuerpos en forma de abanico y los cuerpos fungiformes se relacionan con diferentes pautas de la compleja conducta de cortejo en *Drosophila* (Sakai & Kitamoto, 2006). Se sugiere que la relación entre los cuerpos fungiformes y el cuerpo en forma de abanico es semejante a la del cortejo en el control y mantenimiento del sueño y su participación en el aprendizaje.

Uno de los principales logros del presente trabajo fue la innovación de un método sencillo para observar el aprendizaje de la mosca de la fruta en tareas de localización espacial de alimento y discriminación de pistas visuales. Al no contar con instrumentos utilizados para entrenar y privar de sueño a las moscas se planteó como objetivo la elaboración de éste nuevo método y, como se puede observar a lo largo del estudio, los resultados fueron positivos. Se espera que este método pueda ser utilizado en futuras investigaciones relacionadas con el aprendizaje y la privación de sueño de *Drosophila melanogaster*.

Esta investigación abre las puertas a que, utilizando a la mosca de la fruta, se continúe con la investigación genética de los mecanismos del sueño y su relación con varios tipos y fases del aprendizaje. Utilizando mutaciones genéticas es posible distinguir genes que tengan relación con los mecanismos del sueño y observar si tienen relación con los

mecanismos de las diferentes fases y tipos de aprendizaje. Con esto se pueden entender los mecanismos moleculares del sueño y su relación con el aprendizaje de una forma semejante a la realizada recientemente por Allebrandt et al. (2011), quienes por medio de experimentación genética en *Drosophila*, derivada de resultados con humanos, descubrieron el gen ABCC9, que explica variaciones en la cantidad de sueño requerida para un óptimo funcionamiento de los organismos. Estos investigadores encontraron un homólogo del gen ABCC9 en la mosca de la fruta y observaron que mutantes sin este gen permanecían despiertas durante las primeras tres horas de la noche.

## 5.2. Conclusión

La mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) puede aprender una tarea operante de localización de alimento utilizando pistas visuales. Tras seis días de entrenamiento continuo (fase de adquisición de información) las moscas disminuyen significativamente su latencia de llegada al alimento; así mismo aumentan significativamente el número de aciertos y disminuyen significativamente el número de errores. A partir del sexto día de experimentación el desempeño de las moscas se mantiene, lo que caracteriza la fase de consolidación de información dentro del aprendizaje.

La privación de sueño aplicada entre el sexto y séptimo días de experimentación provoca un déficit en la consolidación del aprendizaje de la mosca de la fruta. Tras la privación de sueño las moscas aumentan significativamente su latencia de llegada al alimento; también disminuye significativamente su número de aciertos y aumenta significativamente su número de errores. Este déficit se encontró al compararse el grupo experimental con el grupo control y al comparar el desempeño del grupo experimental antes y después de la privación de sueño. Por lo tanto se concluye que la privación de sueño provoca un déficit en la consolidación de aprendizaje de *Drosophila melanogaster* en una tarea operante de localización de alimento utilizando pistas visuales.

### 5.3. Referencias

Abel, T., Lattal, KM. (2001). Molecular mechanisms of memory acquisition, consolidation and retrieval. *Current Opinion in Neurobiology*, 11 (2), 180-187.

Adams, M. (2000). The Genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287 (5461), 2185-2195.

Allebrandt et al. (2011). A KATP channel gene effect on sleep duration: from genome-wide association studies to function in *Drosophila*. *Molecular Psychiatry*, 16 (12).

Ashburner, M., Golic, KG., Hawley, RS. (2005). *Drosophila: A Laboratory Handbook*. USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Ayala, F., Mexicano, G. (2008). Filogenia del sueño: de invertebrados a vertebrados. *Revista Médica de la Universidad Veracruzana*, 8 (1), 39-45.

Brembs, B., Hempel, U. (2006). Different parameters support generalization and discrimination learning in *Drosophila* at the flight simulator. *Learning and Memory*, 13 (5), 629 - 637.

Brembs, B., Wiener, J. (2006). Context and occasion setting in *Drosophila* visual learning. *Learning and Memory*, 13, 618-628.

Campbell, S., Tobler, I. (1984). Animal sleep: A review of sleep duration across phylogeny. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 8 (3), 269-300.

Carlson, N. (2006). *Fisiología de la conducta*. Madrid: Pearson.

Chernik, D. (1972). Effects of REM sleep deprivation on learning and recall by humans. *Perceptual and motor skills*, 34, 283-294.

Cirelli, C., Bushey, D. (2008). Sleep and wakefulness in *Drosophila melanogaster*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1129, 323-329.

- De Belle, S., Heisenberg, M. (1994). Associative odor learning in *Drosophila* abolished by chemical ablation of mushroom bodies. *Science*, 263 (5147), 692-695.
- Donlea, JM., Thimman, M., Suzuki, Y., Gottschalk, L., Shaw, P. (2011). Inducing sleep by remote control facilitates memory consolidation in *Drosophila*. *Science*, 332 (6037), 1571-1576.
- Everson, C., Wehr, T. (1993). Nutritional and metabolic adaptations to prolonged sleep deprivation in the rat. *American Journal of Physiology*, 264, 378-387.
- Frank, M., Issa, N., Stryker, M. (2001). Sleep enhances plasticity in the developing visual cortex. *Neuron*, 30, 275-287.
- Frye, M., Tarsitano, M., Dickinson, M. (2003). Odor localization requires visual feedback during free flight in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*, 206 (5), 843-855.
- Hendricks, J., Finn, S., Panckeri, K., Chavkin, J., Williams, J., Sehgal, A., Pack, A. (2000). Rest in *Drosophila* is a sleep-like state. *Neuron*, 25, 129-138.
- Hendricks, J., Kirk, D., Panckeri, K., Miller, M., Pack, A. (2003). Modafinil maintains waking in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Sleep*, 26 (2), 139-146.
- Horne, JA., Minard A. (1985). Sleep and sleepiness following a behaviourally "active" day. *Ergonomics*, 28 (3): 567-575.
- Huber, R., Hills, S., Holladay, C., Biesiadecki, M., Tononi, G., Cirelli, C. (2004). Sleep homeostasis in *Drosophila Melanogaster*. *Sleep*, 27 (4), 628-639
- Joiner, W., Crocker, A., White, B., Sehgal, A. (2006). Sleep in *Drosophila* is regulated by adult mushroom bodies. *Nature*, 441, 757-760
- Kattler, H., Dijk, D., Borbely, A. (1994). Effect of unilateral somatosensory stimulation prior to sleep on the sleep EEG in humans. *Journal of Sleep Research*, 3 (3), 159-164.

- Li, W., Pan, Y., Wang, Z., Gong, H., Gong, Z. (2009). Morphological characterization of single fan-shaped body neurons in *Drosophila melanogaster*. *Cell Tissue Research*, 336 (3), 509-519.
- Li, X., Yu, F., Guo, A. (2009). Sleep deprivation specifically impairs short-term olfactory memory in *Drosophila*. *Sleep*, 32 (11), 1417-1424.
- Maquet, P. (2001). The Role of Sleep in Learning and Memory. *Science*, 294 (5544), 1048-1052.
- McDonald, D., Keene, A. (2010). The sleep feeding conflict: Understanding behavioral integration through genetic analysis in *Drosophila*. *Aging*, 2 (8), 519-522.
- Nitz, D., van Swinderen, B., Tonini, G., Greenspan, R. (2002). Electrophysiological correlates of rest and activity in *Drosophila Melanogaster*. *Current Biology*, 12, 1934-1940.
- Pan, Y., Zhou, Y., Guo, C., Gong, H., Gong, Z., Liu, L. (2009). Differential roles of the fan-shaped body and the ellipsoid body in *Drosophila* visual pattern memory. *Learning and Memory*, 16, 289-295.
- Phelan, L., Rodd, Z., Hirsch, H., Rosellini, R. (2001). Exposure to cold: aversive Pavlovian conditioning in individual *Drosophila melanogaster*. *Physiological Entomology*, 26 (3), 219-224.
- Pitman, J., McGill, J., Keegan, K., Allada, R. (2006). A dynamic role for the mushroom bodies in promoting sleep in *Drosophila*. *Nature*, 441, 753-756.
- Quinn, W., Harris, W., Benzer, S. (1973). Conditioned behavior in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 71 (3), 708-712.
- Raizen, D., Zimmerman, J., Maycock, M., Ta, U., You, Y., Sundaram, M., Pack, A. (2008). Lethargus is a *Caenorhabditiselegans* sleep-like state. *Nature*, 451, 569-572.

- Ramón, F., Hernandez-Falcon, J., Nguyen, B., Bullock, T. (2004). Slow wave sleep in crayfish. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 101 (32), 11857-11861.
- Ramos, JM. (1996). *Sueño y procesos cognitivos*. Madrid: Editorial Sintesis.
- Reeve, C. (2001). *Encyclopedia of genetics*. USA: Fitzroy Dearborn Publisher
- Sakai, T., Kitamoto, T. (2006). Differential roles of two major brain structures, mushroom bodies and central complex, for *Drosophila* male courtship behavior. *Journal of Neurobiology*, 66 (8), 821-834.
- Seugnet, L., Galvin, JE., Suzuki, Y., Gottschalk, L., Shaw, P. (2009). Persistent short-term memory deficits following sleep deprivation in a *Drosophila* model of Parkinson disease. *Sleep*, 32 (8), 984-992.
- Seugnet, L., Suzuki, Y., Donlea, J., Gottschalk, L., Shaw, P. (2011). Sleep deprivation during early-adult development results in long-lasting learning deficits in adult *Drosophila*. *Sleep*, 34 (2), 137-146.
- Seugnet, L., Suzuki, Y., Vine, L., Gottschalk, L., Shaw, P. (2008). D1 receptor activation in the Mushroom Bodies rescues sleep loss induced learning impairments in *Drosophila*. *Current Biology*, 18 (15), 1110-1117.
- Seugnet, L., et al. (2009). Identifying sleep regulatory genes using a *Drosophila* model of insomnia. *Journal of neuroscience*, 29 (22), 7148-7157.
- Shaw, P., Cirelli, C., Greenspan, R., Tononi, J. (2000). Correlates of sleep and waking in *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287 (5459), 1834-1837.
- Smith, C. (1996). Sleep states, memory processes and synaptic plasticity. *Behavioural Brain Research*, 78, 49-56.
- Smith, C., Lapp, L. (1991). Increases in numbers of REMs and REM density in humans following an intensive learning period. *Sleep*, 14 (4), 325-330.

- Stern, W. (1971). Acquisition impairments following rapid eye movement sleep deprivation in rats. *Physiology & Behavior*, 7 (3), 345-352.
- Tabone, Ch., de Belle, S. (2011). Second-order conditioning in *Drosophila*. *Learning and Memory*, 18, 250-253.
- Wang, X., Green, D., Roberts, S., de Belle, S. (2007). Thermal disruption of mushroom body development and odor learning in *Drosophila*. *PLoS ONE*, 2 (11), 1-7.
- Wu, M., Ho, K., Crocker, A., Yue, Z., Koh, K., Sehgal, A. (2009). The effects of caffeine on sleep in *Drosophila* require PKA activity, but not the adenosine receptor. *The Journal of Neuroscience*, 29 (35), 11029-11037.
- Zhong, Y., Budnik, V., Wu, C. (1992). Synaptic plasticity in *Drosophila* memory and hyperexcitable mutants: Role of cAMP cascade. *The Journal of Neuroscience*, 12 (2), 644-651.