

EFFECTOS TRANSGENERACIONALES DEL APRENDIZAJE TEMPRANO EN UN  
MODELO AVIAR

Miguel Andrés Puentes Escamilla

Tesis de grado para optar al título de Magister en Psicología

*Director*

Germán Antonio Gutiérrez, Ph.D.

Universidad Nacional de Colombia, Bogotá

Facultad de Ciencias Humanas

Departamento de Psicología

2016

[...] cuando el primer paleopithecus raptó a uno de esos cuadrúmanos, se dio cuenta de que era una cuadrúmana y la poseyó debajo de un eucalipto que crecía justo en el lugar donde ahora se encuentra Mala Strana, en Praga. A consecuencia de haberse mezclado los cromosomas de aquel paleopiteco tan macho y los de la premujer cuadrúmana, tuvo lugar un tipo de meiosis y un acoplamiento de genes que produjeron, transmitidos a través de 30.000 generaciones, aquella sonrisa, en los labios de la señorita enfermera, parecida a la de la Monna Lisa...

*Stanislaw Lem, "Vacío perfecto"*

## **Agradecimientos**

El presente trabajo fue el producto de varios años de pensar, diseñar y llevar a cabo una investigación en un área sumamente interesante aunque poco explorada dentro de la psicología comparada. Esto significó la participación y el apoyo de muchas personas a quienes les brindo mis más sinceras gracias.

A mis papás y mis hermanos, quienes fueron el principal soporte en los momentos de mayor alegría, pero también en los de mayor frustración.

A Germán, por darme la guía necesaria para el buen desarrollo de este trabajo y por generarme confianza en algo que, si bien fue riesgoso y en momentos se tornó sombrío, valió y vale la pena. Muchas veces una investigación se desarrolla sobre un cuerpo de conocimientos amplio y sólido para trabajar “sobre seguro”, pero en ocasiones se pueden asumir riesgos que llevan a trabajos mucho más estimulantes y satisfactorios. En mi caso logré asumir ese riesgo gracias a la confianza brindada por mi asesor.

A Nicolás, Luis, Sebastián, Jhon, José Luis, Leonardo, Brian y demás integrantes del Laboratorio de Aprendizaje y Comportamiento Animal, por su participación y apoyo en la realización de las diferentes fases del experimento.

Y a María. Muchas veces para poder avanzar se necesitan personas que brinden apoyo, consuelo y afecto. Ella estuvo siempre para brindarme ese apoyo, para darme consejos, para retroalimentar mi trabajo, para animarme o incluso para darme “regaños afectuosos”.

A ellos, y a quienes de una u otra manera también me ayudaron en este proceso, mis más sinceras gracias.

## Tabla de Contenido

Lista de figuras.....	6
Lista de tablas .....	8
Resumen.....	9
Abstract.....	10
Introducción .....	11
Aprendizaje y evolución .....	11
Explicaciones del proceso evolutivo.....	14
Epigenética molar.....	16
Desarrollo temprano y aprendizaje .....	19
Efectos transgeneracionales del aprendizaje.....	21
Problema de investigación .....	26
Método .....	28
Sujetos.....	28
Instrumento y materiales .....	30
Procedimiento .....	32
Primera generación.....	32
Segunda generación.....	34
Tercera generación .....	35
Análisis de datos .....	36
Aspectos éticos.....	36
Resultados.....	38
Intrageneracionales .....	38
Generación 1. ....	38

Generación 2. ....	43
Transgeneracionales.....	48
Generación 3. ....	49
Datos fisiológicos.....	53
Discusión.....	57
Referencias.....	65

## Lista de figuras

<i>Figura 1.</i> Definiciones de las diferentes formas de herencia epigenética y sus relaciones... 23	23
<i>Figura 2.</i> Vista superior del instrumento usado durante el experimento..... 31	31
<i>Figura 3.</i> Estímulo condicionado usado para el experimento, el cual sirve como señal para la oportunidad de cópula..... 31	31
<i>Figura 4.</i> Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, para los sujetos experimentales de la generación 1, durante la fase de prueba. .... 39	39
<i>Figura 5.</i> Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, por sesiones, para los sujetos experimentales de la Generación 1, durante la fase de prueba. .... 40	40
<i>Figura 6.</i> Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, para los sujetos experimentales de la Generación 1, al interior de los grupos PA (a) y NP (b)..... 42	42
<i>Figura 7.</i> Duración media (+ error estándar) en la Zona 0 discriminada por sesiones, para los sujetos experimentales de la Generación 1, al interior de los grupos PA (a) y NP (b)..... 42	42
<i>Figura 8.</i> Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, para los sujetos experimentales de la generación 2, durante la fase de prueba. .... 44	44
<i>Figura 9.</i> Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, por sesiones, para los sujetos experimentales de la Generación 2, durante la fase de prueba. .... 45	45
<i>Figura 10.</i> Duración neta de los sujetos S61 (Generación 1) y S113 (Generación 2) en la Zona 0, a lo largo de los ensayos durante la fase de exposición temprana..... 46	46
<i>Figura 11.</i> Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, para los sujetos experimentales de la Generación 2, al interior de los grupos PA (a) y NP (b)..... 47	47
<i>Figura 12.</i> Duración media (+ error estándar) en la Zona 0 discriminada por sesiones, para los sujetos experimentales de la Generación 2, al interior de los grupos PA (a) y NP (b). ... 48	48

<i>Figura 13.</i> Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, para los sujetos experimentales de la generación 3, durante la fase de prueba .....	50
<i>Figura 14.</i> Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, por sesiones, para los sujetos experimentales de la Generación 3, durante la fase de prueba. ....	51
<i>Figura 15.</i> Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, para los sujetos de las generaciones 1 y 2, durante la fase de prueba.....	53
<i>Figura 16.</i> Valores promedio de área de glándula proctodeal en los sujetos del experimento. Se comparan los tres grupos (PA, NP y SE) de las tres generaciones (G1, G2 y G3).....	54
<i>Figura 17.</i> Valores promedio diarios del área de glándula proctodeal.....	56

**Lista de tablas**

Tabla 1. <i>Proceso de concepción, eclosión y crianza de los sujetos experimentales.</i> .....	29
Tabla 2. <i>Diseño general del experimento.</i> .....	37
Tabla 3. <i>Comparación por sesiones del tiempo de permanencia en la Zona 0 durante la fase de prueba, entre los grupos experimentales de la Generación 1.</i> .....	40
Tabla 4. <i>Comparación por sesiones del tiempo de permanencia en la Zona 0 durante la fase de prueba, entre los grupos experimentales de la Generación 2.</i> .....	45
Tabla 5. <i>Comparación por sesiones del tiempo de permanencia en la Zona 0 durante la fase de prueba, entre los grupos experimentales de la Generación 3.</i> .....	51



## **Efectos Transgeneracionales del Aprendizaje Temprano en un Modelo Aviar**

El objetivo de este estudio fue determinar si ocurren efectos transgeneracionales en las respuestas sexuales condicionadas del macho de codorniz japonesa, a partir de la exposición a diferentes condiciones estímulares durante etapas tempranas del desarrollo, previo a la maduración sexual de esta especie. Tres generaciones de sujetos divididos a su vez en tres grupos (Pareado, No Pareado, Sin Experiencia) recibieron diferentes presentaciones de estímulos en edades tempranas (presentaciones pareadas de CS-US, presentaciones no pareadas de CS y US y ausencia de estímulos, respectivamente). Los resultados indican que la presentación pareada de estímulos en edad temprana produce aceleración en el aprendizaje por condicionamiento en edad adulta (Generación 1), el cual repercute en generaciones posteriores provocando un efecto acumulativo (Generación 2) y que permanece aun cuando haya generaciones que ya no reciben estimulación temprana (Generación 3). Los datos se discuten desde la perspectiva de la epigenética molar, haciendo énfasis en la importancia del estudio de los fenómenos transgeneracionales desde varios niveles de análisis, y especialmente desde el nivel comportamental.

**Palabras clave:** Epigenética molar, Efectos transgeneracionales, Aprendizaje, Condicionamiento clásico, Comportamiento sexual, *Coturnix japonica*.

### **Transgenerational Effects of Early Learning in an Avian Model**

This study assessed transgenerational effects on sexually conditioned responses in male Japanese quail, through exposure to different stimuli conditions during early stages of development. Three generations of subjects divided into three groups (Paired group, No-Paired group, No-Experienced group), received different stimuli presentations in early age (paired presentation of CS-US, unpaired presentation of CS and US, and no exposure to stimuli, respectively). Results indicate that the paired presentation of stimuli at an early stage of development produces the acceleration of conditioning during adulthood (Generation 1), which affects subsequent generations and provokes a cumulative effect (Generation 2) and that effect remains even when the following generations do not receive early stimulation (Generation 3). Data are discussed from the perspective of molar epigenetics, emphasizing the importance of the study of transgenerational phenomena from several levels of analysis, especially from the behavioral level.

**Keywords:** Molar epigenetics, Transgenerational effects, Learning, Classical conditioning, Sexual behavior, *Coturnix japonica*.

### **Efectos Transgeneracionales del Aprendizaje Temprano en un Modelo Aviar**

El aprendizaje es un rasgo fenotípico sujeto a los cambios del ambiente en el que está inmerso el organismo, y a los procesos de herencia y evolución que explican su mantenimiento. Hoy en día hay un reconocimiento general del papel funcional del ambiente en la expresión fenotípica, dejando de ser simplemente un factor selector de las características morfológicas, fisiológicas y comportamentales de los organismos vivos. Profundizando un poco, los investigadores de las ciencias de la vida reconocen que no todo lo que tiene que ver con la evolución y el desarrollo de las especies puede ser explicado enteramente por la síntesis neo darwinista; hay toda una serie de eventos ontogenéticos y filogenéticos que se escapan de las explicaciones puramente genéticas: el ambiente influye en la expresión genética, el fenotipo no depende exclusivamente de la secuencia de ADN, la herencia va más allá de los genes, los cambios filogenéticos no son completamente azarosos, e incluso cierta información adquirida durante el desarrollo puede ser transmitida a las siguientes generaciones (Jablonka & Lamb, 2005). Todo lo anterior se puede relacionar específicamente con los procesos y los mecanismos del aprendizaje asociativo, específicamente del condicionamiento clásico.

#### **Aprendizaje y evolución**

El aprendizaje asociativo, representado por el condicionamiento clásico y el condicionamiento operante, es una de las formas de aprendizaje más generales presente en especies animales humanas y no humanas (Tooby & Cosmides, 2005). Específicamente el condicionamiento clásico es una forma de aprendizaje que tiene gran importancia a nivel ontogenético y filogenético; la capacidad que poseen los organismos animales de relacionar eventos que ocurren en el ambiente permite adquirir una serie de ventajas para la supervivencia del individuo (por ejemplo, previendo la disponibilidad de alimento o un peligro potencial por medio de claves asociadas a ellos) y para el mantenimiento de la especie (por ejemplo, anticipando la llegada de una potencial pareja reproductiva y preparando al

organismo para generar respuestas eficaces y efectivas de cortejo y eventual cópula, aumentando así la probabilidad de tener hijos y, con ello, de transmitir el material genético propio). Desde el punto de vista del desarrollo evolutivo se puede decir que, en el condicionamiento clásico, la relación aprendida entre la información del ambiente y el propio comportamiento es generada gracias a mecanismos de base biológica producto de la evolución, los cuales funcionan a partir de las relaciones estímulo-respuesta y las contingencias ambientales entre estímulos condicionados (EC) y estímulos incondicionados (EI) (Tooby & Cosmides, 2005).

El condicionamiento clásico ha estado presente en la mayor parte de los organismos animales, lo cual supone que los mecanismos que permiten este tipo de aprendizaje son mecanismos relativamente sencillos en términos de estructura y funcionamiento neurofisiológico, además de ser generales y de vieja data en la historia filogenética. Moore (2004) plantea una hipótesis acerca de cómo pudo haber aparecido el aprendizaje por condicionamiento clásico; el autor sugiere, a partir de investigaciones empíricas principalmente en neurociencias, que este aprendizaje asociativo aparece como consecuencia de formas más elementales de aprendizaje, específicamente a partir de los procesos que permiten la sensibilización a corto y largo plazo, sugiriendo la siguiente progresión: sensibilización → sensibilización a largo plazo → condicionamiento clásico. Esta suposición parte también de estudios de cladística en los que se muestra que los metazoos más antiguos en la escala filogenética presentan fenómenos de sensibilización e indicios de formas básicas de condicionamiento clásico (Moore, 2004).

Durante el siglo XX se ha dado una discusión acerca de la generalidad de los procesos de aprendizaje, generalidad que está determinada en buena medida por los procesos evolutivos. Desde el punto de vista de los procesos evolutivos, los rasgos de los organismos son una consecuencia de la relación entre los costos de adquirir o mantener un cierto rasgo y

los beneficios que éste trae para la supervivencia del individuo o la reproducción de la especie (Dugatkin, 2009). De esta relación costo-beneficio se deriva, por ejemplo, que existen mecanismos fijos en el organismo, que son de bajo costo, y que son útiles para afrontar ciertas demandas del ambiente; no obstante estos mecanismos fijos funcionan en tanto que las demandas del ambiente sean igualmente fijas. Por otra parte, las demandas provenientes de un ambiente cambiante exigen el desarrollo de mecanismos que respondan a dicho cambio y estos mecanismos resultan siendo más costosos para el organismo (en términos de costo energético).

En relación con lo anterior, durante la primera mitad del siglo XX se supuso el aprendizaje asociativo como un proceso general, determinado por mecanismos generales, altamente flexibles según las demandas de un entorno cambiante; no obstante a partir de ese momento se desarrollaron varias investigaciones que sugerían la existencia de especializaciones en el aprendizaje y, por ende, la existencia de algunos mecanismos fijos. Por citar algunos ejemplos tenemos los clásicos estudios de García y Koelling (1966) sobre aprendizaje de aversión a sabores en ratas, en los que encontraron que las asociaciones entre estímulos dependen en gran medida de la naturaleza y las características de los mismos, en función de su relevancia biológica. Así, cuando un EI aversivo afecta funciones digestivas, éste será más fácilmente asociado con un EC de naturaleza gustativa –aun cuando no hay contigüidad temporal entre el EC y el EI, debido a la relación funcional que existe entre la percepción gustativa y los procesos digestivos (García & Koelling, 1966). En este caso la especialización radica en que el condicionamiento de aversión a sabores es específico de la naturaleza y las propiedades de los estímulos que van a ser asociados. Otras investigaciones acerca de especializaciones en el aprendizaje muestran, por ejemplo, que los machos de codorniz japonesa en situaciones de aprendizaje sexual discriminativo tienen un sesgo hacia las hembras más que hacia los machos, cuando éstos son asociados con la oportunidad de

cópula (Nash & Domjan, 1991); especies de murciélagos cuya dieta se basa solo en el consumo de sangre no desarrollan condicionamiento de aversión a sabores, lo cual sí ocurre con otras especies que poseen una dieta más variada (Ratcliffe, Fenton, & Galef 2003); y también evidencia de condicionamiento de aversión a dietas específicas en ratas de la cepa Sprague-Dawley, cuando éstas poseen deficiencias nutricionales específicas relacionadas con tales dietas (Rozin, 1967). Los anteriores hallazgos, aparte de mantener la discusión entre mecanismos generales versus especializaciones adaptativas del aprendizaje, sugieren una conexión entre el aprendizaje como rasgo fenotípico y la influencia que puede ejercer el ambiente en su expresión; y en relación con lo anterior se ha generado una discusión acerca del rol del ambiente –si se trata de una variable selectora, o si tiene propiedades funcionales o incluso causales– en relación con cambios en la expresión fenotípica, lo cual se extiende al aprendizaje asociativo. Esto lleva a hablar acerca de las explicaciones generales del proceso evolutivo.

### **Explicaciones del proceso evolutivo: síntesis neo-darwinista, lamarckismo y epigenética**

Durante la primera mitad del siglo XX las explicaciones acerca de los cambios de los organismos a nivel filogenético se han enmarcado en lo que se conoce como la síntesis neo-darwinista. Esta síntesis es el resultado de la unión entre las ideas de Darwin acerca de la evolución de las especies y el mecanismo de selección natural que la explica, con los descubrimientos acerca de la genética y los principios que regulan la herencia. Una de las ideas principales de la síntesis neo-darwinista es que las modificaciones fenotípicas de las especies son producto de dos factores: alteraciones genéticas (mutaciones, cambios en la configuración interna del ADN) y selección de un conjunto de individuos que comparten dichas alteraciones. Este proceso se entiende como accidental, aleatorio y definido poblacionalmente (Lickliter & Honeycutt, 2009). Además de ello, el papel del ambiente en este proceso es meramente selector de aquellas modificaciones genéticas que representan una ventaja para aquellos individuos que

las poseen. Desde este punto de vista, los procesos de modificación genética y su consiguiente expresión fenotípica son ajenos a los cambios ambientales.

La síntesis neo-darwinista choca de lleno con la propuesta lamarckiana. Lamarck (1809), al igual que Darwin, entendió que las especies se transformaban; compartía con Darwin la idea de la evolución como un fenómeno que existe. Sin embargo, el mecanismo que Lamarck propuso para explicar la evolución de las especies era radicalmente distinto al de Darwin. Para Lamarck, las especies cambian debido a un proceso de herencia de caracteres adquiridos, a partir de una cierta ley del uso y el desuso. Según esto, los organismos durante su vida van sufriendo transformaciones físicas, morfológicas o fisiológicas, debido a ciertas exigencias del medio, y dichas transformaciones –en caso de que le hayan sido útiles– son transmitidas a sus crías; por otro lado, aquellos rasgos físicos que dejen de ser usados por el individuo tenderán a desaparecer en su descendencia (Lamarck, 1809). En este caso, para Lamarck el ambiente sí tendría un papel funcional, dado que los cambios en el ambiente propiciarían cambios en las características de las especies.

Durante muchos años, a partir de la síntesis neo-darwinista, se ha desacreditado la propuesta lamarckiana; no obstante a partir de mediados del siglo pasado las ideas de Lamarck sonaron de nuevo. Conrad Waddington (1942) propuso el término “epigenética” para referirse a la interacción entre los genes y el ambiente. En el clásico artículo publicado en la revista *Endeavour*, Waddington da a entender que el fenotipo no depende exclusivamente del gen, sino que la expresión del gen durante el desarrollo de un individuo también depende del ambiente (Waddington, 1942). Con esto da a entender que las modificaciones fenotípicas no son exclusivas de las alteraciones en el ADN.

Hoy en día, cuando se habla de epigenética se hace referencia casi necesariamente a los fenómenos que ocurren a nivel molecular, es decir, a los fenómenos relacionados con alteraciones en los mecanismos de transcripción, traducción y codificación del ADN, con la

organización de los cuerpos de ADN en el cromosoma, etc. Algunas definiciones de *epigenética* van en esta vía; como ejemplo se puede citar la definición dada por Wu y Morris (2001): “Estudio de los cambios de funcionamiento de los genes y de su expresión, heredables por vía mitótica o meiótica, los cuales no implican cambios en la secuencia de ADN” (p. 1103). Las investigaciones a nivel molecular en epigenética se centran en explicar los mecanismos que dan lugar a las modificaciones fenotípicas; para el caso particular del aprendizaje asociativo habría dos mecanismos epigenéticos principales relacionados con cambios en los procesos de aprendizaje: la metilación de ADN (es decir, la adición de un grupo metilo en posiciones específicas, en relación con los pares de bases del ADN) y modificaciones de las histonas (cambios en las proteínas que “empaquetan” el ADN, paquetes que se conocen con el nombre de cromatina) (Zovkic, Guzman-Karlsson, & Sweatt, 2013). Estos procesos moleculares son heredables en el corto plazo, pero no alteran la estructura misma del ADN o generan mutaciones; de hecho los procesos de herencia epigenética tienen una corta duración, de unas cuantas generaciones; no son permanentes a escala filogenética (Crews & Gore, 2014).

No obstante la explicación de los fenómenos epigenéticos no se reduce ni debiera quedar circunscrita a los mecanismos moleculares, si bien éstos son fundamentales. Es cierto que cuando se habla de epigenética se tiene que pensar en lo que ocurre a nivel molecular, pero reducir la epigenética a lo anterior equivaldría a relegar a un segundo plano todos los demás niveles de explicación.

### **Epigenética molar**

El interés del psicólogo chino Zing-Yang Kuo (1922) por el estudio de los factores del desarrollo que influyen en el comportamiento, y con ello intentar romper la barrera entre lo innato y lo adquirido (el debate *nature-nurture*; Honeycutt, 2011), fue el inicio de una visión mucho más amplia de la epigenética. El biólogo evolucionista Richard Lewontin (1964) por una parte, y el etólogo Frank Beach (Beach & Jaynes, 1954) y los psicólogos Karl Lashley



(1930) y Theodore Schneirla (Maier & Schneirla, 1935) por otra, propusieron una aproximación epigenética molar –inicialmente centrada en el comportamiento– que se enfoca en la interacción entre los diferentes niveles de organización biológica, desde el genético hasta el ambiental, la cual da sustento al desarrollo de comportamientos específicos de las especies. Esta visión molar implica entender los fenómenos epigenéticos como procesos interactivos que ocurren entre el organismo como un todo (no solamente sus genes) y el ambiente que lo circunda (Crews, 2008).

Una definición de epigenética que va más allá de lo que sucede a nivel molecular permite no solamente evitar el reduccionismo, sino también ampliar el horizonte de posibles campos de investigación. Al respecto existen múltiples ejemplos de investigaciones acerca de cómo los factores ambientales dan lugar a una serie de cambios durante el desarrollo de los individuos e inclusive cambios que repercuten en generaciones posteriores, cuyos análisis son en diferentes niveles: celular, estructural (específicamente en el sistema nervioso), comportamental, e incluso social. De manera conveniente se citan a continuación ejemplos de estudios de carácter epigenético cuyos análisis se centran predominantemente en los cambios a nivel comportamental, ya sea durante el desarrollo individual o sus repercusiones transgeneracionales.

Crews et al. (2007) llevaron a cabo una investigación en la que evaluaron los cambios en la preferencia de pareja en un grupo de ratas Sprague-Dawley, tanto en machos como en hembras, luego de que sus progenitores fueran expuestos a vinclozolin, un fungicida con efectos antiandrogénicos además de tener repercusiones a nivel endocrino. Fue el efecto antiandrogénico el que se evaluó en este estudio, mostrando resultados diferenciales en machos y hembras. Luego de que sus progenitores fueran expuestos al vinclozolin, tres generaciones consecutivas de hembras prefirieron a machos que no hubieran tenido un historial de exposición a dicho fungicida, mientras que tres generaciones consecutivas de machos no

mostraron tal tipo de preferencia sino que sus elecciones fueron azarosas. Cabe resaltar que, más allá de señalar el mecanismo epigenético molecular (en este caso metilación de ADN), los resultados de este estudio se centraron en los cambios comportamentales a lo largo de varias generaciones.

Una serie de estudios acerca de la influencia de factores ambientales en el crecimiento y la reproducción del gecko leopardo (*Eublepharis macularius*) (Crews, Sakata & Rhen, 1998) muestra que la temperatura de incubación de los huevos durante el desarrollo embrionario determina no solamente el sexo gonadal, sino que incide también en las diferencias sexuales durante el crecimiento de los individuos, en las características morfológicas de los adultos, en su desarrollo neuronal, en sus niveles de agresividad y en sus comportamientos sexuales y reproductivos. Posteriormente se comprobó que los procesos de acetilación de histonas, producto de las variaciones de temperatura, están en la base de todos estos cambios. Todo ello hace ver la importancia de la integración de distintos niveles explicativos para dar cuenta de los fenómenos neuroendocrinos (Crews et al., 1998).

Por último, Romeo, Tang y Sullivan (2009) hacen una compilación en la que describen cómo las experiencias neonatales o durante la pubertad pueden modular el comportamiento adulto, ya sea en humanos o en otras especies animales; de manera específica señalan el papel de la experiencia temprana en el desarrollo de las habilidades cognitivas y emocionales al mediano y largo plazo. También sugieren que la experiencia temprana tiene consecuencias a nivel transgeneracional, aunque su preocupación no se centra en la explicación de los mecanismos a nivel molecular; de hecho apenas sí los mencionan.

A continuación se hace una extensión en la presentación de evidencia empírica a favor de la influencia del ambiente en el desarrollo individual y sus repercusiones a nivel transgeneracional, específicamente en relación con el aprendizaje asociativo; todo esto enmarcado en una visión molar de los procesos epigenéticos.

## **Desarrollo temprano y aprendizaje**

Las cuatro preguntas de Niko Tinbergen (1963) son un intento de dirigir la discusión acerca de por qué los organismos animales se comportan como lo hacen. Una de esas preguntas se refiere a la explicación del comportamiento individual a partir de factores relacionados con su desarrollo: “¿Cómo se combinan la experiencia y la configuración genética para hacer que el animal se comporte como lo hace?” (Shettleworth, 2009).

El trabajo de Zing-Yang Kuo dio pie a la realización de un cúmulo de investigaciones acerca de la influencia de factores asociados con el desarrollo del individuo en la explicación de su conducta actual; esto, entendiendo que el comportamiento actual es el resultado de la historia individual del organismo. Desde este punto de vista, los mecanismos explicativos del comportamiento aprendido se comprenden mejor si se integran factores ontogenéticos que los determinan (Blumberg, Freeman, & Robinson, 2010).

En un estudio acerca del fenómeno de irrelevancia aprendida –en el cual la presentación previa no pareada de un EC y un EI lleva a que en una fase subsecuente se retarde o desacelere el proceso de aprendizaje por condicionamiento ante esos mismos estímulos, Rush, Robinette y Stanton (2001) encontraron que la irrelevancia aprendida depende del momento del desarrollo en el cual se presenten los estímulos de manera no pareada. En este estudio se organizaron tres grupos de ratas que recibieron un tratamiento experimental (condicionamiento de la respuesta de parpadeo) en diferentes edades, a saber: un grupo recibió tratamiento a los 20 días de edad, otro grupo a los 25 días de edad, y un tercer grupo a los 30 días de edad; cada grupo de sujetos se dividió en dos subgrupos: un subgrupo recibió 50 ensayos de presentación no pareada EC y EI seguidos de los cuales se presentaban otros 50 ensayos explícitamente pareados, y el otro subgrupo (control) no recibió ensayos no pareados sino que pasó directamente a los 50 ensayos explícitamente pareados.

Los resultados demostraron que los sujetos del grupo de 20 días de edad no presentaron el fenómeno de irrelevancia aprendida (el desempeño de los dos subgrupos fue muy similar), los sujetos del grupo de 25 días de edad presentaron el fenómeno de manera parcial, mientras que los sujetos con 30 días de edad sí presentaron el fenómeno de irrelevancia aprendida; en este último caso el desempeño de los sujetos del subgrupo que recibió los primeros ensayos de manera explícitamente no pareada fue significativamente menor al desempeño de los sujetos del subgrupo que no recibió ensayos pareados (Rush et al., 2001). Este estudio demostró que el fenómeno de irrelevancia aprendida no ocurre siempre de la misma manera sino que hay momentos críticos en el desarrollo de los individuos en los que la presentación de estímulos puede tener consecuencias diferentes en el futuro.

Otro fenómeno del aprendizaje en el que se puede ver la influencia del desarrollo es el temor condicionado (adquisición de respuestas condicionadas). Al respecto, en un trabajo no publicado, Hunt, Barnet, Rima y Murdoch (2004; citado en Richardson & Hunt, 2010) encontraron que las respuestas típicas del temor condicionado se manifiestan en diferentes momentos del desarrollo de los individuos. En este estudio se organizaron dos grupos de ratas que recibieron un tratamiento de temor condicionado en diferentes edades: a los 18 días o a los 24 días de edad; cada grupo de sujetos se dividió en dos subgrupos: un subgrupo recibió presentaciones pareadas de estímulos que consistían en una luz (EC) seguido por un choque eléctrico (EI), y el otro subgrupo (control) recibió presentaciones explícitamente no pareadas de los estímulos. Los resultados mostraron que todos los sujetos que recibieron ensayos pareados presentaron niveles similares de respuesta de congelamiento (*freezing*) cuando fueron probados únicamente ante el EC; sin embargo, al medir la respuesta de sobresalto, ésta se presentó de manera significativa solo en el grupo de 24 días de edad, mientras que en los sujetos de 18 días de edad prácticamente no hubo diferencias en la respuesta de sobresalto entre los que recibieron ensayos pareados y los que recibieron ensayos explícitamente no

pareados (Hunt et al., 2004; citado en Richardson & Hunt, 2010). Este estudio demostró que, si bien el temor condicionado se presenta en diferentes etapas del desarrollo, las respuestas típicas de este aprendizaje no se manifiestan en todas las etapas sino que algunas (como el sobresalto) se desarrollan más tardíamente.

También se ha demostrado el efecto del desarrollo temprano en el condicionamiento clásico sexual. Al respecto, Arbaiza (2013) encontró que la presentación diferencial de estímulos en etapas previas a la maduración sexual genera cambios en el proceso de aprendizaje por condicionamiento clásico sexual. En este estudio se organizaron tres grupos de codornices japonesas macho (*Coturnix japonica*) que recibieron diferentes exposiciones a estímulos previo al inicio de su desarrollo sexual y posterior maduración; un primer grupo recibió un tratamiento pareado que consistió en la presentación de un modelo hecho de tela que simula la forma de una codorniz (EC) durante 30 segundos, seguido por la presentación visual de una hembra madura (EI) durante 5 minutos; el segundo grupo recibió los mismos estímulos pero de manera explícitamente no pareada; y el último grupo no recibió la presentación de los estímulos en etapa temprana. Para ver el efecto de la presentación temprana de los estímulos, todos los sujetos recibieron ensayos pareados cuando ya estaban maduros sexualmente. Los resultados mostraron que los sujetos del grupo que recibieron presentaciones pareadas previamente al inicio de su desarrollo sexual mostraron curvas de aprendizaje más aceleradas en relación con los sujetos que no recibieron la presentación temprana de estímulos (Arbaiza, 2013). Este estudio demostró que el desarrollo sexual también es un periodo crítico en relación con los fenómenos de aprendizaje de respuestas sexuales condicionadas.

### **Efectos transgeneracionales del aprendizaje**

Siguiendo con las cuatro preguntas planteadas por Tinbergen (1963), otra pregunta se refiere a la explicación del comportamiento en función del mantenimiento o la

transformación de sus mecanismos subyacentes desde el punto de vista filogenético (Shettleworth, 2009); por medio de esta pregunta se pretende saber, entre otras cosas, cómo y por qué ocurren cambios comportamentales entre generaciones de individuos.

La epigenética nos muestra que los cambios comportamentales a nivel filogenético también están sujetos a la influencia del ambiente, el cual deja de tener un papel meramente selector para adquirir un papel funcional. Inclusive es posible ver cambios transgeneracionales a corto plazo, y de corta duración como se indicó anteriormente, en los mecanismos del aprendizaje asociativo, gracias a la influencia del ambiente. En este punto es necesario indicar las diferentes vías por las cuales se da la herencia epigenética, cuyos procesos son distintos a los procesos de herencia genética.

La Figura 1 muestra un esquema general acerca de las vías de herencia epigenética. A diferencia de la herencia genética (en la cual lo que se hereda es la secuencia genética), la herencia epigenética implica la adquisición y transmisión de mecanismos que afectan la expresión de los genes. A su vez la herencia epigenética puede estar mediada por uno de dos factores: por un lado puede estar mediada por alteraciones en la línea germinal, es decir, en los espermatozoides, el óvulo o las células madre que propician su formación (Burggren & Crews, 2014); esta forma de herencia epigenética ocurre con cierta frecuencia en embriones o fetos de mamíferos, por ejemplo, mientras están aún en el útero. Por otra parte está la herencia mediada por factores contextuales/ambientales, la cual ocurre por una exposición directa del individuo en desarrollo a algún factor ambiental crítico; siempre y cuando permanezca dicho factor ambiental crítico, la alteración epigenética se vería manifiesta en cada generación en uno o varios niveles de organización de los individuos, por lo que la eliminación del factor ambiental llevaría también a la eliminación de dicha alteración epigenética (Burggren & Crews, 2014). La herencia dependiente de cambios en el contexto/ambiente sería la forma de herencia más común, pero también es la menos estable y

de menor duración a lo largo de las generaciones.

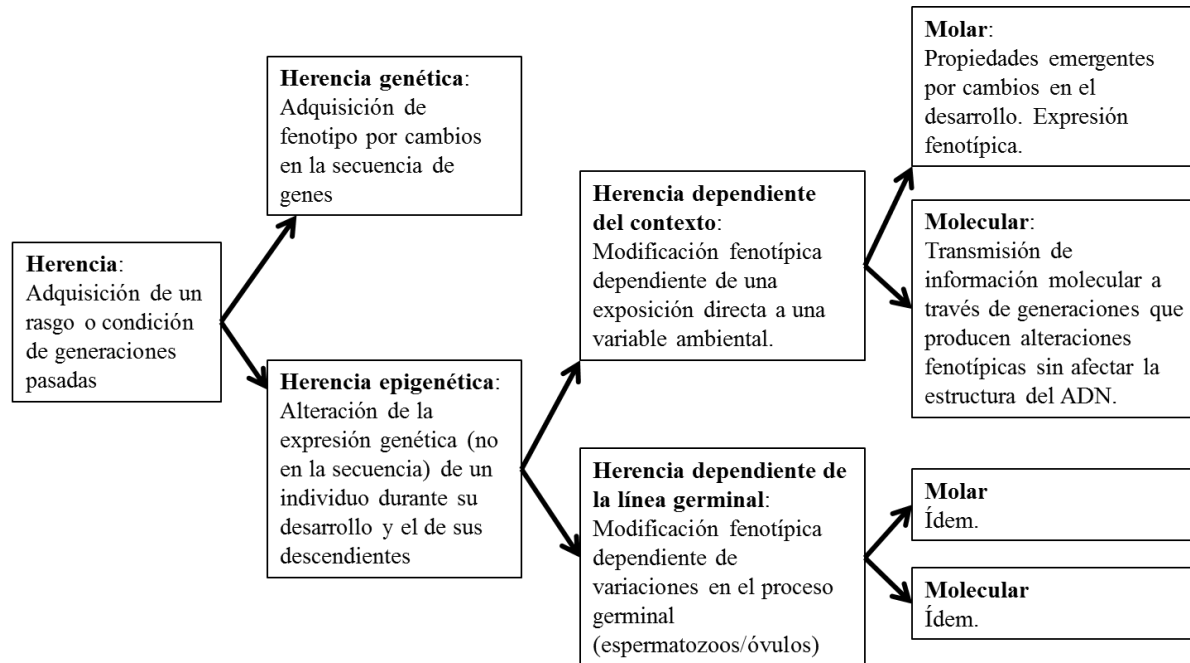


Figura 1. Definiciones de las diferentes formas de herencia epigenética y sus relaciones.

Tomado y adaptado de Burggren y Crews (2014).

Son pocos los estudios que muestran los efectos transgeneracionales del aprendizaje asociativo. La mayoría de ellos se han llevado a cabo con seres humanos o con ratas y la gran parte se concentran en los cambios de los mecanismos moleculares génicos, cromosómicos y celulares (para una revisión reciente, ver Dias, Maddox, Klengel, & Ressler, 2015). Se pueden citar algunos trabajos interesantes acerca de los efectos transgeneracionales de diversas formas de aprendizaje. Por ejemplo, Storm y Lima (2010) hallaron efectos transgeneracionales madre-cría en la especie de grillo *Gryllus pennsylvanicus* en relación con la detección de predadores, en este caso arañas lobo (*Hogna helluo*), por medio de señales químicas; las madres gestantes que estuvieron expuestas a dichas señales químicas predictoras de la llegada de arañas predatoras, muestran respuestas de *freezing* con mayor

frecuencia que aquellas madres no expuestas a la sustancia química. Como consecuencia, las crías de las madres expuestas a las señales químicas muestran respuestas de evitación más exitosas, lo cual redundaría en una mayor probabilidad de supervivencia. Como conclusiones de este estudio se puede afirmar que las crías de grillo “heredaron” mecanismos que les permite asociar más efectivamente claves ambientales con la presencia de peligros potenciales; además, por la manera como se desarrolló esta investigación, se podría plantear la hipótesis de una “herencia epigenética dependiente de la línea germinal” (Burggren & Crews, 2014).

Otro ejemplo de “herencia epigenética dependiente de la línea germinal” lo constituye el estudio de Dias y Ressler (2014) acerca de los efectos transgeneracionales de procedimientos de condicionamiento de temor a olores. En este estudio, ratones hembra en estado de gestación fueron sometidas a un procedimiento de condicionamiento usando un olor (acetofenona) como EC y choques eléctricos de baja intensidad administrados en las patas como EI. Como se esperaba, las madres desarrollaron respuestas condicionadas de temor ante el olor pero no ante otros olores que fueron usados como prueba; pero lo interesante del estudio fue que las crías nacieron con modificaciones en las vías olfatorias y en los receptores olfatorios asociados a la acetofenona, generando mayor sensibilidad a este olor condicionado originalmente en la madre. Estas modificaciones en vías y receptores olfatorios se relacionan con mecanismos particulares de metilación (hipometilación del gen asociado con el receptor olfatorio Olfr151) (Dias & Ressler, 2014).

Los anteriores son algunos ejemplos de investigaciones que muestran evidencia a favor de los efectos transgeneracionales del aprendizaje asociativo. Sin embargo se pueden sacar al menos tres conclusiones importantes. En primer lugar, son pocos los estudios reportados acerca de los efectos transgeneracionales del aprendizaje asociativo, explicados principalmente a nivel comportamental; como ya se afirmó, la mayor parte de las investigaciones se centran en el estudio de los mecanismos moleculares y esto ya está siendo



advertido. Por ejemplo, Ed Tronick, profesor de la Universidad de Massachusetts en EE.UU., señala que los estudios en epigenética del comportamiento se están concentrando en encontrar los mecanismos moleculares subyacentes (ver Lester et al, 2011), pero se podría estar cayendo en un reduccionismo que relega al fenotipo, considerándolo casi como un epifenómeno más no como un elemento central de atención. Tronick sugiere también que es necesario generar modelos de cambio epigenético más dinámicos e integradores (ver Lester et al, 2011), lo cual concuerda con la propuesta molar descrita por Crews (2008). Así mismo Burggren & Crews (2014) afirman que los estudios en epigenética del comportamiento son pocos debido tanto a la falta de conocimiento del área, como al aumento de visiones cada vez más reduccionistas y genocéntricas de la vida en general.

En segundo lugar, en la literatura consultada no se encuentran trabajos que muestren efectos transgeneracionales del aprendizaje asociativo relacionados con procesos de “herencia epigenética dependiente del contexto” (Burggren & Crews, 2014). Los estudios que abordan esta forma de herencia epigenética se centran principalmente en cambios morfológicos y fisiológicos; ejemplos de ello lo constituyen los trabajos acerca de “efectos maternos”, los cuales, según Wolf y Wade (2009), ocurren cuando las características fenotípicas de un organismo resultan no sólo de su propia carga genética y de sus propias experiencias ambientales, sino también de la carga genética y de las experiencias ambientales de la madre. En cuanto a lo anterior se han visto, por ejemplo, efectos de factores ambientales en la producción de huevos de gallina (*Gallus gallus domesticus*), los cuales no solo afectan las características de la yema y la clara de los huevos producidos, sino que éstos influyen también en las características morfológicas y fisiológicas (tamaño del embrión, tasa cardíaca, concentración de hormonas sexuales, etc.) de los embriones que nacen de algunos de estos huevos fecundados (Ho, Reed, & Burggren, 2011). O también efectos de la temperatura en la determinación del sexo en especies de reptiles, como es el caso de la tortuga de orejas rojas

(*Trachemys scripta*), especie en la cual se puede modificar el sexo del animal por medio de variaciones en la temperatura ambiental de la potencial madre, lo cual afecta la producción hormonal de ésta y a su vez afecta el desarrollo gonadal de sus crías (Matsumoto, Buemio, Chu, Vafae, & Crews, 2013).

En tercer lugar, son pocos los trabajos en los que se estudien los efectos transgeneracionales de experiencias ligadas al comportamiento sexual –cabe mencionar de nuevo el trabajo sobre impronta sexual de Crews et al. (2007), y mucho menos que estos trabajos involucren también procesos de aprendizaje asociativo.

### **Problema de investigación**

Los fenómenos epigenéticos son mejor entendidos cuando se integran varios niveles de explicación; así se comprende mejor su importancia en relación con el proceso evolutivo, en tanto que nos permitiría ver con mayor detalle cómo operan a un plazo más corto los mecanismos de selección y los procesos de adaptación. De hecho la evidencia empírica muestra cómo los cambios comportamentales en diversas especies animales pueden ser explicados a partir de alteraciones durante su desarrollo ontogenético, y cómo estas alteraciones pueden tener consecuencias de tipo transgeneracional. Una visión molar permite comprender la epigenética como un fenómeno –o serie de fenómenos– que debe ser analizado en diferentes niveles. Tal y como lo sugiere Crews (2014):

Algunos podrían argumentar que el uso del término epigenética sin hacer referencia a un mecanismo epigenético específico es inaceptable. Sin embargo [...] una definición adecuada de la epigenética se extiende más allá de la utilizada por los biólogos moleculares, en este caso incluyendo consecuencias funcionales. Por lo tanto, los cambios a nivel de transcripción, los cambios fisiológicos, cerebrales y del comportamiento, todos entran en una definición adecuada de la epigenética (p. 271).

Con base en lo anterior, y a partir de la revisión de la literatura, surge la posibilidad de ligar los procesos de aprendizaje asociativo –específicamente el aprendizaje de respuestas sexuales condicionadas clásicamente, con los procesos de herencia epigenética. Previamente en el Laboratorio de Aprendizaje y Comportamiento Animal se han llevado a cabo trabajos acerca de la influencia de diversas experiencias en etapas tempranas del desarrollo sobre diferentes aspectos del comportamiento sexual en la codorniz japonesa (*Coturnix japonica*), tales como los índices de receptividad sexual y fertilización de huevos en hembras (Arteaga, 2015) o la aceleración de los procesos de aprendizaje sexual en machos sexualmente maduros (Arbaiza, 2013).

El objetivo general del presente trabajo de investigación consiste en determinar si ocurren efectos transgeneracionales en las respuestas sexuales condicionadas del macho de codorniz japonesa, a partir de la exposición a diferentes condiciones estímulares durante etapas tempranas del desarrollo, previo a la maduración sexual de esta especie.

Los objetivos específicos son:

1. Confirmar la existencia de efectos en el desarrollo del aprendizaje, a partir de la exposición a diferentes condiciones estímulares en edades tempranas previas a la madurez sexual del macho de codorniz japonesa.
2. Observar efectos en el aprendizaje de tipo acumulativo, a lo largo de varias generaciones de sujetos, por medio de la manipulación de las condiciones estímulares en cada una de las generaciones de sujetos.
3. Respaldar empíricamente los procesos de herencia dependientes del contexto.

## EXPERIMENTO

### Método

#### Sujetos

Se utilizaron en total 72 machos de codorniz japonesa (*Coturnix japonica*) como sujetos experimentales, los cuales fueron concebidos y criados en el Laboratorio de Aprendizaje y Comportamiento Animal de la Universidad Nacional de Colombia. Los 72 sujetos se dividen en tres generaciones sucesivas, es decir 24 sujetos por cada generación.

La primera generación de sujetos fue concebida a partir de un grupo de machos y hembras progenitores obtenidos de la granja CIEM Colombia, ubicada en las afueras de Bogotá, la cual cuenta con las condiciones técnicas apropiadas para proveer animales en perfecto estado de salud, criados bajo condiciones estándar y con altos criterios de calidad. El proceso general para la concepción, eclosión y crianza de los sujetos experimentales de cada una de las generaciones es descrito en la Tabla 1.

Se usaron hembras de la misma especie como estímulos incondicionados (EI); un grupo de hembras (entre 8 y 10 hembras) fue asignado para cada uno de los grupos experimentales de manera específica, las cuales se presentaban de manera rotativa al interior de cada grupo, y se cambiaban por hembras nuevas para las generaciones subsiguientes. Para los sujetos experimentales se manejó una temperatura inicial de 35°C a partir de la eclosión, la cual disminuyó gradualmente de manera controlada hasta los 24°C cuando alcanzaban su etapa de madurez sexual. Cada uno de los sujetos experimentales a partir del día 17 de la eclosión fue alojado en jaulas individuales, manteniendo contacto visual entre ellos. Las hembras por su parte fueron alojadas en parejas, en jaulas y cabinas aisladas de los machos. Tanto machos como hembras estuvieron expuestos a un fotoperiodo de 16:8 horas luz:oscuridad, iniciando el período de luz a las 06:00 horas, y tuvieron acceso libre a agua y comida durante todo el experimento.

Tabla 1. *Proceso general de concepción, eclosión y crianza de los sujetos experimentales. Se hacen anotaciones especiales de acuerdo con el proceso realizado para cada generación de sujetos.*

<b>Paso</b>	<b>Descripción</b>	<b>Tiempo</b>
1	Acceso copulatorio libre; un macho con dos hembras, por seis minutos diarios (a)	Durante 7 días.
2	Recolección diaria de huevos y almacenamiento (b)	Durante 10 días a partir del primer día de acceso copulatorio libre.
3	Incubación de huevos y eclosión de crías (b)	Durante 14 a 16 días, hasta su eclosión.
4	Periodo de crianza y crecimiento previos al experimento (b)	Del día 1 hasta el día 16 para la primera y segunda generación. Del día 1 hasta el día 57 para la tercera generación.
5	Sexaje y asignación de sujetos a cada grupo experimental (c)	14 días después de la eclosión.

(a) Para concebir los sujetos de la segunda y tercera generación, se mantuvo la separación de los machos progenitores según el grupo experimental al que pertenecieran y se usaron hembras específicas para cada grupo; la hembra usada en un grupo experimental no se usó en los dos grupos restantes.

(b) Para los sujetos de la segunda y tercera generación, cada uno de estos pasos se llevó a cabo conservando la separación por grupos experimentales original realizada durante la primera generación.

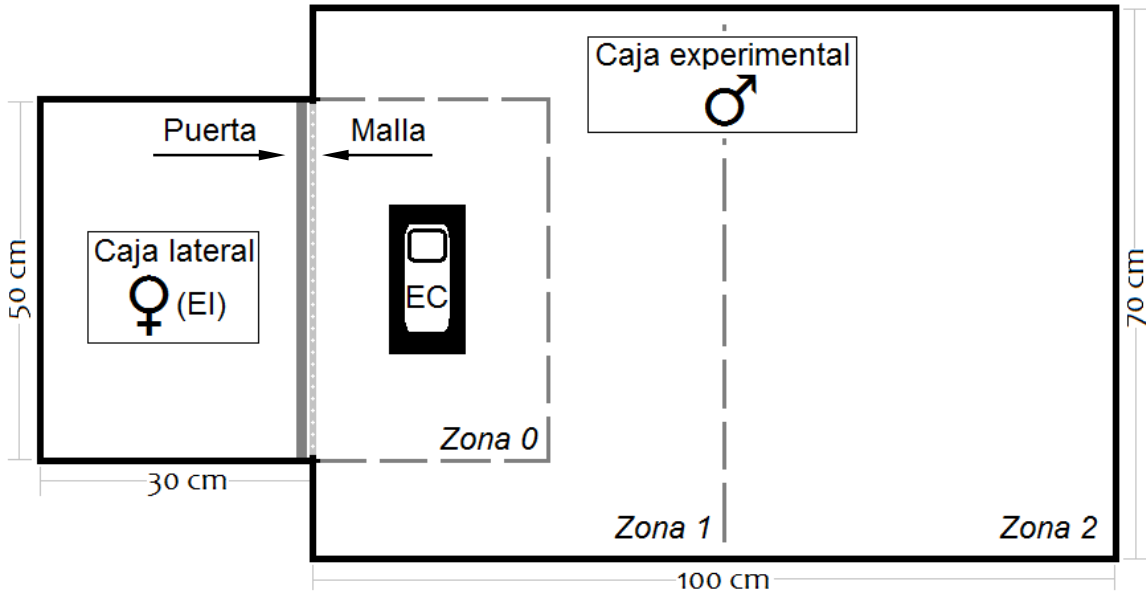
(c) Los sujetos de la segunda y tercera generación no requirieron de asignación ya que éstos estaban previamente separados según los grupos a los que pertenecieran sus progenitores.

## **Instrumento y materiales**

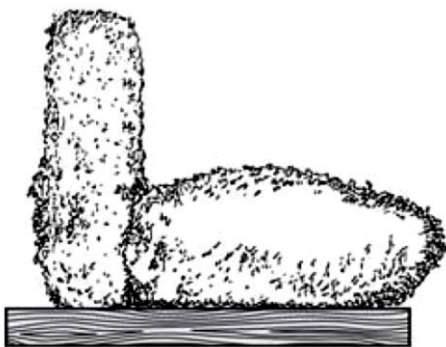
Para el experimento se usó un instrumento diseñado para realizar procedimientos de condicionamiento clásico, el cual consistía en una caja experimental dividida en tres partes (Zonas 0, 1 y 2) en la que se ubicaba al macho al inicio de cada sesión; y una caja lateral de menor tamaño donde era alojada la hembra que sería usada como estímulo incondicionado (EI). Las cajas experimental y lateral estaban conectadas por una ventana en la que había una puerta accionada por un mecanismo de polea, y durante las sesiones de exposición temprana se introducía en la ventana una rejilla que impedía el paso libre de los sujetos entre las cajas pero permitía el acceso visual. En cuanto a las divisiones de la caja experimental, la Zona 0 estaba cercana a la ventana de acceso a la caja lateral, mientras que las Zonas 1 y 2 dividían la caja experimental en dos mitades iguales. Las características del instrumento usado para este experimento son similares a las usadas comúnmente en estudios de condicionamiento clásico sexual con codornices japonesas (Gutiérrez & Domjan, 1997, 2011). Las dimensiones del instrumento se especifican en la Figura 2.

Como estímulo condicionado (EC) se usó un modelo hecho con material afelpado el cual simula la forma de una codorniz; esto con el fin de poder observar respuestas condicionadas relacionadas con el sistema de comportamiento sexual de la codorniz japonesa. La Figura 3 muestra un esquema del EC usado para el experimento.

Para la incubación de los huevos se usó una incubadora-nacedora automática, la cual permitió la regulación de la temperatura y la humedad y proporcionaba 20 volteos de huevos al día para garantizar el desarrollo adecuado de los embriones. Esta incubadora-nacedora fue elaborada y proporcionada por la granja CIEM Colombia.



*Figura 2.* Vista superior del instrumento usado durante el experimento, en la cual se indican las dimensiones principales en centímetros. En la zona central se encuentra la caja experimental en la cual fueron alojados los sujetos experimentales. A la izquierda se encuentra la caja lateral en la cual se alojaban las hembras (EI). La caja experimental fue dividida en tres áreas señaladas con líneas punteadas, a saber: zona 0 (área que rodea al EC durante su presentación), zona 1 (área próxima a la caja lateral) y zona 2 (área más alejada de la caja lateral).



*Figura 3.* Estímulo condicionado usado para el experimento, el cual sirve como señal para la oportunidad de cópula. Tomado de Cusato y Domjan (1998).

## Procedimiento

**Primera generación.** Luego del proceso de crianza de los 24 machos experimentales de la primera generación, éstos fueron separados y asignados a uno de tres grupos: grupo pareado (PA; N=8), grupo no pareado (NP; N=8) y grupo sin experiencia (SE; N=8). Esta separación se realizó para ver el efecto diferencial de la exposición pareada de estímulos (grupo PA), de la exposición no pareada (grupo NP) y la no exposición a estímulos (grupo SE) en edades tempranas, antes del inicio de la maduración sexual.

**Habitación al instrumento.** Del día 17 al día 20 de nacimiento, los sujetos fueron expuestos grupalmente durante 60 minutos a la caja experimental del instrumento, con el fin de permitir el paso libre de los sujetos por todas las zonas y evitar una posible neofobia al instrumento. Los días 21 y 22 los sujetos fueron expuestos a la caja durante 60 minutos de manera individual. Las sesiones de habituación grupal y luego individual al instrumento también se llevaron a cabo para evitar generar algún tipo de condicionamiento aversivo producto del aislamiento social repentino, el cual tiende a generar estrés en sujetos de corta edad (Launay, Mills, & Faure, 1991).

**Exposición temprana.** Del día 23 al día 30 (ocho días), los sujetos fueron sometidos a procedimientos diferenciales de acuerdo con el grupo al que fueron asignados. Los sujetos del grupo PA fueron expuestos a ocho sesiones diarias de aproximadamente 56 minutos cada sesión, durante las cuales recibieron tres ensayos de presentación pareada de estímulos (EC-EI). Cada sujeto ingresaba a la caja experimental con las puertas y la ventana cerradas; después de 10 minutos de permanencia en la caja se presentaba el primer ensayo de exposición a los estímulos, el cual consistía en la presentación del EC durante 30 segundos, ingresando por la parte superior de la caja hacia la parte media de la Zona 0 por medio de un sistema de polea; luego de los 30 segundos del EC éste se retiraba y enseguida se abría la ventana de la caja lateral para permitir acceso visual al EI (hembra en estado de oviposición)



durante 5 minutos, al final de los cuales se cerraba la ventana. Este procedimiento se repitió dos veces más durante la sesión, con un intervalo de 10 minutos entre ensayo y ensayo. Al final del tercer ensayo el sujeto experimental permaneció durante otros 10 minutos en la caja experimental, luego de los cuales era retirado y devuelto a su jaula de habitación.

Los sujetos del grupo NP fueron expuestos a ocho sesiones diarias de entre 48 y 115 minutos por cada sesión aproximadamente, durante las cuales recibieron seis presentaciones del EC ó del EI. Cada sujeto ingresaba a la caja experimental con las puertas y la ventana cerradas; después de 10 minutos de permanencia en la caja se hacían seis presentaciones solo de uno de los dos estímulos; si un sujeto del grupo NP recibía presentaciones solo del EI en la primera sesión, éstas consistían en seis presentaciones del EI (acceso visual) durante 5 minutos cada una, con intervalos variables de tiempo (intervalos de 5 minutos en promedio) entre presentaciones; al siguiente día ese mismo sujeto recibía el mismo procedimiento, pero en este caso recibía seis presentaciones del EC durante 30 segundos cada una. Al final de las seis presentaciones del estímulo el sujeto experimental permaneció durante otros 10 minutos en la caja experimental, luego de los cuales era retirado y devuelto a su jaula de habitación. Se alternó diariamente la presentación del EC y el EI y se balanceó el orden de la presentación entre los sujetos del grupo: cuatro sujetos iniciaban en la primera sesión con EC y los otros cuatro sujetos iniciaban con EI.

Los sujetos del grupo SE únicamente fueron expuestos a la caja experimental, durante el mismo tiempo que permanecieron los sujetos del grupo PA dentro del instrumento (aproximadamente 56 minutos por cada sesión). Al final de cada sesión los sujetos eran retirados y devueltos a sus respectivas jaulas de habitación.

Este procedimiento de exposición temprana diferencial a los estímulos ha sido usado previamente en el estudio de Arbaiza (2013) con el fin de determinar si la presentación pareada, o si la sola presentación de los estímulos, generaría efectos en el comportamiento

sexual adulto de la codorniz macho, comparado con sujetos que no hubieran tenido tal exposición temprana. En este estudio se continúa con el uso de este procedimiento para que haya una coherencia metodológica en relación con los fenómenos de desarrollo temprano previamente estudiados en esta especie.

**Prueba de aprendizaje.** Del día 60 al día 65 (seis días), los sujetos de los tres grupos recibieron el mismo procedimiento de prueba. En esta fase se llevó a cabo el procedimiento realizado con los sujetos del grupo PA durante la fase de exposición temprana (tres ensayos diarios de presentación pareada EC-EI, con intervalos de 10 minutos entre ensayos), excepto que la presentación del EI se hizo sin restricciones de barrera, permitiéndoles a los sujetos experimentales la oportunidad de tener acceso sexual a la hembra. Esta fase de prueba permite ver el efecto de la presentación diferencial de los estímulos ocurrida durante la fase inmediatamente anterior (Arbaiza, 2013).

**Segunda generación.** Después del experimento, los sujetos de la primera generación tuvieron acceso libre a nuevas hembras en oviposición por 6 minutos durante siete días consecutivos. Para esto se conservó la separación por grupos (PA, NP, SE) y por ende cada grupo de sujetos experimentales fue expuesto a hembras específicas; las hembras expuestas a un grupo de sujetos no fueron usadas con ninguno de los otros dos grupos. Esto se hizo así para que los sujetos de la segunda generación conservaran dicha separación, y con ello poder poner a prueba la hipótesis de trabajo del experimento, o sea, la ocurrencia de un efecto transgeneracional producto de la presentación temprana de estímulos en generaciones inmediatamente anteriores.

De los huevos fertilizados, recolectados e incubados con los sujetos de la primera generación, se generó una segunda generación de la que se usaron 24 machos como sujetos experimentales, ocho sujetos por cada uno de los grupos definidos en la primera generación. Estos sujetos recibieron exactamente el mismo procedimiento (habitación al instrumento,

exposición temprana, prueba de aprendizaje) llevado a cabo con los sujetos de la primera generación. Ello obedece a la idea de que los fenómenos de herencia epigenética dependientes del contexto persisten siempre y cuando siga estando presente la variable ambiental que propicia los cambios fenotípicos (Burggren & Crews, 2014).

**Tercera generación.** Después del experimento, los sujetos de la segunda generación tuvieron acceso libre a nuevas hembras en oviposición por 6 minutos durante siete días consecutivos. Para esto se conservó la separación por grupos (PA, NP, SE) y por ende cada grupo de sujetos experimentales fue expuesto a hembras específicas; las hembras expuestas a un grupo de sujetos no fueron usadas con ninguno de los otros dos grupos.

De los huevos fertilizados, recolectados e incubados con los sujetos de la segunda generación, se generó una tercera generación de la que se usaron 24 machos como sujetos experimentales, ocho sujetos por cada uno de los grupos definidos en la primera y segunda generación. A diferencia de las dos generaciones precedentes, los sujetos de la tercera generación fueron expuestos únicamente a la fase de prueba de aprendizaje, del día 60 al día 67 de nacimiento (ocho días); durante los dos días previos a esta fase (días 58 y 59) los sujetos fueron expuestos a la caja experimental durante 60 minutos de manera individual, con el fin de permitir el paso libre de los sujetos por todas las zonas y evitar una posible neofobia al instrumento.

Para las tres generaciones, los sujetos fueron videograbados durante las fases de exposición temprana y de prueba de aprendizaje, y los videos fueron registrados usando el software de acceso libre X-Plo-Rat versión 2005 1.1.0 (Cárdenas, Lamprea, & Morato, 2001). Además, a partir del día 33 de vida y hasta la finalización del experimento, se realizaron mediciones interdiarias de la glándula proctodeal. El cambio en el tamaño de la glándula proctodeal es un indicador de la maduración sexual del macho de codorniz japonesa y también es un indicador indirecto de desarrollo hormonal sexual (Annicchiarico, Gutiérrez,

Ortega, & Barragán, 2009). Para este experimento se tomó la medida del área de la glándula proctodeal (ancho\*altura) a partir del día 33, dado que a partir de este día los sujetos comenzaron a desarrollar esta estructura; las mediciones se realizaron hasta el día 65. La Tabla 2 ilustra de manera resumida todas las fases del experimento, para cada una de las generaciones de sujetos.

### **Análisis de datos**

Para realizar la descripción de los datos, se emplearon estadísticos de tendencia central (media) y de variabilidad (error típico). Además se emplearon análisis de prueba de hipótesis con el fin de evaluar cada uno de los objetivos del presente estudio; para ello se utilizaron pruebas no paramétricas de diferencia de medias (U de Mann-Whitney para muestras independientes, Wilcoxon para muestras relacionadas), debido a que los datos del estudio no superan las pruebas de normalidad y homocedasticidad, por el tamaño de la muestra. Para todas las pruebas de hipótesis se aceptó un valor *alfa* de 0.05. Para calcular el tamaño del efecto a lo largo de las pruebas de hipótesis usadas, se empleó la prueba *d* de Cohen.

### **Aspectos éticos**

El presente trabajo se adhiere a los lineamientos locales en relación con el uso de especies animales no humanas vivas, según lo indicado en el artículo 2do de la ley 1090 del año 2006, en el capítulo VI de la ley 84 de 1989, y en el artículo 3ro de la ley 1774 del 2016. Se garantizaron todas las condiciones de mantenimiento, vivienda, salud y cuidado para los sujetos usados en el presente estudio, y las personas que participaron en el mismo contaron con las respectivas capacitaciones en manejo y cuidado de especies animales en condiciones de laboratorio.

Tabla 2. *Diseño general del experimento.*

<i>Generación 1</i>				
Nacimiento y crianza	Grupos	Fases del experimento		
		Habitación (del día 17 al día 22)	Exposición temprana (del día 23 al día 30)	Prueba de aprendizaje (del día 60 al día 65)
- 7 días de acceso copulatorio libre - Almacenamiento de huevos fertilizados por 10 días - Incubación durante 14-16 días - Crianza durante 16 días y separación de sujetos en tres grupos	PA*	Exposición durante una hora diaria a la caja experimental (cuatro días en grupo; dos días de manera individual)	24 ensayos pareados EC-EI visual (tres ensayos diarios)	18 ensayos pareados EC-EI copulatorio (tres ensayos diarios)
	NP**		24 presentaciones no pareadas de los estímulos (seis presentaciones diarias de EC solo, o de EI solo)	
	SE***		Únicamente exposición a la caja experimental	
<i>Generación 2</i>				
Nacimiento y crianza	Grupos	Fases del experimento		
		Habitación (del día 17 al día 22)	Exposición temprana (del día 23 al día 30)	Prueba de aprendizaje (del día 60 al día 65)
Igual que la Generación 1. (a)	PA NP SE		Igual que la Generación 1.	
<i>Generación 3</i>				
Nacimiento y crianza	Grupos	Fases del experimento		
		Habitación (días 58 y 59)	Prueba de aprendizaje (del día 60 al día 67)	
Igual que las Generaciones 1 y 2, excepto que el periodo de crianza ocurrió hasta el día 57. (a)	PA NP SE	Exposición durante una hora diaria a la caja experimental, de manera individual.	24 ensayos pareados EC-EI copulatorio (tres ensayos diarios)	

(a) Los sujetos fueron concebidos y criados de manera separada, de acuerdo con el grupo experimental al cual pertenecieran sus progenitores (PA, NP, SE).

\* Grupo Pareado

\*\* Grupo No Pareado

\*\*\* Grupo Sin Experiencia

## Resultados

### Intrageneracionales

En primer lugar se presentan los resultados de las mediciones al interior de cada una de las generaciones de sujetos experimentales. Esto con el objetivo de comprobar el efecto de la presentación temprana diferencial de estímulos (presentación previa al inicio de la maduración sexual en machos) sobre las respuestas sexuales condicionadas de los sujetos en estado adulto.

#### Generación 1.

*Diferencias entre grupos, fase de prueba (EC).* A partir del día 60 de vida de los sujetos experimentales, todos fueron sometidos al mismo procedimiento de condicionamiento clásico sexual, explícitamente pareado, con el fin de observar respuestas diferenciales entre los grupos Pareado (PA), No Pareado (NP) y Sin Experiencia (SE), de acuerdo con el tipo de presentación de estímulos recibido durante la fase de exposición temprana. Los resultados muestran que los sujetos del grupo PA permanecieron en la Zona 0 (zona en la cual se ubicaba el estímulo condicionado) durante más tiempo cuando se presentaba el estímulo condicionado, en comparación con los tiempos de los sujetos NP y SE. La Figura 4 muestra el tiempo promedio de duración de los sujetos de cada grupo dentro de la Zona 0, durante los 18 ensayos de condicionamiento; los sujetos del grupo PA duraron en promedio 4.067 segundos ( $ET = .627$ ) dentro de la Zona 0, los sujetos del grupo NP duraron en promedio 1.252 segundos ( $ET = .332$ ) y los sujetos del grupo SE duraron en promedio 1.730 segundos ( $ET = .378$ ). Se usó la prueba U de Mann-Whitney para comparar los tiempos de permanencia de los sujetos en la Zona 0, debido a que los datos no presentan una distribución normal. La prueba muestra que existen diferencias significativas de las duraciones mostradas por los sujetos del grupo PA en comparación con las duraciones del grupo NP ( $Z = -3.082$ ,  $p = .002$ ) y en comparación con las duraciones del grupo SE ( $Z = -3.357$ ,  $p = .001$ ); por otra

parte no se presentan diferencias en las duraciones entre los grupos NP y SE ( $Z = -.520$ ,  $p = .603$ ).

Usando la prueba  $d$  de Cohen para evaluar el tamaño del efecto entre los grupos se observan los siguientes resultados: un tamaño de efecto intermedio entre los grupos PA y NP ( $d = .47$ ), el cual disminuye cuando se comparan los grupos PA y SE ( $d = .38$ ), y se hace menor entre los grupos NP y SE ( $d = -.11$ ).

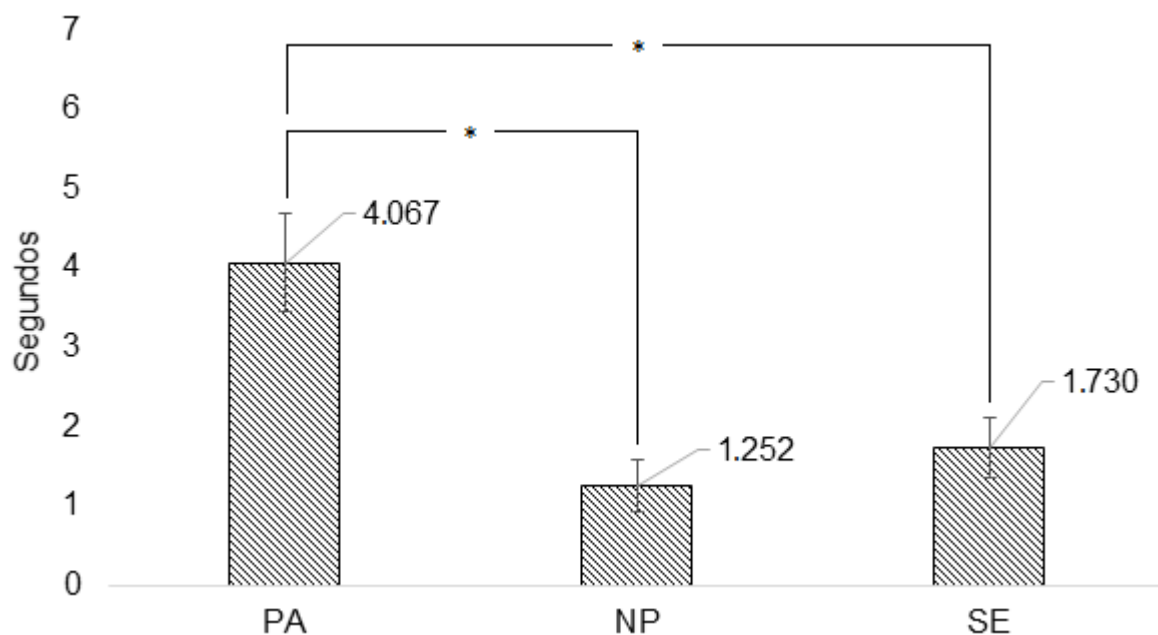


Figura 4. Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, para los sujetos experimentales de la generación 1, durante la fase de prueba.

Al observar los datos de tiempo de permanencia en la Zona 0 sesión a sesión se puede ver un aumento progresivo mucho más notorio para el caso de los sujetos del grupo PA, en relación con los otros dos grupos (Figura 5). Un análisis de los datos por sesiones indica que, a partir de la sesión 2, los sujetos del grupo PA comienzan a permanecer durante más tiempo en la Zona 0 con respecto de los tiempos de permanencia de los sujetos de los grupos NP y SE. Sin embargo, estas diferencias no son significativas para todas las sesiones. En la Tabla 3

se presenta un análisis sesión a sesión de los tiempos de permanencia; la prueba U de Mann-Whitney indica que solo se presentan diferencias significativas durante la sesión 2 entre los grupos PA y NP, así como entre los grupos PA y SE.

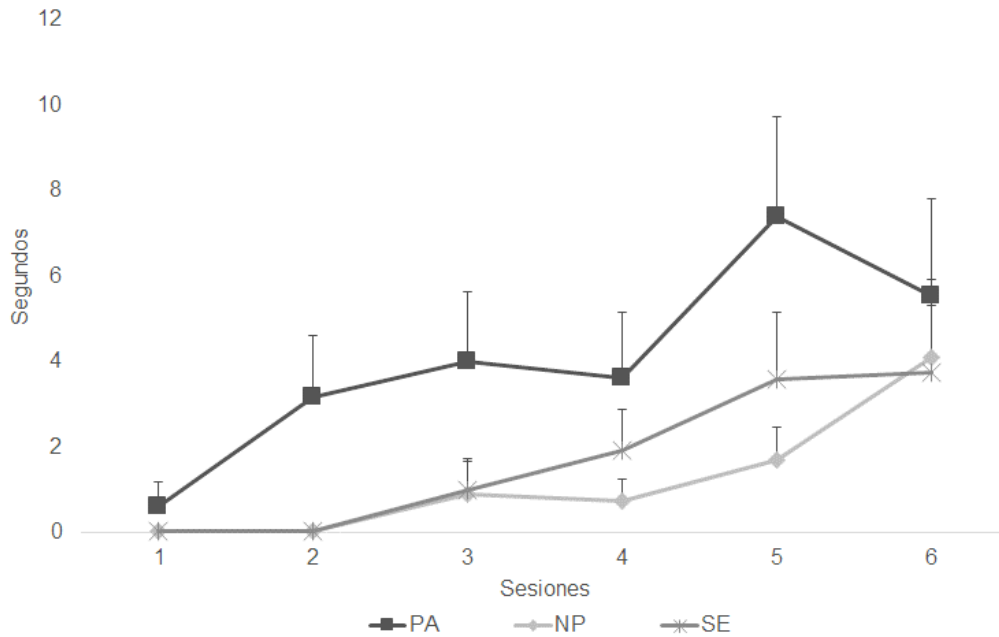


Figura 5. Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, por sesiones, para los sujetos experimentales de la Generación 1, durante la fase de prueba.

Tabla 3. Comparación por sesiones del tiempo de permanencia en la Zona 0 durante la fase de prueba, entre los grupos experimentales de la Generación 1.

Sesión	Generación 1					
	PA - NP		PA - SE		NP - SE	
	Z	p	Z	p	Z	p
1	-.933	.350	-.933	.350	-.043	.965
2	<b>-2.366</b>	<b>.017</b>	<b>-1.968</b>	<b>.049</b>	-.540	.588
3	-1.599	.109	-1.545	.122	-.063	.949
4	-1.945	.051	-1.751	.079	-.052	.957
5	-1.742	.081	-1.738	.082	-.036	.970
6	-.272	.784	-.410	.681	-.759	.447

\* Nivel de significancia a partir de .05



*Diferencias entre fase de exposición temprana y de prueba copulatoria (EC).* Cabe recordar que durante la fase de exposición temprana cada uno de los grupos recibió un tratamiento distinto. El grupo PA recibió presentaciones pareadas de los estímulos EC-EI, el grupo NP recibió presentaciones no pareadas del EC y el EI en diferentes momentos de tiempo, y por último el grupo SE no tuvo exposición alguna a los estímulos. En relación con la comparación en las respuestas de permanencia en la Zona 0 para los grupos PA y NP durante la presentación del EC en edad temprana, todos los sujetos mostraron tiempos de permanencia muy bajos, casi nulos, excepto por un sujeto del grupo PA (identificado como S61), el cual altera el análisis de los datos. Al comparar los tiempos de permanencia de todos los sujetos –incluyendo el sujeto S61– en la Zona 0 durante la presentación del EC se observan diferencias a favor del grupo PA ( $Z = -3.396$ ,  $p = .001$ ); no obstante, al retirar únicamente los datos del sujeto S61 del análisis, dejan de presentarse diferencias entre los dos grupos ( $Z = -.047$ ,  $p = .963$ ). Haciendo una revisión en detalle del sujeto S61 se observa que permanece en la Zona 0 desde la primera sesión de ensayos, mostrando tiempos altos aunque irregulares de duración en zona, los cuales inclusive decaen hacia el final de esta fase de exposición temprana.

Al hacer un análisis intragrupo entre fases se observan diferencias tanto para el grupo PA como para el grupo NP. Al comparar las seis últimas sesiones de la fase de exposición temprana con las sesiones de la fase de prueba copulatoria, los tiempos promedio de permanencia en la Zona 0 durante la presentación del EC son claramente mayores para todos los sujetos, en ambos grupos, durante la fase de prueba en comparación con la fase de exposición temprana (ver Figuras 6a y 6b) y también se evidencian diferencias en las curvas de respuesta a lo largo de las sesiones, mostrándose curvas más aceleradas durante la fase de prueba (ver Figuras 7a y 7b). Se usó la prueba de rangos de Wilcoxon para comparar los tiempos de permanencia de los sujetos en la Zona 0, entre las fases de exposición temprana y

de prueba copulatoria; la prueba muestra que existen diferencias significativas en las duraciones tanto al interior del grupo PA ( $Z = -4.589, p = .000$ ) como al interior del grupo NP ( $Z = -5.025, p = .000$ ).

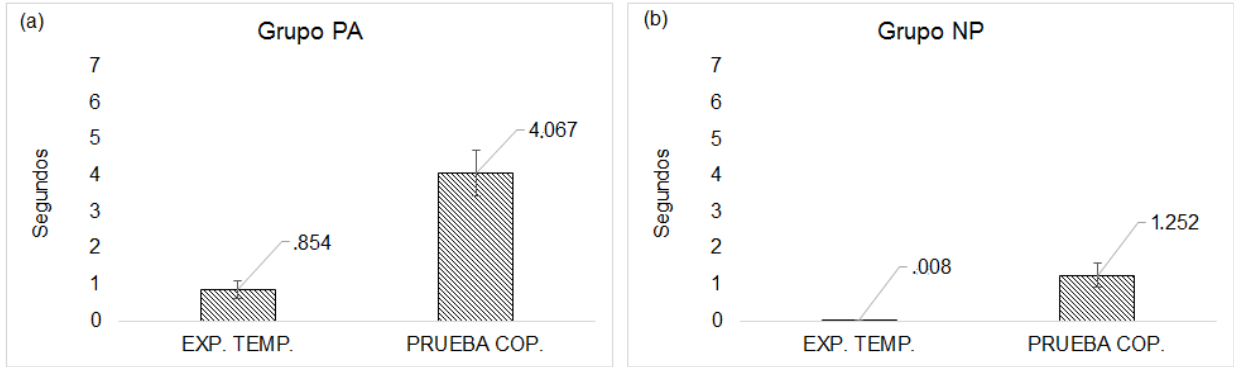


Figura 6. Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, para los sujetos experimentales de la Generación 1, al interior de los grupos PA (a) y NP (b); se hace la comparación entre la fase de exposición temprana y la fase de prueba copulatoria dentro de cada grupo.

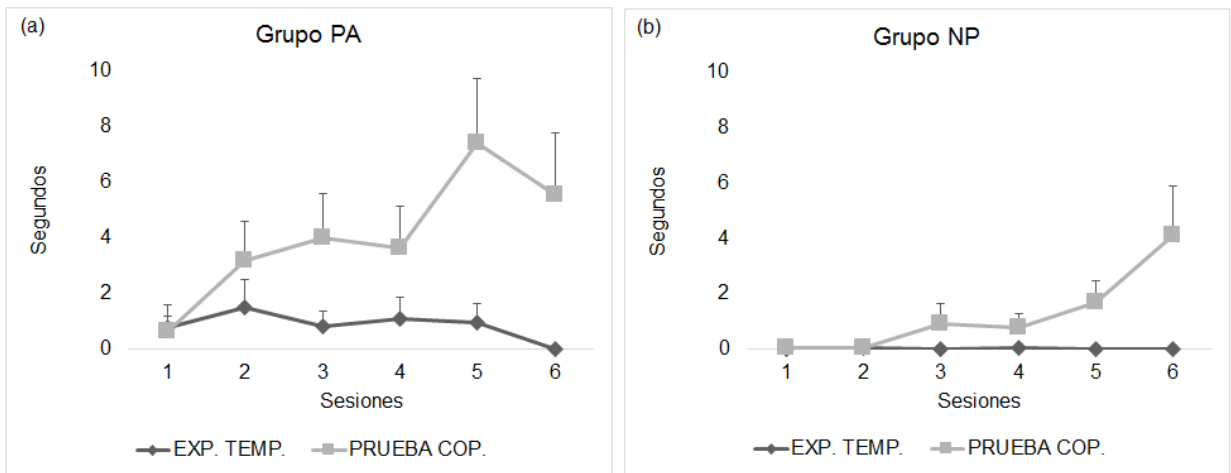


Figura 7. Duración media (+ error estándar) en la Zona 0 discriminada por sesiones, para los sujetos experimentales de la Generación 1, al interior de los grupos PA (a) y NP (b); se hace la comparación entre la fase de exposición temprana y la fase de prueba copulatoria dentro de cada grupo.

## Generación 2.

*Diferencias entre grupos, fase de prueba (EC).* Al igual que los sujetos de la Generación 1, a partir del día 60 de vida todos los sujetos de la Generación 2 fueron sometidos al mismo procedimiento de condicionamiento clásico sexual, explícitamente pareado, con el fin de observar respuestas diferenciales entre los grupos Pareado (PA), No Pareado (NP) y Sin Experiencia (SE). Los resultados muestran que, al igual que en la generación antecesora, los sujetos del grupo PA permanecieron en la Zona 0 durante más tiempo cuando se presentaba el estímulo condicionado, en comparación con los tiempos de los sujetos NP y SE. La Figura 8 muestra el tiempo promedio de duración de los sujetos de cada grupo dentro de la Zona 0, durante los 18 ensayos de condicionamiento; los sujetos del grupo PA duraron en promedio 5.703 segundos ( $ET = .677$ ) dentro de la Zona 0, los sujetos del grupo NP duraron en promedio 2.093 segundos ( $ET = .411$ ) y los sujetos del grupo SE duraron en promedio 1.376 segundos ( $ET = .350$ ). Se usó la prueba U de Mann-Whitney para comparar los tiempos de permanencia de los sujetos en la Zona 0, debido a que los datos no presentan una distribución normal. La prueba muestra que existen diferencias significativas de las duraciones en los sujetos del grupo PA en comparación con las duraciones del grupo NP ( $Z = -4.550$ ,  $p = .000$ ) y en comparación con las duraciones del grupo SE ( $Z = -5.300$ ,  $p = .000$ ). Por otra parte, no se presentan diferencias en las duraciones entre los grupos NP y SE ( $Z = -.676$ ,  $p = .499$ ).

Usando la prueba  $d$  de Cohen para evaluar el tamaño del efecto entre los grupos se observan los siguientes resultados: un tamaño de efecto intermedio entre los grupos PA y NP ( $d = .54$ ), el cual aumenta cuando se comparan los grupos PA y SE ( $d = .67$ ), mientras que el efecto es pequeño al comparar los grupos NP y SE ( $d = .16$ ).

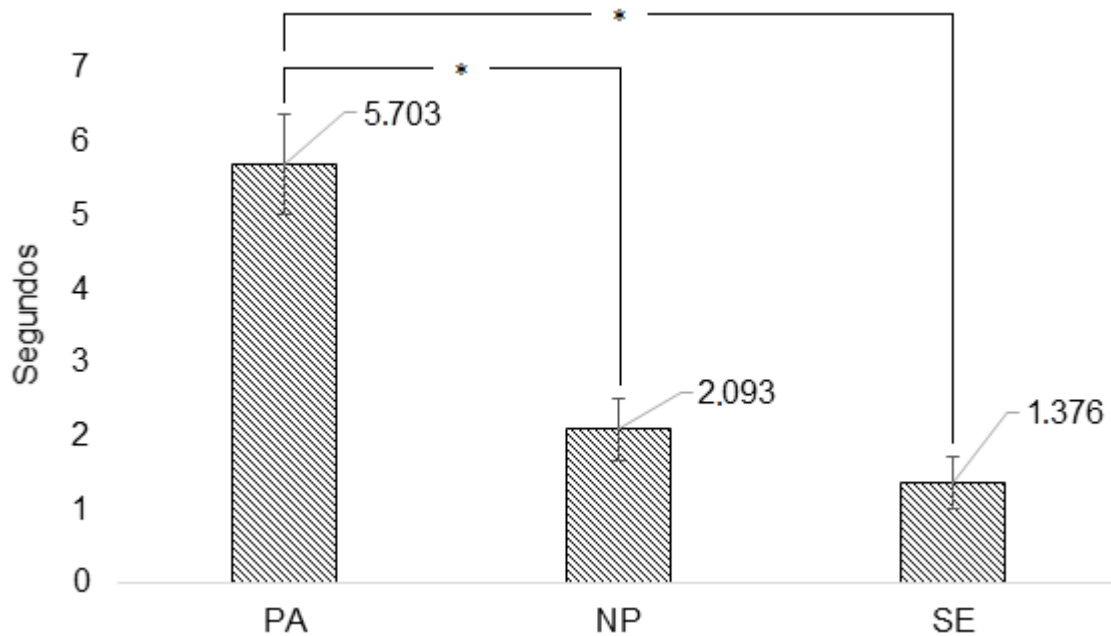


Figura 8. Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, para los sujetos experimentales de la generación 2, durante la fase de prueba.

Al observar los datos de tiempo de permanencia en la Zona 0 sesión a sesión se puede ver un aumento progresivo mucho mayor para el caso de los sujetos del grupo PA, en relación con los grupos NP y SE (Figura 9); inclusive este aumento es mucho mayor al mostrado por el mismo grupo de la Generación 1. Un análisis de los datos por sesiones indica que, a diferencia de lo ocurrido en la Generación 1, existe una diferencia mayor en los tiempos de permanencia en la Zona 0 para el caso del grupo PA en comparación con los grupos NP y SE, la cual se mantiene por varias sesiones. En la Tabla 4 se muestran las diferencias en los tiempos por cada sesión, usando la prueba U de Mann-Whitney; entre los grupos PA y NP se observan diferencias significativas en las sesiones 2, 3, 4 y 5, mientras que entre los grupos PA y SE se observan diferencias significativas a lo largo de las sesiones 3, 4 y 5, y finalmente entre los grupos NP y SE no se observan diferencias entre las sesiones.

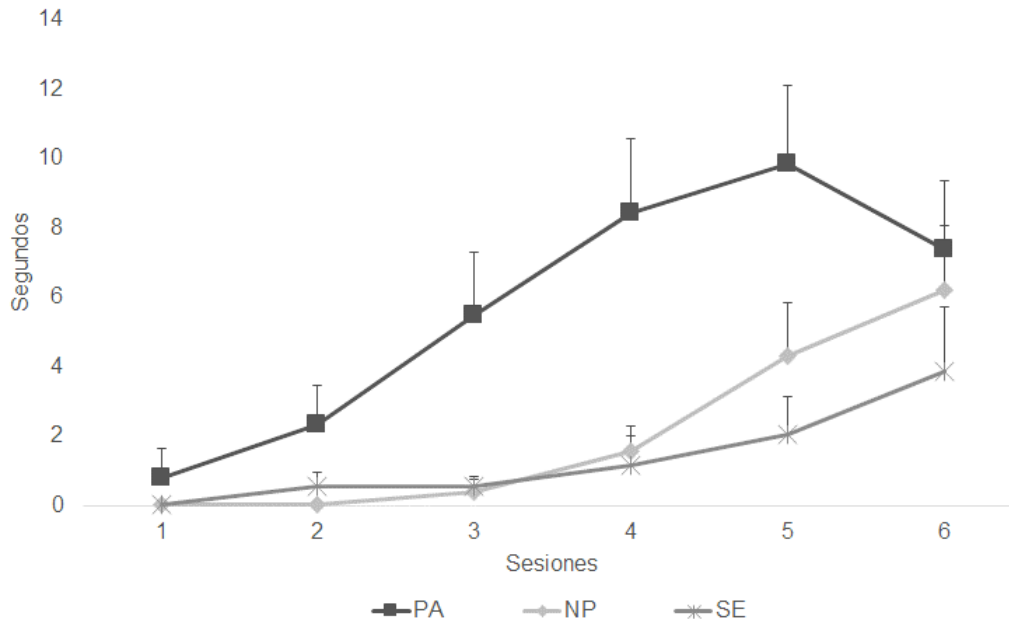


Figura 9. Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, por sesiones, para los sujetos experimentales de la Generación 2, durante la fase de prueba.

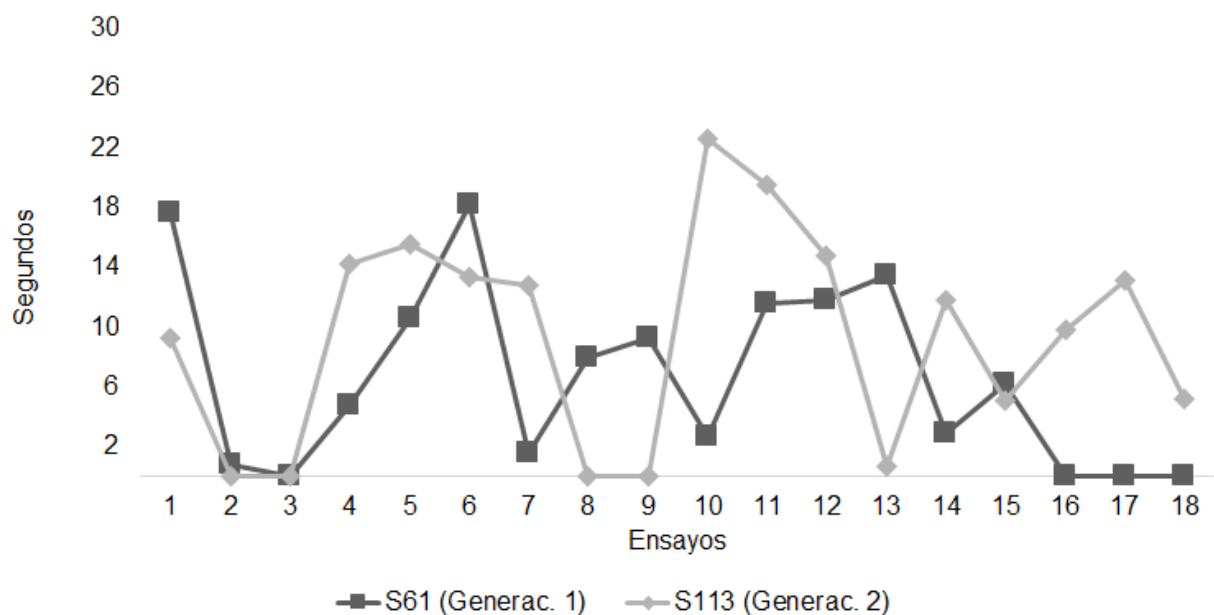
Tabla 4. Comparación por sesiones del tiempo de permanencia en la Zona 0 durante la fase de prueba, entre los grupos experimentales de la Generación 2.

Sesión	Generación 2					
	PA - NP		PA - SE		NP - SE	
	Z	p	Z	p	Z	p
1	-.639	.523	-.350	.726	-1.010	.312
2	<b>-2.874</b>	<b>.004</b>	-1.524	.128	-1.588	.112
3	<b>-2.372</b>	<b>.018</b>	<b>-2.484</b>	<b>.013</b>	-.181	.855
4	<b>-3.103</b>	<b>.002</b>	<b>-3.653</b>	<b>.000</b>	-0.948	.342
5	<b>-2.235</b>	<b>.025</b>	<b>-3.409</b>	<b>.001</b>	-1.363	.172
6	-.554	.580	-1.862	.063	-0.743	.457

\* Nivel de significancia a partir de .05

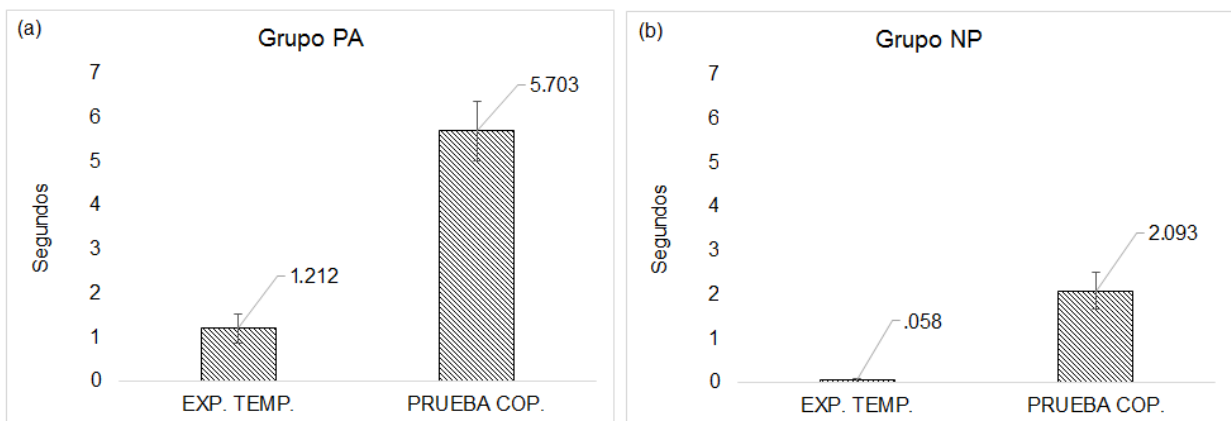
*Diferencias entre fase de exposición temprana y de prueba copulatoria (EC).* Al igual que ocurrió en la Generación 1, los grupos PA, NP y SE recibieron tratamientos distintos en cuanto a la presentación de los estímulos. En relación con la comparación en las respuestas de permanencia en la Zona 0 para los grupos PA y NP durante la presentación del

EC en edad temprana, todos los sujetos mostraron tiempos de permanencia muy bajos, casi nulos, excepto por un sujeto del grupo PA (identificado como S113), el cual altera el análisis de los datos. Al comparar los tiempos de permanencia de todos los sujetos –incluyendo el sujeto S113– en la Zona 0 durante la presentación del EC se observan diferencias a favor del grupo PA ( $Z = -2.020$ ,  $p = .043$ ); no obstante, al retirar únicamente los datos del sujeto S113 del análisis, dejan de presentarse diferencias entre los dos grupos ( $Z = -.722$ ,  $p = .470$ ). Al igual que ocurrió con el caso atípico de la Generación 1 (sujeto S61), el sujeto S113 también muestra un patrón muy irregular sin que muestre algún tipo de tendencia. En la Figura 10 se muestra un comparativo de los tiempos de permanencia en la Zona 0 durante la fase de exposición temprana, entre el sujeto S61 (que hacía parte del grupo PA en la Generación 1) y el sujeto S113 (que hacía parte del grupo PA en la Generación 2).

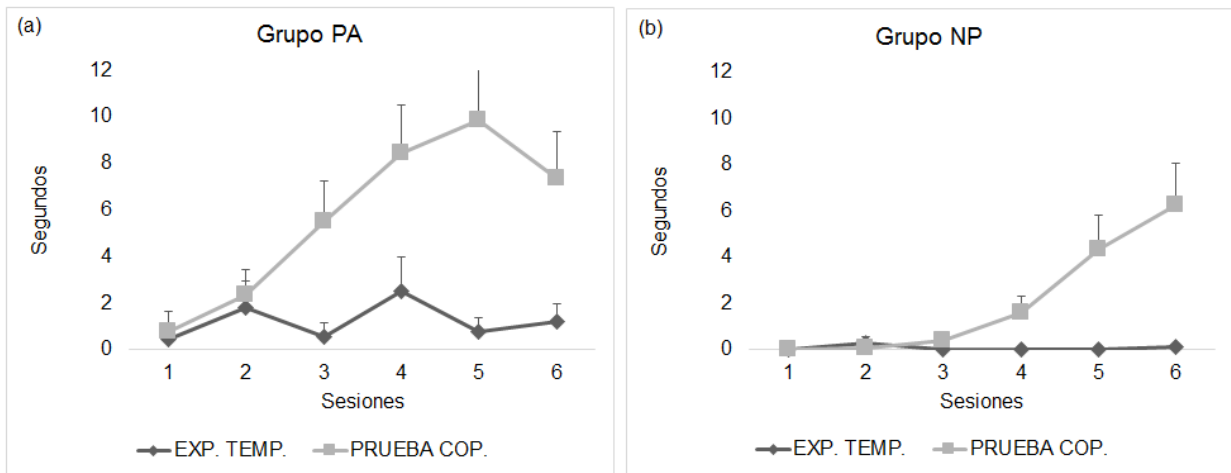


*Figura 10.* Duración neta de los sujetos S61 (Generación 1) y S113 (Generación 2) en la Zona 0, a lo largo de los ensayos durante la fase de exposición temprana.

Al hacer un análisis intragrupo entre fases se observan diferencias tanto para el grupo PA como para el grupo NP. Al comparar las seis últimas sesiones de la fase de exposición temprana con las sesiones de la fase de prueba copulatoria, tal y como ocurrió con los sujetos de la Generación 1, los tiempos promedio de permanencia en la Zona 0 durante la presentación del EC son claramente mayores para todos los sujetos, en ambos grupos, durante la fase de prueba en comparación con la fase de exposición temprana (ver Figuras 11a y 11b) y también se evidencian diferencias en las curvas de respuesta a lo largo de las sesiones, mostrándose curvas más aceleradas durante la fase de prueba (ver Figuras 12a y 12b). Se usó la prueba de rangos de Wilcoxon para comparar los tiempos de permanencia de los sujetos en la Zona 0, entre las fases de exposición temprana y de prueba copulatoria; la prueba muestra que existen diferencias significativas en las duraciones tanto al interior del grupo PA ( $Z = -6.595, p = .000$ ) como al interior del grupo NP ( $Z = -5.373, p = .000$ ).



*Figura 11.* Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, para los sujetos experimentales de la Generación 2, al interior de los grupos PA (a) y NP (b); se hace la comparación entre la fase de exposición temprana y la fase de prueba copulatoria dentro de cada grupo.



*Figura 12.* Duración media (+ error estándar) en la Zona 0 discriminada por sesiones, para los sujetos experimentales de la Generación 2, al interior de los grupos PA (a) y NP (b); se hace la comparación entre la fase de exposición temprana y la fase de prueba copulatoria dentro de cada grupo.

### Transgeneracionales

A continuación, se presentan los resultados de las mediciones entre generaciones, con el fin de comparar el efecto de la presentación diferencial de estímulos durante etapas tempranas del desarrollo de los sujetos. En primer lugar, se presentan los datos obtenidos con los sujetos de la Generación 3 los cuales, a diferencia de los sujetos de las dos generaciones anteriores, no tuvieron una fase de exposición temprana a estímulos; esto con el objetivo de ver si se presentaron diferencias en el desempeño de los grupos atribuibles a un efecto transgeneracional acumulativo. En segundo lugar, se hará una comparación de los datos obtenidos con las generaciones 1 y 2, con el objetivo de ver si ocurrieron diferencias en el desempeño de los sujetos de la Generación 2, en comparación con el desempeño de los sujetos de la Generación 1.

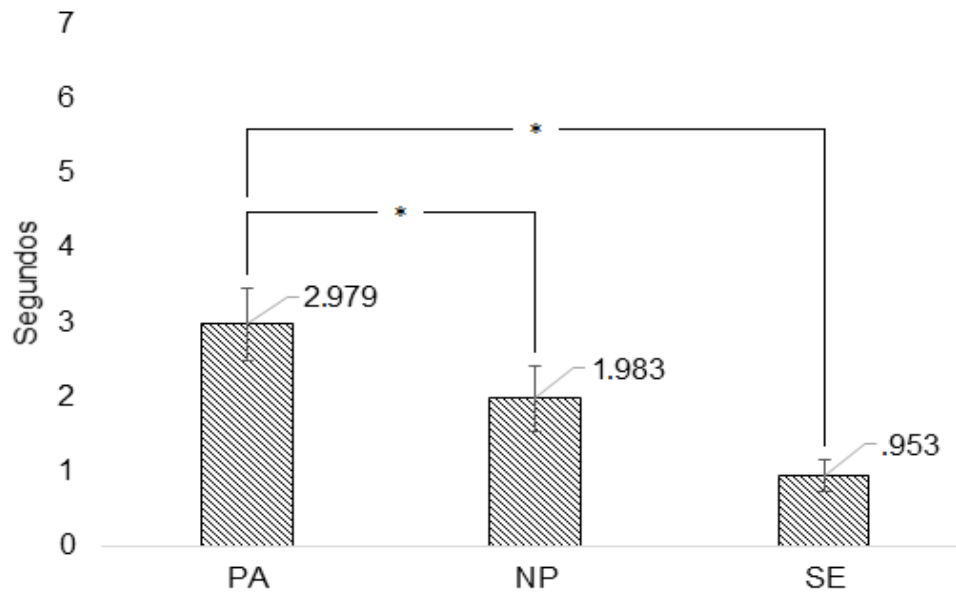


### Generación 3.

*Diferencias entre grupos, fase de prueba (EC).* A diferencia de las dos generaciones anteriores, los sujetos de la Generación 3 pasaron directamente a la fase de prueba al día 60 de vida, sin haber sido expuestos a los estímulos durante su desarrollo temprano. Los sujetos de la Generación 3 fueron sometidos al mismo procedimiento de condicionamiento clásico sexual, explícitamente pareado, con el fin de observar respuestas diferenciales entre los grupos. Los resultados indican que, si bien ninguno de estos sujetos recibió algún tratamiento diferencial durante su desarrollo ontogenético, se presentan diferencias en los tiempos de permanencia en la Zona 0 durante la presentación del EC. Los sujetos del grupo PA mostraron mayores tiempos de permanencia en la Zona 0, de nuevo, en comparación con los sujetos de los grupos NP y SE. La Figura 13 muestra el tiempo promedio de duración de los sujetos de cada grupo dentro de la Zona 0, durante los 24 ensayos de condicionamiento de la fase de prueba; los sujetos del grupo PA duraron en promedio 2.979 segundos ( $ET = .479$ ) dentro de la Zona 0, los sujetos del grupo NP duraron en promedio 1.983 segundos ( $ET = .442$ ) y los sujetos del grupo SE duraron en promedio 0.953 segundos ( $ET = .211$ ). Se usó la prueba U de Mann-Whitney para comparar los tiempos de permanencia de los sujetos en la Zona 0, debido a que los datos no presentan una distribución normal. La prueba muestra que existen diferencias significativas de las duraciones mostradas por los sujetos del grupo PA en comparación con las duraciones del grupo NP ( $Z = -3.339$ ,  $p = .001$ ) y en comparación con las duraciones del grupo SE ( $Z = -3.501$ ,  $p = .000$ ); por otra parte no se presentan diferencias en las duraciones entre los grupos NP y SE ( $Z = -.051$ ,  $p = .960$ ).

Usando la prueba  $d$  de Cohen para evaluar el tamaño del efecto entre los grupos se observan los siguientes resultados: un tamaño de efecto pequeño entre los grupos PA y NP ( $d = .16$ ), se hace mucho mayor pero sigue siendo un tamaño de efecto pequeño cuando se comparan los grupos PA y SE ( $d = .40$ ), y el efecto también es pequeño al comparar los

grupos NP y SE ( $d = .21$ ).



*Figura 13.* Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, para los sujetos experimentales de la generación 3, durante la fase de prueba (único tratamiento recibido por los sujetos de esta generación).

A diferencia de lo ocurrido en las generaciones anteriores, no se observa una separación tan notoria en la progresión de tiempos de permanencia en la Zona 0 entre los tres grupos (Figura 14); no obstante, en algunas sesiones sí se presentan diferencias, por ejemplo a partir de la sesión 2 se observan tiempos más altos en el grupo PA con respecto de los otros dos grupos, y en las últimas sesiones se observan tiempos más altos en el grupo PA con respecto del grupo SE. Un análisis de los datos por sesiones muestra que las diferencias de tiempo de permanencia en la Zona 0 durante cada sesión son más notorias entre los grupos PA y SE que entre los grupos PA y NP. En la Tabla 5 se muestran las diferencias en los tiempos por cada sesión entre los grupos, usando la prueba U de Mann-Whitney; entre los grupos PA y NP se observan diferencias significativas a lo largo de las sesiones 1 y 2, mientras que entre los grupos PA y SE se observan diferencias significativas a lo largo de las

sesiones 2, 5 y 6, y finalmente entre los grupos NP y SE no se observan diferencias entre las sesiones.

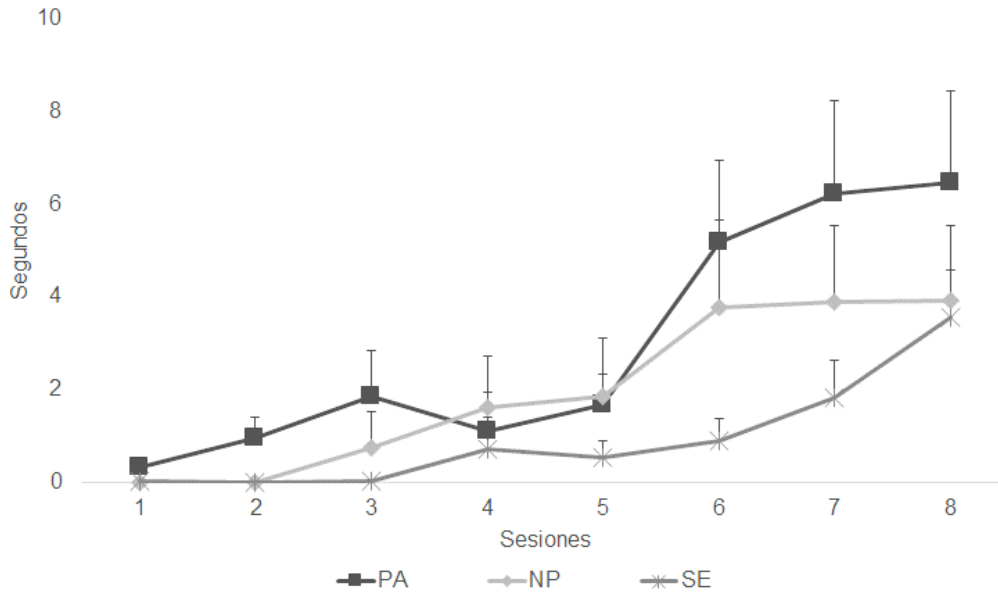


Figura 14. Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, por sesiones, para los sujetos experimentales de la Generación 3, durante la fase de prueba.

Tabla 5. Comparación por sesiones del tiempo de permanencia en la Zona 0 durante la fase de prueba, entre los grupos experimentales de la Generación 3.

Sesión	Generación 3					
	PA - NP		PA - SE		NP - SE	
	Z	p	Z	p	Z	p
1	-2.065	.039	-1.439	.150	-1.000	.317
2	-2.584	.010	-2.584	.010	.000	1.00
3	-1.633	.103	-1.776	.076	-.030	.976
4	-.683	.495	-1.209	.227	-.544	.586
5	-1.856	.064	-2.158	.031	-.394	.694
6	-1.055	.291	-2.258	.024	-1.036	.300
7	-.954	.340	-.868	.385	-.180	.857
8	-.507	.612	.000	1.00	-.779	.436

\* Nivel de significancia a partir de .05

**Comparación entre generaciones 1 y 2 (EC).** Los sujetos de las generaciones 1 y 2 recibieron el mismo tratamiento durante las fases de Habitación, de Exposición temprana y de Prueba de aprendizaje. En esa medida se presentarán los resultados de la comparación entre las generaciones 1 y 2 con el fin de observar si se presentan diferencias atribuibles a la experiencia recibida por una generación anterior. En este caso se comparan las respuestas de aproximación a la Zona 0 entre generaciones, según el grupo al cual pertenecieran los sujetos (PA, NP o SE).

La Figura 15 muestra la comparación de las generaciones 1 y 2, en relación con el tiempo de permanencia en la Zona 0, para cada uno de los grupos. Los sujetos del grupo PA de la Generación 2 permanecieron más tiempo dentro de la Zona 0 en comparación con los sujetos del grupo PA de la Generación 1, al igual que los sujetos del grupo NP de la Generación 2 con respecto de los sujetos de la Generación 1 pero en este caso las diferencias de tiempo son menos evidentes; en el caso de los sujetos del grupo SE, hubo una permanencia levemente mayor por parte de los sujetos de la Generación 1 en comparación con los sujetos de la Generación 2, aunque en este caso la diferencia es mucho menos notoria. Usando la prueba U de Mann-Whitney se muestra que existen diferencias significativas en las duraciones mostradas por los sujetos del grupo PA de la Generación 2 con respecto de los sujetos del mismo grupo de la Generación 1 ( $Z = -2.326, p = .020$ ); por otra parte la comparación entre las generaciones 1 y 2 no muestra diferencias significativas para el caso del grupo NP ( $Z = -1.024, p = .306$ ), y tampoco para el caso del grupo SE ( $Z = -.814, p = .416$ ).

Usando la prueba  $d$  de Cohen para evaluar el tamaño del efecto entre los grupos se observan los siguientes resultados: un tamaño de efecto pequeño entre los grupos PA y NP ( $d = -0.21$ ), disminuye levemente cuando se comparan los grupos PA y SE ( $d = -.19$ ), y por último el tamaño del efecto es prácticamente nulo al comparar los grupos NP y SE ( $d = .08$ ).

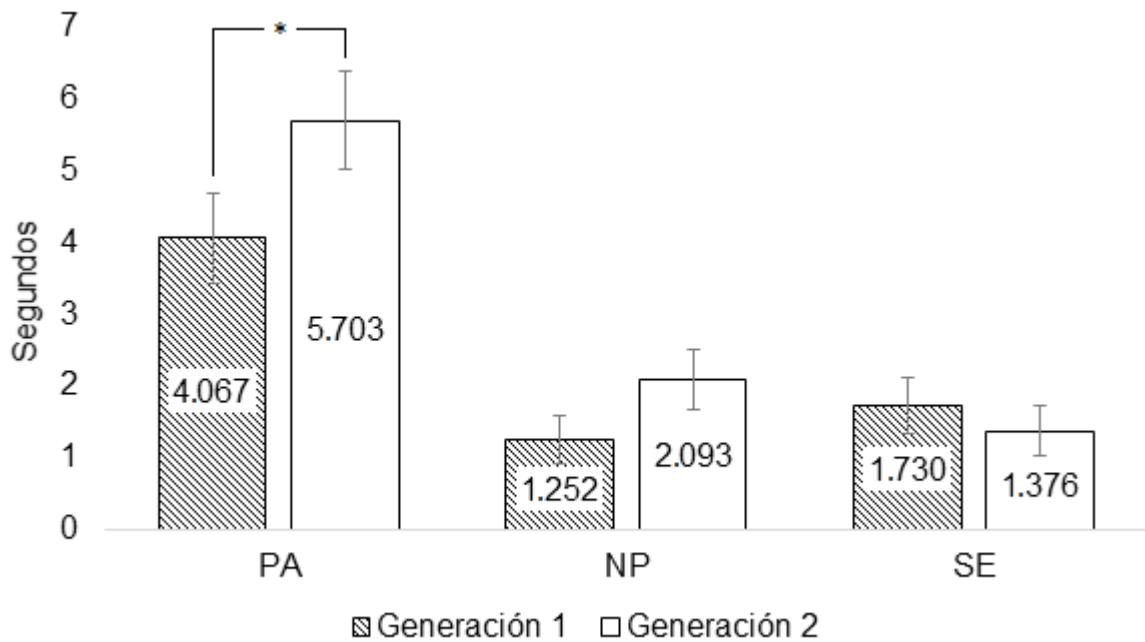


Figura 15. Duración media (+ error estándar) en la Zona 0, para los sujetos de las generaciones 1 y 2, durante la fase de prueba. Se comparan los sujetos de acuerdo con el grupo al que pertenecieran (PA, NP y SE).

### Datos fisiológicos

**Mediciones de glándula proctodeal.** Además de los datos de tipo comportamental, también se registró el área de la glándula proctodeal, relacionada con la producción de espuma seminal.

La figura 16 muestra los valores promedio del área de la glándula proctodeal, para todos los tres grupos y durante las tres generaciones. Al interior de cada generación se puede ver, por ejemplo, que el área promedio de glándula es significativamente mayor en el grupo PA ( $M = 2.65$ ,  $ET = .06$ ) que en el grupo SE ( $M = 2.47$ ,  $ET = .05$ ) para el caso de los sujetos de la Generación 3 ( $Z = -2.948$ ,  $p = .003$ ); dentro de esta misma generación se observa que el área de glándula es mayor en el grupo NP ( $M = 2.70$ ,  $ET = .05$ ) que en el grupo SE antes mencionado ( $Z = -3.574$ ,  $p = .000$ ). Mientras que, para el caso de los sujetos de la Generación

2, se observa un área de glándula mayor en el grupo NP ( $M = 2.83$ ,  $ET = .04$ ) que en el grupo SE ( $M = 2.67$ ,  $ET = .05$ ) ( $Z = -2.064$ ,  $p = .039$ ).

Haciendo un análisis entre generaciones se puede ver que los sujetos del grupo PA de la Generación 2 presentan un área de glándula mayor ( $M = 2.74$ ,  $ET = .06$ ) con respecto del mismo grupo PA pero de la Generación 1 ( $M = 2.54$ ,  $ET = .07$ ) ( $Z = -2.272$ ,  $p = .023$ ). Por otra parte, dentro del grupo SE se ven valores de área mayores en los sujetos de la Generación 1 ( $M = 2.57$ ,  $ET = .07$ ) con respecto de los sujetos de la Generación 3 ( $M = 2.47$ ,  $ET = .05$ ) ( $Z = -2.096$ ,  $p = .036$ ); y así mismo se ven valores mayores en los sujetos de la Generación 2 ( $M = 2.67$ ,  $ET = .05$ ) que en los de la Generación 3 antes mencionados ( $Z = -3.571$ ,  $p = .000$ ).

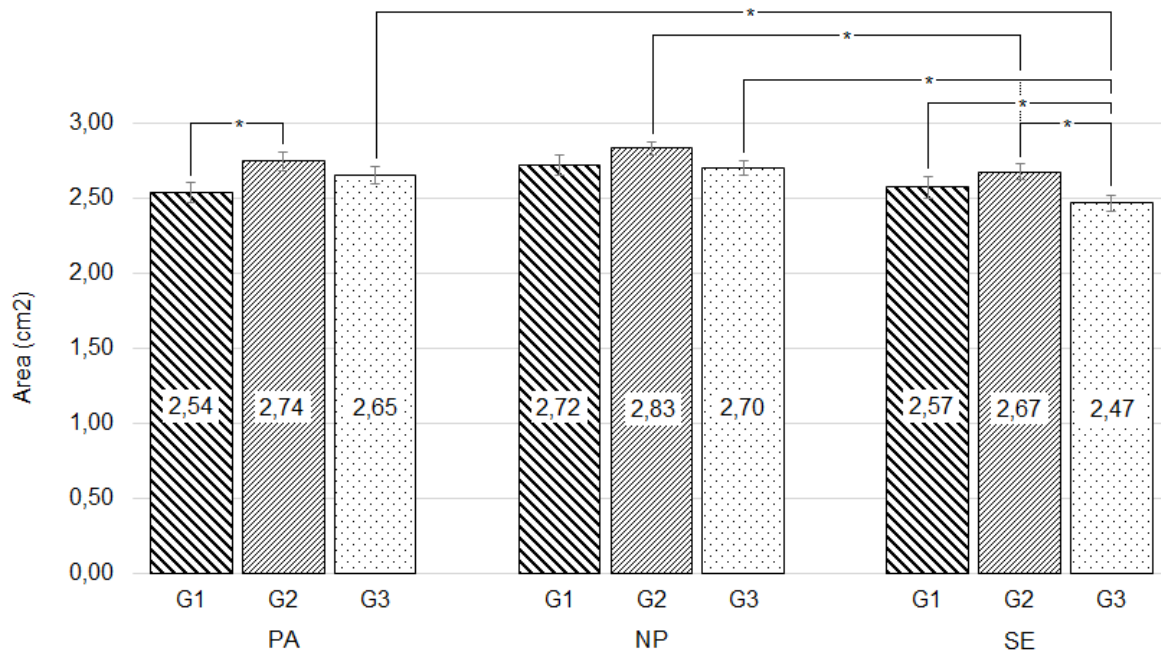


Figura 16. Valores promedio de área de glándula proctodeal en los sujetos del experimento.

Se comparan los tres grupos (PA, NP y SE) de las tres generaciones (G1, G2 y G3).

Al hacer un análisis del incremento del área de la glándula proctodeal a lo largo de los días en los cuales se llevó a cabo la medición se puede ver que al interior de cada generación no se observan variaciones importantes en el tamaño entre los grupos PA, NP y SE; quizá se puede ver que hay una leve distancia en los valores de los grupos PA y NP, con respecto del grupo SE, al interior de la Generación 3 en los últimos días de medición (ver Figura 17c). Ya cuando se hace la comparación entre las tres generaciones se pueden notar algunas variaciones; los sujetos del grupo PA de las generaciones 2 y 3 muestran un incremento más acelerado en el tamaño de la glándula proctodeal con respecto de lo mostrado por los sujetos de la Generación 1, al menos en los primeros días de medición (ver figura 17d); ya a partir del día 47 los valores de las tres generaciones se nivelan. Algo similar a lo anterior ocurre al interior del grupo NP; desde el día 33 y hasta el día 41 de medición los sujetos de la Generación 2 presentan un crecimiento glandular más acelerado con respecto de los sujetos de la Generación 1, lo cual se nivela aproximadamente hacia el día 43 (ver figura 17e); esto ocurre de la misma manera en el caso de los sujetos del grupo SE, entre las mismas generaciones 2 y 1.

Cabe aclarar que, al analizar estadísticamente los datos de área de glándula en cada uno de los días, no se observan diferencias importantes que permitan obtener conclusiones relevantes para los propósitos de este estudio.

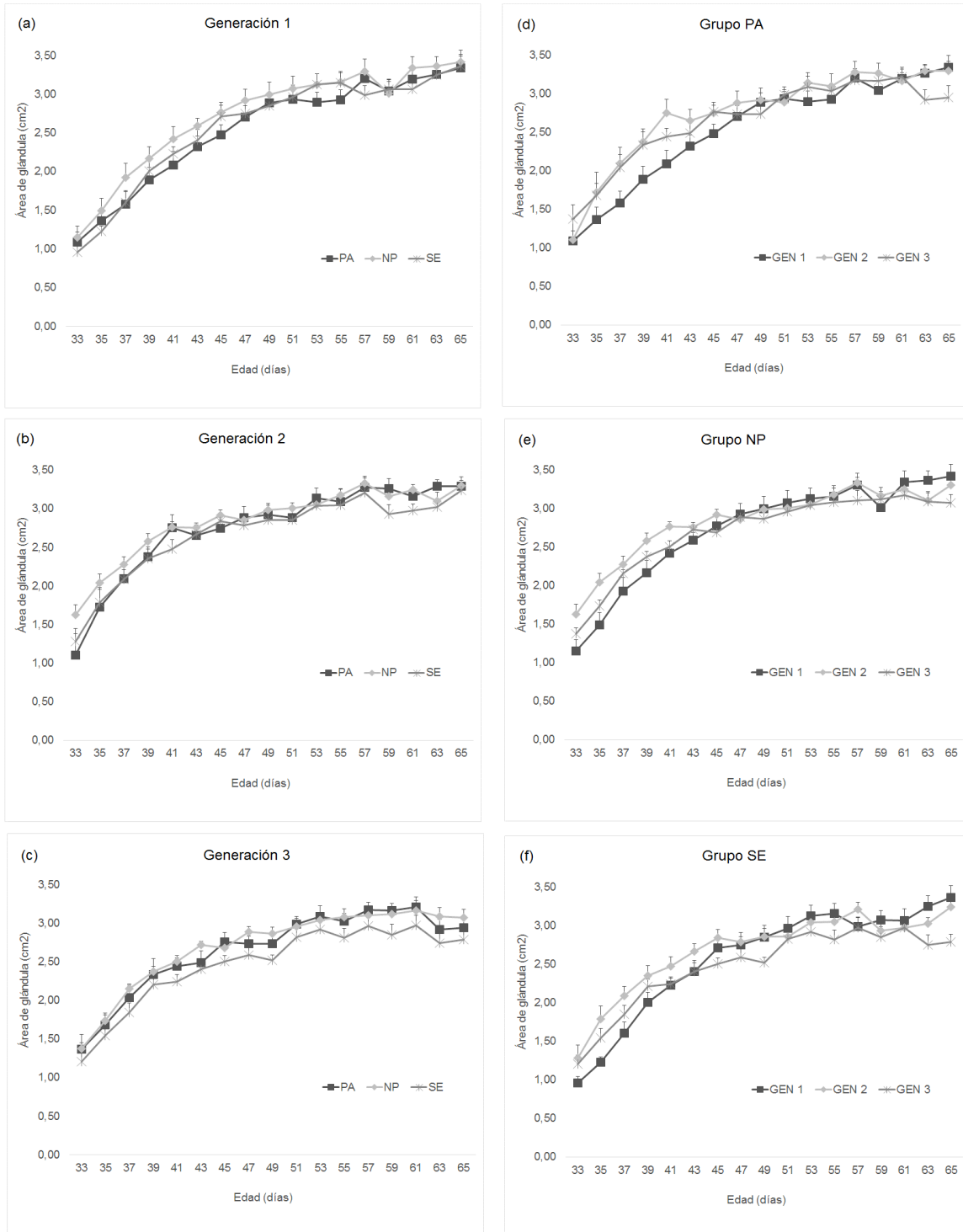


Figura 17. Valores promedio diarios del área de glándula proctodeal. Se comparan los valores obtenidos por cada uno de los grupos al interior de la Generación 1 (a), de la Generación 2 (b) y de la Generación 3 (c); igualmente se comparan los valores de las tres generaciones correspondientes al grupo PA (d), al grupo NP (e) y al grupo SE (f).



## Discusión

El objetivo principal del presente experimento fue determinar si ocurren efectos transgeneracionales en las respuestas sexuales condicionadas del macho de codorniz japonesa, a partir de la exposición a diferentes condiciones estímulares durante etapas tempranas del desarrollo, previo a la maduración sexual de esta especie.

Los resultados de este experimento muestran que los sujetos que recibieron la presentación pareada de estímulos durante etapas tempranas de desarrollo no solo mostraron una aceleración en su aprendizaje durante la fase de prueba con respecto de los grupos que recibieron una presentación no pareada o que simplemente no tuvieron una exposición temprana a los estímulos. Los sujetos de las siguientes generaciones –descendientes de los sujetos que recibieron presentaciones pareadas de los estímulos– mostraron diferencias a su favor, ya fuera mostrando un aprendizaje más acelerado (grupo PA de la Generación 2) o simplemente mostrando diferencias con los sujetos de los demás grupos, aun cuando no hayan tenido diferencias en su desarrollo sino únicamente la experiencia que tuvieron sus antecesores (grupo PA de la Generación 3). Lo anterior permite concluir que sí hubo un efecto transgeneracional de la presentación pareada de estímulos durante etapas de desarrollo temprano, aunque este efecto parece ser leve; la prueba de tamaño del efecto muestra que, si bien los sujetos del grupo PA en las diferentes generaciones demuestran una curva de aprendizaje más acelerada durante la fase de prueba con respecto de los otros dos grupos, este efecto en el mejor de los casos es moderado. El dato de tamaño del efecto inclusive permite plantear algunas explicaciones; el efecto parece ser mayor en el caso de los sujetos del grupo PA de la generación 2 con respecto de los demás grupos, en relación con lo obtenido en las generaciones 1 y 3. Si se compara el efecto ocurrido entre las generaciones 1 y 2 se podría pensar en un efecto acumulado; los estudios acerca de efectos transgeneracionales indican que los cambios fenotípicos son mayores si la variable ambiental se presenta de manera repetida a

lo largo de varias generaciones. Ruden y Lu (2008) muestran que, por medio de remodelaciones moleculares directas en la cromatina (que pueden ocurrir por el uso de ciertos químicos), se pueden generar modificaciones epigenéticas transgeneracionales que explican cambios acumulados en ciertas características de la *Drosophila melanogaster* tales como la coloración y el tamaño de los ojos. Por otra parte, Anway, Cupp, Uzumcu y Skinner (2005) demostraron el efecto sostenido de la administración de vinclozolin (un disruptor endocrino que afecta sistemas sexuales a nivel fisiológico y comportamental) en varias generaciones de ratas, sobre el nivel de fertilidad de las mismas. Existe un decremento en los niveles de fertilidad los cuales se mantienen debido a la administración sostenida del vinclozolin en varias generaciones. Por tanto cabe pensar en que lo ocurrido con el grupo PA de la Generación 2 durante la fase de prueba copulatoria sería un efecto acumulado de lo experimentado por sus antecesores del mismo grupo durante la Generación 1.

Otra idea que surge en relación con el análisis del tamaño del efecto es que el efecto pequeño que se presentó con los sujetos del grupo PA de la Generación 3, en comparación con los del mismo grupo de la Generación 2, se puede explicar a partir de los procesos de herencia dependientes del contexto (Burggren & Crews, 2014). Los procesos de herencia epigenética dependientes de la línea germinal generan efectos transgeneracionales más extendidos, aún en ausencia del factor ambiental que provoca dicho cambio epigenético; esto debido a que el factor ambiental afecta directamente los procesos meióticos en la unión óvulo-espermatozoide o incluso poco después de comenzada la gestación por parte de la madre biológica, los cuales son momentos absolutamente críticos en cuanto a la modulación de la expresión genética. Por otro lado, los procesos de herencia ligados al contexto/ambiente pueden ocurrir en momentos menos cruciales que la gestación, e incluso no dependen exclusivamente de la relación madre-cría sino que también pueden incluir efectos transmisibles de padres (machos) a hijos, solo que los procesos de herencia ya no ocurrirían a nivel meiótico sino a nivel mitótico (Burggren &

Crews, 2014). Un efecto de la herencia ligada al contexto que sea extendido en el tiempo depende de la presencia del factor ambiental que provoca el cambio epigenético; si este factor ya no está presente entonces el efecto epigenético desaparecerá rápidamente, lo cual puede explicar las diferencias en la respuesta de los organismos del grupo PA entre las generaciones 2 y 3 del presente estudio. No obstante para tener una mayor certeza de lo dicho se requeriría replicar este experimento manteniendo la exposición temprana durante un mayor número de generaciones sucesivas.

Pasando a otro tema de análisis, los resultados de este experimento respaldan los obtenidos previamente por Arbaiza (2013), quien había encontrado una aceleración de los procesos de aprendizaje sexual en machos sexualmente maduros producto de la exposición temprana a estímulos pareados en un arreglo EC-EI. Tanto los resultados de Arbaiza como los mostrados en este experimento reafirman el papel determinante de la ontogenia en el aprendizaje. Así como ocurrió con el estudio de Arbaiza, el presente estudio permite reafirmar la importancia del desarrollo temprano en la modulación de los procesos comportamentales, incluido el aprendizaje. En relación con la discusión entre mecanismos generales del aprendizaje versus especializaciones o restricciones biológicas, este estudio permite respaldar la idea de que, si bien se pueden aceptar los mecanismos de aprendizaje como mecanismos altamente flexibles y por ende moldeables según las demandas del contexto, el aprendizaje está altamente ligado a los aspectos biológicos del sistema comportamental que se esté estudiando. De este estudio se puede sugerir que, para que ocurra un condicionamiento de tipo sexual, los estímulos deben presentarse en etapas del desarrollo en las que la conducta sexual adquiere su valor desde el punto de vista reproductivo. Esto es claro en tanto que los sujetos de este estudio no presentaron respuestas sexuales condicionadas ante el EC durante la fase de exposición temprana. No obstante, a pesar de que un estímulo de naturaleza sexual tiene un significado

distinto para un individuo aún no desarrollado sexualmente, esto no significa que su presentación en edades tempranas no va a generar algún efecto sobre su conducta futura.

Se esperaba ver diferencias importantes en cuanto a cambios fisiológicos, más exactamente ligados al desarrollo hormonal sexual, medido en este estudio a través del tamaño de la glándula proctodeal. Como se afirmó previamente en el método, las mediciones de la glándula proctodeal pueden usarse como indicadores indirectos del desarrollo hormonal de la codorniz, ligado a la presencia de hormonas sexuales como la testosterona (Annicchiaricco et al., 2009); en esa medida se esperaba ver cambios diferenciales en el desarrollo y la maduración sexual de acuerdo con los diferentes tratamientos que recibieron los sujetos de los tres grupos experimentales, a lo largo de las tres generaciones. Si bien se observa un incremento más acelerado del tamaño de la glándula en los sujetos del grupo PA de la Generación 2 con respecto de lo mostrado por los sujetos de la Generación 1 –el cual podría ser atribuido al efecto transgeneracional acumulado mencionado antes– este incremento no fue estadísticamente significativo y solo ocurrió durante unos cuantos días. Además, los datos del incremento en el tamaño de la glándula al interior de cada generación tuvieron una tendencia muy similar entre los tres grupos, por lo que no pareciera haber un efecto importante del tratamiento experimental en la fisiología sexual de la codorniz macho.

Ahora, los resultados de esta investigación dan un mayor respaldo a la visión molar de los fenómenos epigenéticos, sin que haya la necesidad de subyugarlos a los mecanismos moleculares. Por supuesto, un análisis molecular del tipo de mecanismo que estaría implicado en los cambios a nivel fenotípico que parecen mostrar los sujetos de este estudio le daría una mayor fuerza a los resultados obtenidos. Sin embargo, el interés de este trabajo está más ligado al análisis de los fenómenos epigenéticos en niveles más amplios, especialmente en el nivel comportamental y sus repercusiones ontogenéticas y filogenéticas. En línea con los hallazgos del trabajo realizado por Storm y Lima (2010), la capacidad predictora de un individuo puede

verse afectada positivamente gracias al tipo de experiencias que hayan tenido sus padres en periodos críticos de su desarrollo. En los grillos del estudio de Storm y Lima, las crías desarrollaron mejores capacidades para predecir la llegada de un predador por medio de sustancias asociadas a éste, gracias a la experiencia vivida por la madre de éstos en relación con las mismas variables ambientales. En el caso del presente estudio se puede esperar una mejor capacidad predictiva de los machos de codorniz ante la llegada de una potencial pareja reproductiva gracias a las experiencias vividas por sus antecesores de generaciones previas, lo cual representaría una ventaja importante para poder acceder de manera más efectiva a dicha pareja y poder copular con ella. En observaciones casuales se vio que los machos del grupo PA, durante la fase de prueba copulatoria, parecían demorarse mucho menos en copular con la hembra cuando tenía acceso a ella, en comparación con lo visto en los sujetos de los grupos NP y SE, lo cual concuerda con hallazgos previos en los que se comprobó la efectividad del condicionamiento clásico sexual en el incremento de la eficacia copulatoria y reproductiva de machos de codorniz japonesa (Montoya, Suárez & Gutiérrez, 2016). Se espera poder completar los registros de latencia de cópula para poder observar si efectivamente se dan decrementos en la latencia de cópula asociables a efectos transgeneracionales.

Por ahora, en cuanto a los mecanismos epigenéticos moleculares que podrían estar implicados en los fenómenos comportamentales observados en este estudio, solo se pueden plantear algunas especulaciones basadas en lo que muestra la literatura previa. Los procesos de metilación del ADN y de acetilación de histonas han sido asociados normalmente a cambios en los mecanismos del aprendizaje. Por ejemplo, se ha visto la influencia de procesos de metilación del ADN en procesos de discriminación condicionada en ratones expuestos a cocaína (Tian et al., 2012), también en procesos de aprendizaje por condicionamiento clásico y posterior almacenamiento en la memoria a largo plazo en abejas (Biergans, Jones, Treiber, Galizia, & Szyszka, 2012), y en aprendizaje clásico, operante y procesos de recompensa en

ratas (Day et al., 2013). Los procesos de acetilación de histonas se han relacionado, por ejemplo, con fenómenos de temor condicionado y consolidación de la memoria de este aprendizaje en ratones (Gupta et al., 2010), con fenómenos de discriminación contextual, memoria espacial y temor condicionado en ratas (Bousiges et al., 2013), y en aprendizaje de aversión a sabores en el caracol europeo (*Helix lucorum*) (Danilova, Kharchenko, Shevchenko, & Grinkevch, 2010). Dado que estos procesos de metilación y acetilación son relativamente comunes en relación con cambios en los mecanismos del aprendizaje asociativo, cabría esperar que alguno de estos procesos esté relacionado con los fenómenos comportamentales evidenciados en los sujetos de este estudio. Algo que sí parece ser muy probable es que los mecanismos de herencia epigenética involucrados acá sean mecanismos dependientes del contexto; esto, debido a que sería muy poco probable atribuirlos a cambios en la línea germinal por la sencilla razón de que la exposición se llevó a cabo con machos y las hembras de este estudio fueron usadas solo como estímulos.

Los controles llevados a cabo en este experimento permiten descartar una serie de posibles variables extrañas que pudieran incidir en los resultados obtenidos. Todos los sujetos del experimento de todas las generaciones fueron criados de la misma manera, las condiciones de alojamiento (temperatura, humedad, iluminación) y de mantenimiento fueron las mismas para todos los sujetos, todos fueron alojados en habitaciones de la misma manera, fuera en grupos (durante los primeros días de vida) o aislados en jaulas individuales, y todos los sujetos recibieron el mismo tipo de alimento y bebida. Al inicio del experimento con la primera generación de sujetos, la selección de sujetos para cada uno de los grupos se hizo al azar, los sujetos mantuvieron siempre su separación por grupos (PA, NP y SE) no solo en la primera generación sino durante las demás generaciones para garantizar que no hubiera mezcla de sujetos de una generación a otra, las hembras usadas para copular y reproducirse también se seleccionaban al azar pero eran exclusivas de cada grupo (e.g. una hembra que copulaba con

un sujeto del grupo PA podía copular también con sujetos del mismo grupo PA pero nunca con sujetos de los grupos NP o SE). Se balanceó el orden de las sesiones con los sujetos de todos los grupos (para evitar un posible efecto del momento del día en el que se realizara la sesión con cada sujeto), así como la asignación de cajas experimentales (para evitar efectos asociados a las características del instrumento). Todos los sujetos experimentales, cuando alcanzaron la madurez sexual, mostraron respuestas sexuales frente a las hembras (fuera teniendo contactos copulatorios exitosos o intentando montas con hembras que no se mostraran muy receptivas), por lo que se puede descartar algún efecto motivacional.

Dado que este trabajo es relativamente novedoso en cuanto al fenómeno estudiado, el diseño empleado y la especie usada, se sugiere una replicación del mismo con el fin de tener resultados mucho más consistentes que permitan reafirmar la validez de las conclusiones postuladas. Una variable que no se logró controlar debido a limitaciones técnicas tiene que ver con el sexaje de los sujetos; el sexaje se realizó por medio de la observación del plumaje, pero para poder discriminar machos y hembras este procedimiento solo se puede llevar a cabo a los 14 días con un margen de error del 15% - 20%. Se sugiere por ello recurrir a técnicas de sexaje con polluelos tan pronto ocurra la eclosión (p. ej. técnicas de inspección cloacal, técnicas moleculares cromosómicas) para poder controlar efectos de exposición a conspecíficos del sexo opuesto. Y, por supuesto, realizar estudios a nivel molecular con el fin de identificar el tipo de mecanismo epigenético celular que subyace a estos cambios en el comportamiento de la codorniz macho.

Como conclusión, los resultados de este estudio no solamente permiten ver el efecto de factores ambientales en el desarrollo de los procesos conductuales y de los mecanismos del aprendizaje subyacentes, tanto a lo largo del desarrollo como a través de las generaciones, en un sistema comportamental poco estudiado. También permiten orientar el estudio del comportamiento y el aprendizaje en el marco de la teoría de la evolución hacia niveles de

comprensión más amplios, evitando caer en reducciones que impiden abordar los fenómenos del desarrollo, la herencia y la evolución en toda su extensión.



### Referencias

- Annicchiaricco, I., Gutiérrez, G., Ortega, L., & Barragán, B. (2009). Medición indirecta de andrógenos y su relación con la conducta sexual en *Coturnix japonica*. *Universitas Psychologica*, 8, 429-506.
- Anway, M. D., Cupp, A. S., Uzumcu, M., & Skinner, M. K. (2005) Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science*, 308, 1466-1469. doi: 10.1126/science.1108190
- Arbaiza, A. L. (2013). *Efectos de la experiencia temprana en el comportamiento sexual de la codorniz japonesa macho* (tesis de pregrado). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Arteaga, M. P. (2015). *Experiencia social temprana, receptividad sexual y fertilidad en hembras de codorniz japonesa* (tesis de pregrado). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Beach, F. A., & Jaynes, J. (1954). Effects of early experience upon the behavior of animals. *Psychological Bulletin*, 51(3), 239-263. doi: 10.1037/h0061176
- Biergens, S. D., Jones, J. C., Treiber, N., Galizia, C. G., & Szyszka, P. (2012). DNA Methylation Mediates the Discriminatory Power of Associative Long-Term Memory in Honeybees. *PLoS ONE*, 7(6), e39349. doi: 10.1371/journal.pone.0039349
- Blumberg, M. S., Freeman, J. H., & Robinson, S. R. (2010). Introduction: A New Frontier for Developmental Behavioral Neuroscience. En M. Blumberg, J. Freeman, & S. Robinson (Eds.). *Oxford Handbook of Developmental Behavioral Neuroscience* (pp. 1-4). New York: Oxford University Press.
- Bousiges, O., Neidl, R., Majchrzak, M., Muller, M. A., Barbelivien, A., Pereira de Vasconcelos, A., Schneider, A., Loeffler, J. F., Cassel, J. C., & Boutillier, A. L. (2013). Detection of histone acetylation levels in the dorsal hippocampus reveals early

tagging on specific residues of H2B and H4 histones in response to learning. *PLoS ONE* 8(3), e57816. doi: 10.1371/journal.pone.0057816

Burggren, W. W., & Crews, D. (2014). Epigenetics in Comparative Biology: Why We Should Pay Attention. *Integrative and Comparative Biology*, 54(1), 7-20. doi: 10.1093/icb/icu013

Crews, D. (2008). Epigenetics and its implications for behavioral neuroendocrinology. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 29, 344–357. doi: 10.1016/j.yfrne.2008.01.003

Crews, D. (2014). Epigenetics and animal behavior. En Ken Yasukawa (Ed.). *Animal behavior: how and why animals do the things they do* (Vol. 1). Santa Barbara, CA: Praeger.

Crews, D., & Gore, A. C. (2014). Transgenerational Epigenetics: Current Controversies and Debates. En T. Tollefsbol (Ed.). *Transgenerational Epigenetics: Evidence and Debate* (p. 371-390). Amsterdam: Elsevier.

Crews, D., Gore, A. C., Hsu, T. S., Dangleben, N. L., Spinetta, M., Schallert, T., & Skinner, M. K. (2007). Transgenerational epigenetic imprints on mate preference. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(14), 5942–5946. doi: 10.1073/pnas.0610410104

Crews, D., Sakata, J., & Rhen, T. (1998). Developmental effects on intersexual and intrasexual variation in growth and reproduction in a lizard with temperature-dependent sex determination. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 119(3), 229-241. doi: 10.1016/s0742-8413(98)00012-7

Cusato, B., & Domjan, M. (1998). Special efficacy of sexual conditioned stimuli that include species typical cues: Tests with a CS preexposure design. *Learning and Motivation*, 29, 152-167. doi: 10.1006/lmot.1997.0988

- Danilova, A., Kharchenko, O., Shevchenko, K., & Grinkevch, L. (2010). Histone H3 acetylation is asymmetrically induced upon learning in identified neurons of the food aversion network in the mollusk *Helix lucorum*. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 4, 180. doi: 10.3389/fnbeh.2010.00180
- Day, J. J., Childs, D., Guzman-Karlsson, M. C., Kibe, M., Moulden, J., Song, E., Tahir, A., & Sweatt, J. D. (2013). DNA methylation regulates associative reward learning. *Nature Neuroscience*, 16(10), 1445-1452. doi: 10.1038/nn.3504
- Dias, B. G., Maddox, S., Klengel, T., & Ressler, K. J. (2015). Epigenetic mechanisms underlying learning and the inheritance of learned behaviors. *Trends in Neurosciences*, 38(2), 96–107. doi: 10.1016/j.tins.2014.12.003
- Dias, B. G., & Ressler, K. J. (2014). Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations. *Nature Neuroscience*, 17(1), 89-96. doi: 10.1038/nn.3594
- Dugatkin, L.A. (2009). *Principles of animal behavior* (2da ed.). New York: W.W. Norton & Company.
- Garcia, J., & Koelling, R. A. (1966). Relation of cue to consequence in avoidance learning. *Psychonomic Science*, 4, 123-124. doi: 10.3758/BF03342209
- Gupta, S., Kim, S. Y., Artis, S., Molfese, D. L., Schumacher, A., Sweatt, J. D., Paylor, R. E., & Lubin, F. D. (2010). Histone methylation regulates memory formation. *Journal of Neuroscience*, 30(10), 3589-3599. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3732-09.2010
- Gutiérrez, G., & Domjan, M. (1997). Differences in the sexual conditioned behavior of male and female Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Journal of Comparative Psychology*, 111, 135-142. doi: 10.1037/0735-7036.111.2.135

- Gutiérrez, G., & Domjan, M. (2011). Conditioning of sexual proceptivity in female quail: Measures of conditioned place preference. *Behavioural Processes*, 87(3), 268-273. doi: 10.1016/j.beproc.2011.05.004
- Ho, D. H., Reed, W. L., & Burggren, W. W. (2011). Egg yolk environment differentially influences physiological and morphological development of broiler and layer chicken embryos. *Journal of Experimental Biology*, 214, 619-628. doi: 10.1242/jeb.046714
- Honeycutt, H. (2011). The “enduring mission” of Zing-Yang Kuo to eliminate the nature-nurture dichotomy in psychology. *Developmental Psychobiology*, 53, 331-342. doi: 10.1002/dev.20529
- Jablonka, E., & Lamb, M.J. (2005). *Evolution in four dimensions: Genetic, epigenetic, behavioral, and symbolic variation in the history of life*. Cambridge, MA: MIT Press.
- Kuo, Z. Y. (1922). How are our instincts acquired? *Psychological Review*, 29, 344-365. doi: 10.1037/h0073689
- Lamarck, J. B. (1809/1986). *Filosofía zoológica*. Barcelona: Alta Fulla.
- Lashley, K. S. (1930). Basic neural mechanisms in behavior. *Psychological Review* 37, 1-24. doi: 10.1037/h0074134
- Launay, F., Mills, A. D., & Faure, J. M. (1991). Social motivation in Japanese quail *coturnix coturnix japonica* chicks selected for high or low levels of treadmill behavior. *Behavioural Processes*, 24(2), 95-110. doi: 10.1016/0376-6357(91)90002-h
- Lester, B. M., Tronick, E., Nestler, E., Abel, T., Kosofsky, B., Kuzawa, C. W., Marsit, C. J., Maze, I., Meaney, M. J., Monteggia, L. M., Reul, J. M. H. M., Skuse, D. H., Sweatt, J. D., & Wood, M. A. (2011). Behavioral epigenetics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1226, 14–33. doi: 10.1111/j.1749-6632.2011.06037.x
- Lewontin, R. C. (1964). The interaction of selection and linkage. I. General considerations; heterotic models. *Genetics*, 49, 49-67.

- Lickliter, R., & Honeycutt, H. (2009). Rethinking epigenesis and evolution in light of developmental science. En M. Blumberg, J. Freeman, & S. Robinson (Eds.). *Oxford Handbook of Developmental Behavioral Neuroscience* (pp. 30-47). New York: Oxford University Press.
- Maier, N. R. & Schneirla, T. C. (1935). *Principles of Animal Psychology*. New York: McGraw-Hill.
- Matsumoto, Y., Buemio, A., Chu, R., Vafae, M., & Crews, D. (2013). Epigenetic control of gonadal aromatase (cyp19a1) in temperature-dependent sex determination of red-eared slider turtles. *PLoS ONE*, 8(6), e63599. doi: 10.1371/journal.pone.0063599
- Montoya, B., Suárez, L., & Gutiérrez, G. (2016). Another way to win: Learning and intrasexual competition in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Journal of Comparative Psychology*, 130(2), 87-96. doi: 10.1037/a0040217
- Moore, B. R. (2004). The evolution of learning. *Biological Reviews*, 2, 301-335. doi: 10.1017/s1464793103006225
- Nash, S., & Domjan, M. (1991). Learning to Discriminate the Sex of Conspecifics in Male Japanese Quail (*Coturnix coturnix japonica*): Tests of "Biological Constraints". *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 17(3), 342-353. doi: 10.1037/0097-7403.17.3.342
- Ratcliffe, J. M., Fenton, M. B., & Galef, B. G. (2003). An exception to the rule: Common vampire bats do not learn taste aversions. *Animal Behaviour*, 65, 385-389. doi: 10.1006/anbe.2003.2059
- Richardson, R., & Hunt, P. S. (2010). Ontogeny of fear conditioning. En M. Blumberg, J. Freeman, & S. Robinson (Eds.). *Oxford Handbook of Developmental Behavioral Neuroscience* (pp. 30-47). New York: Oxford University Press.

- Romeo, R. D., Tang, A. C., & Sullivan, R. M. (2009). Early life experiences: Enduring behavioral, neurological, and endocrinological consequences. En D. Pfaff, A. Arnold, A. Etgen, R. Rubin, & S. Fahrback (Eds.), *Hormones, Brain and Behavior. Second Edition* (pp. 1975-2004). New York: Elsevier.
- Rozin, P. (1967). Specific aversions as a component of specific hungers. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, *64*(2), 237-242. doi: 10.1037/h0088047
- Ruden, D. M., & Lu, X. (2008). Hsp90 affecting chromatin remodeling might explain transgenerational epigenetic inheritance in *Drosophila*. *Current Genomics*, *9*, 500-508. doi: 10.2174/138920208786241207
- Rush, A. N., Robinette, B. L., & Stanton, M. E. (2001). Ontogenetic differences in the effects of unpaired stimulus preexposure on eyeblink conditioning in the rat. *Developmental Psychobiology*, *39*(1), 8-18. doi: 10.1002/dev.1023
- Shettleworth, S. J. (2009). *Cognition, Evolution, and Behavior* (2da ed.). New York, NY: Oxford University Press.
- Storm, J. J., & Lima, S. L. (2010). Mothers forewarn offspring about predators: a transgenerational maternal effect on behavior. *The American Naturalist*, *175*(3), 382-390. doi: 10.1086/650443
- Tian, W., Zhao, M., Li, M., Song, T., Zhang, M., Quan, L., Li, S., & Sun, Z. S. (2012). Reversal of cocaine-conditioned place preference through methyl supplementation in mice: altering global DNA methylation in the prefrontal cortex. *PLoS One*, *7*(3), e33435. doi: 10.1371/journal.pone.0033435
- Tinbergen, N. (1963). On aims and methods of ethology. *Zeitschrift für Tierpsychologie*, *20*, 410-433. doi: 10.1111/j.1439-0310.1963.tb01161.x
- Tooby, J. & Cosmides, L. (2005). Conceptual Foundations of Evolutionary Psychology. En D. Buss (Ed.). *The Handbook of Evolutionary Psychology*. New York: Wiley.

Waddington, C. H. (1942). The Epigenotype. *Endeavour*, *1*, 18-20. doi: 10.1093/ije/dyr184

Wolf, J. B., & Wade, M. J. (2009). What are maternal effects (and what are they not)?

*Philosophical Transactions of The Royal Society B: Biological Sciences*, *364*, 1107-

1115. doi: 10.1098/rstb.2008.0238

Wu, C., & Morris, J. R. (2001). Genes, genetics, and epigenetics: a correspondence. *Science*,

*293*(5532), 1103–1105. doi: 10.1126/science.293.5532.1103

Zovkic, I. B., Guzman-Karlsson, M. C., & Sweatt, J. D. (2013). Epigenetic regulation of  
memory formation and maintenance. *Learning & Memory*, *20*, 61-74. doi:

10.1101/lm.026575.112

## CURRICULUM VITAE MIGUEL ANDRÉS PUENTES

### *Estudios realizados*

#### MAESTRÍA EN PSICOLOGÍA

2017. Universidad Nacional de Colombia - Bogotá.

#### PSICOLOGÍA

2009. Universidad Nacional de Colombia - Bogotá.

### *Publicaciones seleccionadas*

**Puentes, M.** & Gutiérrez, G. (2011). Darwin, Wallace y las facultades mentales humanas. En Gutiérrez, G. & Papini, M. (Eds.). *Darwin y las Ciencias del Comportamiento*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia/Colegio Colombiano de Psicólogos.

Gutiérrez, G., Arias, K., & **Puentes, M.** (2009) Clasificación de grupos de investigación: Colciencias 2008. *Bitácora, Boletín de la Facultad de Ciencias Humanas*, 42, 14-15.

**Puentes, M.**, & Gutiérrez, G. (2008). El Laboratorio de Aprendizaje y Comportamiento Animal de la Universidad Nacional de Colombia, en R. Oyuela (Ed.). *Los laboratorios de la psique*. Bogotá: ASCOFAPSI y Pontificia Universidad Javeriana.

**Puentes, M.** (2008). Reseña de “Anatomía del Fraude Científico” de H. F. Judson. *Revista Latinoamericana de Psicología*, 40, 179-181.

**Puentes, M.** (2007). Reseña de “Sex, time, and power: How women’s sexuality shaped sexual evolution” de L, Schlain. *Revista Latinoamericana de Psicología*, 39, 645-647.

### *Experiencia docente*

FUNDACIÓN UNIVERSITARIA SÁNITAS – Facultad de Psicología

Enero de 2015 – Actualmente.

Bogotá.

CORPORACIÓN UNIVERSITARIA IBEROAMERICANA – Programa de Psicología

Febrero – Diciembre de 2014.

Bogotá.

CORPORACIÓN UNIVERSITARIA IBEROAMERICANA – Programa de Psicología

Febrero – Diciembre de 2011.

Bogotá.

### *Reconocimientos*

2012. Otorgamiento de la beca Asistente Docente, por parte de la Dirección Académica sede Bogotá, Universidad Nacional de Colombia.

2007. Noveno puntaje nacional en los Exámenes de Calidad Académica de la Educación Superior (ECAES).