

DEPARTAMENTO DE BIOLÓGIA ANIMAL, PARASITOLOGÍA, ECOLOGÍA,
EDAFOLOGÍA Y QUÍMICA AGRÍCOLA
FACULTAD DE BIOLÓGIA ~ UNIVERSIDAD DE SALAMANCA



**Estudio de las conductas y patrones de
orientación de dos especies de urodelos ibéricos
(*Lissotriton boscai* y *Triturus marmoratus*) en
relación con sus estrategias vitales**

*Memoria presentada por Lorenzo Rodríguez García para optar al título de
Doctor en Ciencias Biológicas, dirigida por los doctores Francisco Javier Diego Rasilla
y Valentín Pérez Mellado*

Salamanca, 2009

El doctorando,

Lorenzo Rodríguez García

A mis padres

y a todos aquellos que me han servido de brújula



CONTENIDOS

| | |
|--|-----|
| I. Aspectos generales..... | 7 |
| 1. Introducción..... | 9 |
| 2. Orientación espacial en anfibios: conceptos y terminología básica..... | 12 |
| 2.1 Migraciones y orientación de regreso al hogar en anfibios..... | 13 |
| 2.2 Orientación respecto al eje-Y en anfibios..... | 18 |
| 3. Tipos de mecanismos de orientación espacial..... | 19 |
| 3.1 Seguimiento de un rastro..... | 20 |
| 3.2 Orientación basada en la ruta..... | 21 |
| ▪ Inversión de la ruta..... | 21 |
| ▪ Inversión de la dirección u orientación mediante compás..... | 22 |
| ▪ Integración de trayectorias..... | 23 |
| 3.3 Navegación verdadera – orientación de mapa y compás..... | 25 |
| ▪ Mapas de mosaico o mapas cognitivos..... | 27 |
| ▪ Mapas de gradiente o mapas en cuadrícula..... | 28 |
| 4. Estímulos ambientales que pueden ser usados en la orientación espacial..... | 32 |
| 4.1 El campo geomagnético..... | 33 |
| ▪ Características del campo magnético terrestre..... | 33 |
| ▪ Orientación mediante compás magnético..... | 37 |
| ▪ Uso del campo magnético para determinar posición geográfica..... | 40 |
| ▪ Acerca de los posibles mecanismos de magnetorrecepción..... | 46 |
| 4.2 Estímulos celestes..... | 57 |
| ▪ Sol..... | 57 |
| ▪ Patrón de polarización de la luz..... | 60 |
| ▪ Luna y estrellas..... | 65 |
| 4.3 Referencias geográficas..... | 67 |
| 4.4 Estímulos químicos..... | 68 |
| 4.5 Estímulos acústicos y otros..... | 70 |
| II. Metodología general..... | 71 |
| 1. Especies estudiadas..... | 73 |
| 1.1 Acerca de <i>Triturus marmoratus</i> (tritón jaspeado)..... | 73 |
| 1.2 Acerca de <i>Lissotriton boscai</i> (tritón ibérico)..... | 76 |
| 2. Área y poblaciones estudiadas..... | 80 |
| 2.1 Geología, geomorfología y paisaje..... | 82 |
| 2.2 Suelos..... | 83 |
| 2.3 Clima..... | 84 |
| 2.4 Vegetación y pisos bioclimáticos..... | 85 |
| 2.5 Poblaciones estudiadas..... | 87 |
| 3. Metodología experimental..... | 93 |
| 3.1 Análisis de orientación basada en el campo geomagnético..... | 97 |
| 3.2 Análisis de estímulos celestes y características de la luz sobre la orientación..... | 102 |
| 4. Metodología estadística..... | 105 |
| 4.1 Almacenamiento de la información..... | 105 |
| 4.2 Estadística circular..... | 107 |
| 4.3 Pruebas estadísticas empleadas en los análisis..... | 109 |

III. Mecanismos de orientación del tritón jaspeado (*Triturus marmoratus*) durante su migración reproductora.....113

| | |
|---|-----|
| 1. Migración reproductora del tritón jaspeado mediante el uso de un compás magnético dependiente de la luz..... | 115 |
| 1.1 Metodología..... | 115 |
| ▪ Orientación nocturna de regreso al hogar..... | 117 |
| ▪ Influencia de la luz sobre la orientación magnética..... | 119 |
| 1.2 Resultados..... | 121 |
| ▪ Orientación nocturna de regreso al hogar..... | 121 |
| ▪ Influencia de la luz sobre la orientación magnética..... | 126 |
| 2. Análisis preliminar de la capacidad de navegación del tritón jaspeado..... | 129 |
| 1.1 Metodología..... | 129 |
| 1.2 Resultados..... | 134 |
| 3. Discusión acerca de la orientación de regreso al hogar del tritón jaspeado | 138 |

IV. Mecanismos de orientación del tritón ibérico (*Lissotriton boscai*) durante su migración reproductora.....147

| | |
|--|-----|
| 1. Migración reproductora del tritón ibérico mediante el uso de un compás magnético dependiente de la luz..... | 149 |
| 1.1 Metodología..... | 149 |
| ▪ Orientación nocturna de regreso al hogar..... | 150 |
| ▪ Influencia de la luz y visión del cielo sobre la orientación magnética..... | 151 |
| 1.2 Resultados..... | 153 |
| ▪ Orientación nocturna de regreso al hogar..... | 153 |
| ▪ Influencia de la luz y visión del cielo sobre la orientación magnética..... | 158 |
| 2. Análisis preliminar de la capacidad de navegación del tritón ibérico | 161 |
| 2.1 Metodología..... | 161 |
| 2.2 Resultados..... | 164 |
| 3. Capacidad de navegación en una población de tritón ibérico en función de la localización geográfica..... | 166 |
| 3.1 Metodología..... | 167 |
| ▪ Orientación nocturna bajo campo magnético ambiental..... | 170 |
| ▪ Orientación diurna bajo campo magnético ambiental..... | 175 |
| ▪ Orientación bajo campo magnético alterado..... | 179 |
| 3.2 Resultados..... | 182 |
| ▪ Orientación nocturna bajo campo magnético ambiental..... | 182 |
| ▪ Orientación diurna bajo campo magnético ambiental..... | 188 |
| ▪ Orientación bajo campo magnético alterado..... | 196 |
| 4. Discusión acerca de la orientación de regreso al hogar del tritón ibérico..... | 202 |

| | |
|---|---------|
| V. Orientación respecto al eje-Y en el tritón ibérico (<i>Lissotriton boscai</i>) | 223 |
| 1. Aprendizaje y orientación respecto al eje-Y a lo largo del desarrollo de <i>L. boscai</i> : papel del campo geomagnético | 226 |
| 1.1 Metodología..... | 226 |
| ▪ Protocolo general de entrenamiento y ensayos..... | 226 |
| ▪ Orientación magnética respecto al eje-Y en larvas y premetamórficos..... | 230 |
| ▪ Orientación magnética respecto al eje-Y en tritones adultos: aprendizaje rápido del eje-Y..... | 232 |
| 1.2 Resultados..... | 234 |
| ▪ Orientación magnética respecto al eje-Y en larvas y premetamórficos..... | 234 |
| ▪ Orientación magnética respecto al eje-Y en tritones adultos: aprendizaje rápido del eje-Y..... | 241 |
| 2. Efecto directo de la longitud de onda de la luz sobre el compás magnético de larvas de tritón ibérico..... | 247 |
| 2.1 Metodología..... | 247 |
| 2.2 Resultados..... | 250 |
| 3. Sensibilidad a la luz polarizada en el tritón ibérico y su uso en la orientación respecto al eje-Y..... | 261 |
| 3.1 Metodología..... | 261 |
| 3.2 Resultados..... | 267 |
| 4. Discusión acerca de la orientación respecto al eje-Y en el tritón ibérico..... | 269 |
| 4.1 Aprendizaje y orientación respecto al eje-Y a lo largo del desarrollo de <i>L. boscai</i> : papel del campo geomagnético | 271 |
| 4.2 Efecto directo de la longitud de onda de la luz sobre el compás magnético de larvas de tritón ibérico..... | 274 |
| 4.3 Sensibilidad a la luz polarizada en el tritón ibérico y su uso en la orientación respecto al eje-Y..... | 283 |
| VI. Conclusiones | 289 |
| VII. Referencias | 296 |
| <i>Agradecimientos</i> | 324 |



Sierra de Quilamas. Valero de la Sierra

I

ASPECTOS GENERALES





I - ASPECTOS GENERALES

1. Introducción

Las precisas habilidades de orientación espacial de los animales han despertado la curiosidad y el interés científico desde hace siglos. En las últimas décadas, las investigaciones acerca de los mecanismos y conductas de orientación empleados por las distintas especies han experimentado un gran auge, auspiciadas por innovaciones tecnológicas y metodológicas y por el descubrimiento de nuevas capacidades sensoriales (ABLE, 1980; PAPI, 1992; ABLE, 1995; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1993; PAPI, 2001; GOULD, 2004; BINGMAN & CHENG, 2005).

La gran mayoría de las investigaciones sobre los mecanismos de orientación espacial se han centrado hasta fechas recientes en especies animales que recorren largas distancias en sus migraciones, siendo tradicionalmente las aves el grupo de estudio preferido, debido a la vistosidad y magnitud de sus migraciones (DINGLE, 1996; ALERSTAM *et al.*, 2003; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003; BINGMAN & CHENG, 2005). Sin embargo, independientemente de la existencia o no de comportamientos migratorios, todos los animales han de afrontar tareas de orientación espacial a lo largo de su vida, ya sea para moverse eficazmente dentro de su territorio, para regresar a algún tipo de “hogar” (nido, refugio o sitio de reproducción) o para realizar conductas de exploración, búsqueda de alimento o dispersión (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1993).

En los últimos años, las investigaciones en este campo se han diversificado incluyendo como objetos de estudio gran variedad de especies y grupos animales (DIEGO-RASILLA, 2004). Trabajos recientes han demostrado que los anfibios pueden ser también modelos excelentes para comprender los distintos aspectos y mecanismos de orientación espacial (RUSSELL *et al.*, 2005; SINSCH, 2006). La mayoría de las especies de anfibios de latitudes templadas realizan verdaderas migraciones, destacando entre éstas los movimientos de adultos desde los medios terrestres hasta las masas de agua donde se reproducen. Asimismo, otros tipos de movimientos dentro de los propios medios acuáticos, o territorios fuera del agua, presentan también una gran importancia para la vida de larvas y anfibios adultos (SINSCH, 1991, POUGH *et al.*, 2004). Por lo tanto, una



buena capacidad de orientación espacial resulta un factor fundamental para la supervivencia de los anfibios, lo que ha originado la existencia de precisos sistemas de orientación y navegación en estos animales (SINSCH, 1992, RUSSELL *et al.*, 2005; SINSCH, 2006).

Los comportamientos y mecanismos de orientación de los anfibios urodelos no son aún plenamente comprendidos y el conocimiento actual se limita prácticamente a los resultados obtenidos en especies americanas, fundamentalmente en salamandras del género *Ambystoma* (TAYLOR, 1972; TOMSON, 1972; ADLER & TAYLOR, 1973; TAYLOR & ADLER, 1973; ADLER, 1976; MADISON, 1998) y en el tritón *Notophthalmus viridescens* (PHILLIPS, 1986a, b; PHILLIPS & BORLAND, 1992, 1994; PHILLIPS *et al.*, 1995; OMLAND, 1998; DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999a; FISCHER *et al.*, 2001; PHILLIPS *et al.*, 2002; SCHLEGEL, 2007). En el caso de las especies de tritones europeas, los mecanismos sensoriales implicados en las distintas conductas de orientación son en general desconocidos y sólo recientemente han recibido cierta atención (JOLY & MIAUD, 1989, 1993; DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2002; DIEGO-RASILLA, 2003; DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2004a, b; DIEGO-RASILLA *et al.*, 2005; DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2007; SCHLEGEL & RENNER, 2007; SINSCH, 2007; DIEGO-RASILLA *et al.*, 2008).

Las conductas y patrones de orientación seguidos por el tritón ibérico, *Lissotriton boscai* (Lataste, 1879), y el tritón jaspeado, *Triturus marmoratus* (Latreille, 1800), son prácticamente desconocidos a pesar de ser dos de los urodelos más comunes en la fauna ibérica (GARCÍA-PARÍS *et al.*, 2004). Así, la mayor parte de las investigaciones realizadas sobre el comportamiento de orientación del tritón jaspeado se reducen a estudios descriptivos de direcciones de migración o dispersión (HUELE & ARNTZEN, 2000; JEHLE, 2000; MARTY *et al.*, 2005) o movimientos de individuos en cautividad (FONTANET, 1991; ROBALO & ALMADA, 2002), mientras que el análisis de los mecanismos y tipo de estímulos sensoriales empleados en esos comportamientos de orientación sólo ha comenzado a abordarse en dos trabajos recientes (DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2002; DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2004b). Por su parte, los datos disponibles acerca de las conductas de orientación del tritón ibérico son aún más escasos (únicamente estudios acerca de posiciones tomadas por tritones en cautividad dentro de acuarios o terrarios, FONTANET, 1986; ARAGÓN *et al.*, 2000) y hasta la fecha no se ha realizado ningún estudio exhaustivo sobre los mecanismos de orientación empleados por dicha especie.



Por lo tanto, ante la falta de información disponible acerca de los patrones de orientación empleados por estas dos especies (*L. boscai* y *T. marmoratus*), el presente trabajo se planteó como un estudio etológico acerca del comportamiento básico de orientación de ambas especies, con el objetivo de desentrañar cuáles son los mecanismos y estímulos sensoriales utilizados por los tritones en sus principales movimientos orientados. De forma adicional, el estudio de las conductas de orientación espacial de los tritones no sólo es interesante desde el punto de vista de la ecología del comportamiento, sino que también puede resultar importante a la hora de diseñar estrategias encaminadas a la conservación de estas especies (SUTHERLAND, 1998; MARSH & TRENHAM, 2001). Así, en este estudio consideramos prioritario el análisis de los mecanismos de navegación utilizados por los tritones jaspeados e ibéricos adultos durante sus migraciones desde los hábitats terrestres hacia los medios acuáticos de reproducción, debido a la importancia de dicha conducta en el ciclo biológico de ambas especies (SINSCH, 1992; GARCÍA-PARÍS *et al.*, 2004). Para ello, se ha llevado a cabo un estudio experimental, siguiendo protocolos en su mayoría ya contrastados para otras especies de anfibios (PHILLIPS, 1986b; PHILLIPS *et al.*, 1995; FREAKE *et al.*, 2002; DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2002; DIEGO-RASILLA *et al.*, 2005) y poniendo especial énfasis en el análisis de aspectos poco estudiados y desconocidos, tales como la capacidad de orientación utilizando el campo magnético terrestre (PHILLIPS, 1986a; PHILLIPS *et al.*, 1995; FISCHER *et al.*, 2001; DIEGO-RASILLA, 2003; DIEGO-RASILLA *et al.*, 2005, 2008). Finalmente, de forma adicional al estudio de los mecanismos de orientación utilizados en las migraciones reproductoras de ambas especies, se ha realizado un análisis en profundidad de las bases sensoriales y mecanismos que regulan otro tipo de conducta, como es la llamada orientación respecto al eje-Y (orientación de larvas y anfibios adultos dentro de los propios medios acuáticos en relación a la orilla, ver sección 2.2). Utilizando el tritón ibérico como modelo de estudio, se ha investigado a fondo el papel de los distintos estímulos ambientales en el sistema de orientación de los urodelos, analizando así las bases sensoriales del sentido de magnetorrecepción o la percepción del patrón de polarización de la luz (ABLE, 1980).



2. Orientación espacial en anfibios: conceptos y terminología básica

Los términos relativos a los distintos conceptos y mecanismos de orientación espacial son a veces empleados de forma equívoca en la literatura, debido a las dificultades que implica la formulación de definiciones rígidas y precisas en este campo y a los diferentes enfoques (psicológicos, fisiológicos, etológicos, físicos...) desde los que se puede considerar este área de investigación (ABLE, 1980). Por lo tanto, se hace necesaria una clarificación previa de la terminología empleada.

Podemos definir la **orientación espacial** como el proceso mediante el cual un individuo es capaz de mantener la posición de su cuerpo formando un cierto ángulo con respecto a una determinada señal o estímulo externo. De acuerdo a esta definición, este concepto englobaría todos aquellos mecanismos destinados a determinar la posición de un animal dentro de su entorno (RODRIGO, 2002). Si vamos un paso más allá a partir del concepto de orientación y consideramos el desplazamiento o movimiento direccional entre varios puntos, nos encontraríamos con el término “**navegación**”, definido por GALLISTEL (1990) como “el proceso que permite que un rumbo o trayectoria desde un lugar a otro pueda ser identificado y mantenido” durante un movimiento. Por su parte, ÅKESSON & HEDENSTRÖM (2007) establecen una separación similar entre “orientación” y “navegación”, englobando en la primera toda la serie de mecanismos necesarios para determinar o localizar una posición o dirección, mientras que consideran que el vocablo “navegación” únicamente debe aplicarse a procesos en los que se da un movimiento del animal (manteniendo el rumbo o posición establecida mediante mecanismos de orientación). Finalmente, de acuerdo con GOULD (2004), la capacidad de navegación exitosa no es equivalente a un simple proceso de orientación, sino que, al tratarse de un movimiento dirigido, implica el procesamiento de señales sensoriales para determinar la dirección, y puede que también la distancia, del desplazamiento que se quiere seguir.

La existencia de mecanismos que permitan un control adecuado de la orientación y la navegación es, obviamente, un requisito fundamental para aquellas especies que realizan largas o exigentes migraciones (ALERSTAM *et al.*, 2003; ÅKESSON & HEDENSTRÖM, 2007). Por otra parte, la mayoría de los animales no migradores también navegan entre cortas distancias o necesitan orientarse durante el curso de sus actividades



diarias. Por lo tanto, no es de extrañar que la selección natural haya favorecido la aparición de variados sistemas de orientación, al ser fundamentales para la supervivencia y el éxito reproductor de los individuos de distintas especies (RODRIGO, 2002). En el caso de los anfibios, éstos precisan de mecanismos que les ayuden a orientarse y navegar en dos grandes tipos de movimientos que llevan a cabo. Por un lado, la mayoría de especies de anfibios de nuestras latitudes son animales migradores, ya que realizan movimientos entre medios terrestres y lugares acuáticos de reproducción, por lo que necesitan algún mecanismo de navegación que les permita encontrar de forma precisa su punto de destino. En segundo lugar, los anfibios también necesitan moverse de forma eficiente dentro de sus medios acuáticos para realizar sus actividades diarias, por lo que permanentemente se enfrentan a problemas de orientación de menor escala (lugares de búsqueda de alimento, refugio, termorregulación...) (SINSCH, 1992).

2.1 Migraciones y orientación de regreso al hogar en anfibios

Entre los distintos mecanismos de orientación espacial y navegación, la llamada capacidad de regreso a un territorio conocido (el llamado comportamiento de **regreso al hogar** o al lugar habitual) ha sido la que mayor cantidad de estudios e investigaciones ha suscitado. Esta habilidad de volver a un área definida, o de orientación hacia destinos específicos, está presente en muchas especies animales (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1993), implica la existencia de un buen mecanismo de navegación y posee una evidente importancia biológica, especialmente en aquellas especies que realizan migraciones y deben localizar sin error sus lugares de destino.

De acuerdo al criterio de DINGLE (1980), podemos considerar como **migración** “cualquier comportamiento especializado que haya evolucionado especialmente para permitir el desplazamiento del individuo en el espacio”. Esta definición generalista se encuentra próxima a la dada por BAKERS (1978), según la cual migraciones serían todos aquellos movimientos predecibles desde un territorio a otro o desde una unidad espacial a otra. Ambas definiciones reconocen la enorme heterogeneidad existente en comportamientos migratorios, ya que el proceso migratorio ha evolucionado independientemente en muchos grupos animales y es muy variable entre especies. Sin embargo, los distintos movimientos migratorios comparten una serie de características,



entre las que se encuentra la bidireccionalidad del movimiento; es decir, a diferencia de los procesos de dispersión, siempre se da un regreso a la localización original de inicio del desplazamiento. De forma adicional, estos movimientos bidireccionales tienen que cumplir otros requisitos para ser considerados verdaderas migraciones, como implicar un movimiento del animal más allá de las fronteras de su territorio habitual (RUSSELL *et al.*, 2005). Así, la primera definición de “migración verdadera”, dada por THOMSON (1926) considera como tal “aquellos cambios de hábitat, periódicamente recurrentes y de dirección alterna, que tienden a asegurar condiciones ambientales óptimas en todo momento”.

Tal como sugiere la definición de Thomson, los movimientos migratorios están estrechamente conectados con las condiciones ambientales y la disponibilidad de recursos, ya que, como norma general, la migración surge como una adaptación específica para explotar picos o evitar depresiones estacionales en los distintos recursos utilizados por un animal (ALERSTAM *et al.*, 2003). Es decir, los comportamientos migratorios suelen estar asociados a hábitats no permanentes o ambientes estacionales, en los cuales la disponibilidad de recursos fluctúa con el tiempo (DINGLE, 1996). Un animal no migrará si puede adquirir todos los recursos que requiere sin abandonar su territorio o área de campeo habitual, pero, en cambio, se podrá desencadenar un movimiento migratorio en respuesta a cambios estacionales y predecibles en la calidad del hábitat, con el objetivo de poder explotar recursos separados espacial o temporalmente (siempre que los beneficios del movimiento sobrepasen los costes de la migración; RUSSELL *et al.*, 2005). De esta forma, los organismos utilizan las migraciones para eludir condiciones del hábitat temporalmente desfavorables y así aprovechar de manera más eficaz los recursos disponibles en cada localización (DINGLE & DRAKE, 2007).

Debido a sus peculiaridades biológicas, el agua suele ser un recurso limitante para los anfibios y la gran mayoría de las especies poseen ciclos biológicos en los que se alternan fases acuáticas (correspondientes a los estados larvarios) y terrestres. La dependencia de fuentes de agua para la reproducción, unida a una estacionalidad en la distribución de precipitaciones (con las consiguientes fluctuaciones en la disponibilidad del agua), tiene como consecuencia que la mayoría de especies de anfibios de zonas templadas posean ritmos migratorios estrechamente asociados con movimientos hacia y



desde los medios acuáticos de reproducción o desove (RUSSELL *et al.*, 2005). Entre estos movimientos migratorios destacan por su importancia las migraciones estacionales de los anfibios adultos entre lugares de refugio terrestre o sitios de invernada y los medios acuáticos de reproducción.

Estas migraciones reproductivas se realizan en muchos casos de forma sincronizada y suelen comenzar de noche, estando normalmente desencadenadas por cambios climatológicos que indican el comienzo de la temporada reproductiva (meses de primavera u otoño en nuestras latitudes; GARCÍA-PARÍS *et al.*, 2004). Así, la precipitación suele ser el principal factor ambiental que desencadena la migración de la mayoría de especies de anfibios, aunque el descenso en la presión atmosférica en ausencia de precipitación también puede ser un factor determinante. Otros factores, como la temperatura ambiental, también pueden tener importancia, dependiendo de especies y poblaciones (POUGH *et al.*, 2004; RUSSELL *et al.*, 2005). Aunque la mayoría de anfibios realizan este tipo de migraciones, el patrón de éstas no es siempre consistente dentro de poblaciones, ya que la migración en estos animales puede ser una estrategia condicionada a determinados factores. Por ejemplo, en algunas especies encontramos casos de migraciones parciales, en las que algunos individuos de la población migran y otros no, estando esto relacionado con los recursos disponibles. Así, si un lugar concreto tiene todos los recursos que un anfibio necesita para sobrevivir, tales como comida y sitios acuáticos de reproducción con condiciones adecuadas, no será necesario gastar energía migrando (RUSSELL *et al.*, 2005). Por otra parte, entre los anfibios también es bastante común la variación entre los patrones de migración de machos y hembras dentro de una misma especie y población (“migración diferencial”). En varias especies de anfibios urodelos se ha constatado que los machos tienden a migrar antes que las hembras, ya que parecen tener un umbral más bajo de sensibilidad a las señales ambientales y migran tan pronto como se reúnen las condiciones ambientales mínimas desencadenantes de la migración. Las hembras, por otro lado, sólo migran cuando las condiciones ambientales se han estabilizado de forma que el riesgo implicado en el movimiento migratorio sea mínimo (DOUGLAS, 1979). Estas diferencias en los patrones migratorios de machos y hembras pueden relacionarse con las diferentes estrategias reproductivas de cada sexo, ya que las hembras son un recurso limitante al éxito reproductor de los machos, lo que obliga a estos a llegar al lugar de cría lo más pronto posible con el objetivo de aumentar su éxito reproductor al asegurarse su presencia



cuando las hembras lleguen. De forma opuesta, las hembras no necesitan normalmente competir por el acceso a los machos, lo que les posibilita llegar más tarde a los medios acuáticos a cambio de viajar cuando las condiciones ambientales son más estables y seguras (RUSSELL *et al.*, 2005).

Considerando las peculiaridades señaladas, las migraciones reproductoras de los anfibios pueden considerarse en cualquier caso como verdaderas migraciones, de ida y vuelta y estacionales (ya que están sincronizadas con el ciclo anual). Asimismo, al igual que la mayoría de vertebrados, los anfibios se clasifican como “migrantes iteróparos”, ya que los periodos de migración de los estados reproductor y no reproductor del ciclo biológico se repiten cada año (RUSSELL *et al.*, 2005). Sin embargo, el comportamiento migratorio de los anfibios presenta limitaciones mayores que el de otros vertebrados, debido principalmente a la alta permeabilidad de su tegumento, lo que les hace altamente susceptibles a la pérdida de agua. Por esa razón, las migraciones de los anfibios están limitadas a periodos muy húmedos o bien se llevan a cabo con paradas de rehidratación frecuentes. Además, la ectotermia de los anfibios también restringe las migraciones a un estrecho rango de condiciones ambientales (SINSCH, 1990a, 1991). Por lo tanto, la distancia recorrida por la mayoría de especies de anfibios en sus migraciones, al tener que ser proporcional a la probabilidad de supervivencia, no suele ser muy larga, debido al peligro que entraña la exposición a largos desplazamientos fuera del agua y a las limitaciones locomotrices propias de estos animales. Así, las distancias de migración son relativamente cortas tanto en anuros como en urodelos, siendo el mayor movimiento detectado para una especie de anfibio el correspondiente a una población austriaca de *Rana lessonae* y otra de *R. esculenta* (SINSCH, 1990a), en la cual algunos individuos recorrieron hasta 15 kilómetros entre sus lugares de hibernación y sus zonas de reproducción. Sin embargo, las distancias migratorias para la mayoría de los anuros raramente exceden los 1.500 metros, y en el caso de las especies de urodelos la mayoría se mueve en distancias aún menores, en general de menos de 500 metros (SINSCH, 1992; RUSSELL *et al.*, 2005).

A pesar de la poca distancia recorrida en las migraciones, la importancia de localizar sin error la charca o el medio acuático del que se trate es máxima, puesto que condiciona la supervivencia y el éxito reproductor del individuo. Así, en la mayoría de especies de anfibios la selección natural ha producido animales que muestran una gran



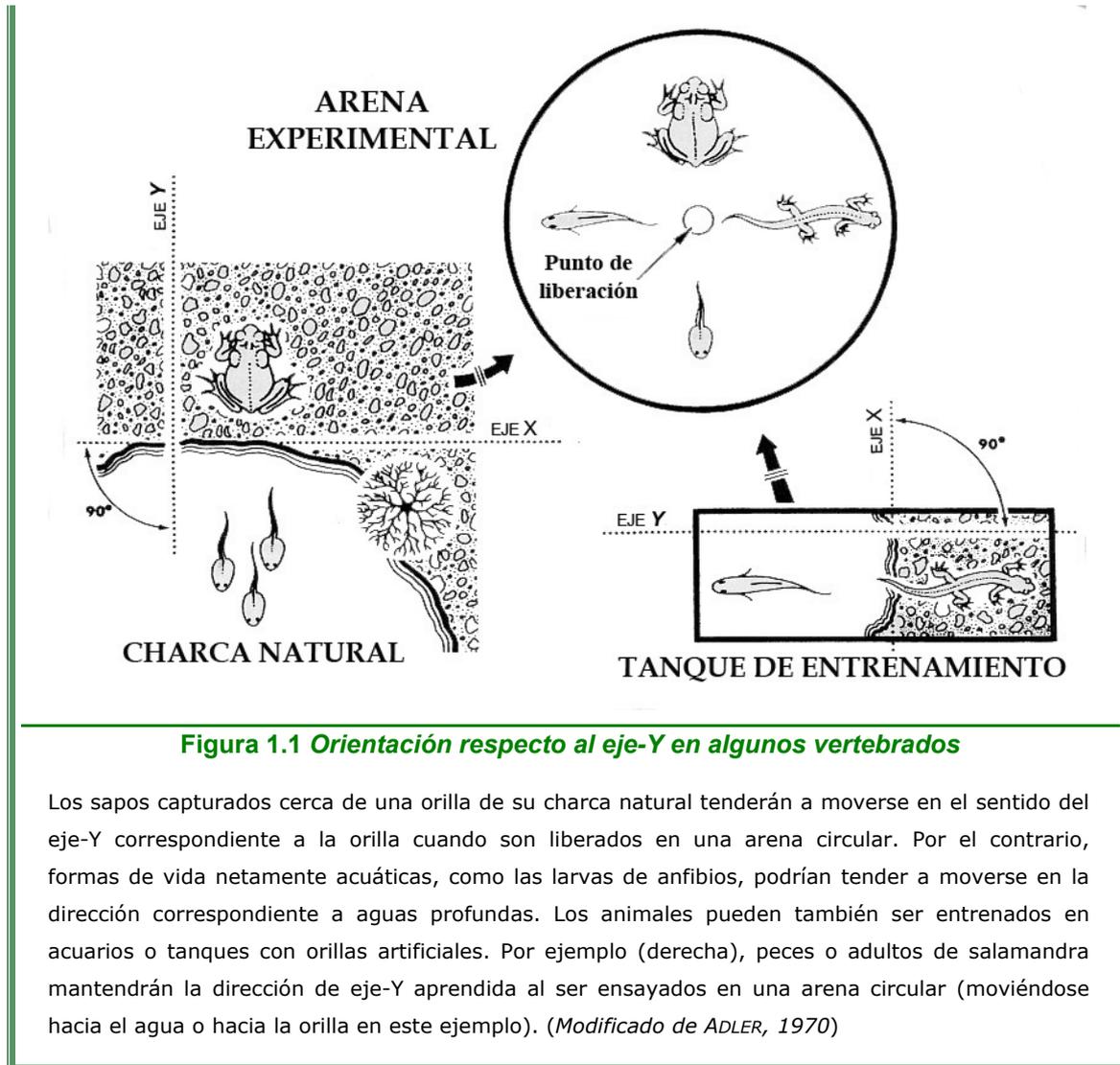
fidelidad hacia medios acuáticos de reproducción concretos, siendo capaces de volver año tras año a reproducirse a la misma charca o al mismo tramo de arroyo (MARVIN, 2001; POUGH *et al.*, 2004), aún incluso después de que ese lugar haya desaparecido (TWITTY *et al.*, 1967). Este comportamiento de filopatría es muy común en especies animales en las que la reproducción implica agrupamiento y está bien documentado en tritones y otros urodelos (TWITTY, 1966; JOLY & MIAUD, 1989; HUELE & ARNTZEN, 2000; MALMGREN, 2002), indicando la existencia de una buena habilidad de navegación y orientación de regreso al hogar en estos animales, probada en diversas especies incluso tras desplazamientos a grandes distancias (TWITTY, 1966; PHILLIPS *et al.*, 2002; DIEGO-RASILLA *et al.*, 2005, 2008). Las razones de esta filopatría extrema no son totalmente conocidas, pero, puesto que muchas especies se reproducen en charcas temporales, la fidelidad por un mismo sitio de cría puede ser una garantía de éxito reproductor. La selección natural favorece la aparición de mecanismos de orientación, ya que aquellos individuos adultos con mejores habilidades de navegación realizarán migraciones más seguras, teniendo por tanto mayores posibilidades de obtener un éxito reproductor máximo. Por el contrario, los individuos que no sean capaces de encontrar de modo preciso el camino a la charca, o deambulen dispersándose al azar, se verán expuestos a mayor riesgo de depredación y gastarán más recursos en su búsqueda, llegando probablemente a las charcas con menor potencial reproductor (ABLE, 1980). De forma adicional, la habilidad de regresar al hogar, al permitir a los animales regresar a un área fiable, puede ayudar a la estabilización de la distribución de una población, haciendo descender la competencia entre individuos (SINSCH, 1990a). Por todo esto, es lógico pensar que los distintos mecanismos de orientación espacial evolucionaron en paralelo con el comportamiento de migración y que estos mecanismos de orientación de regreso al hogar estén más desarrollados en especies con presiones selectivas que favorezcan esta habilidad, como es el caso de los anfibios urodelos en general (RUSSELL *et al.*, 2005) y de las especies de tritón estudiadas en este trabajo en particular (GARCÍA-PARÍS *et al.*, 2004).



2.2 Orientación respecto al eje-Y en anfibios

Aparte de los movimientos migratorios estacionales entre medios terrestres y acuáticos, los anfibios realizan movimientos locales, de menor escala, pero no exentos de importancia. Entre ellos, los desplazamientos dentro de los propios hábitats acuáticos han sido objeto tradicional de diversos estudios (ABLE, 1980). Dentro de estos medios acuáticos los anfibios realizan movimientos entre zonas de distinta batimetría, orientándose hacia las orillas o hacia las zonas de mayor profundidad de agua. Este tipo de movimientos (entre orillas y zonas de distinta profundidad de agua) han sido denominados con el término “orientación respecto al eje-Y”, acuñado por FERGUSON & LANDRETH (1966). Estos autores definieron el *eje Y* como “la línea o rumbo de compás perpendicular a la línea formada por la orilla” (denominada como *eje X*; figura 1.1).

Los movimientos a lo largo de esa línea o eje, orientados bien hacia la orilla (es decir, hacia tierra) o bien hacia zonas de aguas profundas en el interior de la charca, poseen una gran importancia en la ecología de los anfibios. El movimiento preferente de un anfibio hacia un extremo u otro del eje-Y depende de varios factores, como la especie en concreto de que se trate o el estadio del ciclo biológico en el que se encuentre el animal. Así, por ejemplo, las zonas más profundas de una charca u otro tipo de medio acuático pueden ser usadas como refugios por parte de las larvas de anfibios o adultos en fase acuática (para huir de los depredadores o para amortiguar variaciones de temperaturas). Mientras, un movimiento hacia las proximidades de la orilla puede significar la búsqueda de alimento, el impulso de partida de migraciones, o la dispersión de individuos juveniles y adultos hacia zonas terrestres (FREAKE *et al.*, 2002). Además, la temperatura más elevada del agua en las orillas contribuye a incrementar el ritmo de desarrollo de las larvas (GRILLAS *et al.*, 2004; POUGH *et al.*, 2004). No es de extrañar, por tanto, que los anfibios posean mecanismos de orientación que les permitan aprender a orientarse a lo largo del eje-Y propio de sus medios acuáticos, puesto que resulta un punto de referencia fundamental (figura 1.1). Así, en distintas especies de anfibios se han descrito varios tipos de sentidos de brújula o compás (ver sección 4) utilizados para orientarse y aprender direcciones de eje-Y naturales o artificiales (SINSCH, 2006).



3. Tipos de mecanismos de orientación espacial

La diversidad de mecanismos sensoriales y estrategias conductuales que pueden ser utilizados por las distintas especies animales en sus tareas de orientación espacial y navegación es muy amplia (KEETON, 1974; ABLE, 1980; PAPI, 1992; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003). Uno de los primeros intentos de clasificar estos mecanismos fue llevado a cabo por Griffin en los años 50 (GRIFFIN, 1952a, b, 1955), basándose en experimentos llevados a cabo con palomas mensajeras (*Columba livia f. domestica*, una especie tradicional de estudio en este campo al estar domesticada desde hace más de 4.000 años y poseer conocidas habilidades de regreso al hogar). Esta clasificación, que aún sigue teniendo bastante aceptación hoy en día, dividía las estrategias de orientación



espacial en tres grandes tipos de acuerdo a su complejidad. Así, el Tipo I de la clasificación de Griffin se refería a los mecanismos de navegación más básicos o el llamado “pilotaje”, que permiten una orientación satisfactoria mediante el mantenimiento de algún tipo de contacto sensorial (estímulos familiares, como olores, sonidos o estructuras visuales del territorio) con el punto de destino durante el movimiento. Por otra parte, la navegación Tipo II se aplicaría a aquellos animales que poseen un sentido de brújula o compás que les permite establecer una dirección de desplazamiento fija en base a un factor externo (como el sol u otro tipo de brújulas celestes y magnéticas -ver sección 4-) y posteriormente ser capaces de invertir ese rumbo en el viaje de retorno. Por último, Griffin consideró una orientación Tipo III, que englobaría todas aquellas habilidades de navegación que no pueden explicarse únicamente mediante mecanismos de pilotaje o brújula (GRIFFIN, 1955).

Aunque el sistema propuesto por Griffin permitió una primera clasificación de los comportamientos de orientación animal, también ha sido objeto de críticas por algunos autores (KEETON, 1974; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003), que lo consideran insuficiente para describir de forma adecuada la variedad y complejidad de conductas existentes en las distintas especies animales. En el presente trabajo se ha decidido, por tanto, emplear una clasificación más moderna y precisa, derivada de la sugerida por PAPI (1992) y que considera los mecanismos de orientación detallados a continuación:

3.1 “Seguimiento de un rastro”

Este comportamiento de orientación se define como el fenómeno por el cual un animal es capaz de encontrar el camino de regreso al hogar, o de orientación hacia un punto de destino, gracias a la percepción de estímulos familiares emanados del propio lugar de destino. Sería, por lo tanto, un mecanismo equivalente al **pilotaje** (Tipo I de Griffin) en el que no es necesario obtener información acerca de la trayectoria seguida durante el desplazamiento, ya que siempre hay un contacto sensorial directo con la meta o punto de destino (SINSCH, 2006). Los estímulos familiares originados en el punto de destino y utilizados como guía pueden ser tanto visuales (marcas o estructuras prominentes del terreno empleadas como referencias), como no visuales, siendo estos últimos los que parecen tener más importancia en las conductas de pilotaje o



balizamiento de los anfibios (RUSSELL *et al.*, 2005). Así, se ha comprobado el papel de los olores y sonidos familiares procedentes de la charca de reproducción en el comportamiento de regreso al hogar de varias especies de urodelos (GRANT *et al.*, 1968; JOLY & MIAUD, 1989, 1993; DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2004, 2007; PUPIN *et al.*, 2007) y anuros (GRUBB, 1973; SINSCH, 1987; SINSCH, 1992b). En cualquier caso, este tipo de mecanismo de orientación se realiza siempre independientemente de referencias externas que no sean estímulos familiares del territorio conocido por el animal y, por consiguiente, para el caso de los anfibios únicamente es útil en las cercanías de la charca, ya que la fiabilidad de este tipo de gradientes como pista direccional decrece fuertemente con la distancia (SINSCH, 2006). Por lo tanto, si un animal cuyos mecanismos de orientación se basen únicamente en el pilotaje es liberado en territorio desconocido, éste sólo podrá regresar al hogar mediante una conducta de búsqueda o exploración aleatoria o sistemática, hasta llegar a contactar con los estímulos conocidos de su territorio (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003).

3.2 “Orientación basada en la ruta”

De acuerdo a PAPI (1992), los mecanismos de orientación basados en información derivada de trayectorias de desplazamiento se pueden subdividir en tres tipos: “inversión de la ruta”, “inversión de la dirección” e “integración de trayectorias”.

- Inversión de la ruta

Este mecanismo de orientación se basa en el uso de una secuencia de referencias visuales, con la posible memorización de relaciones espaciales entre ellas. Esta inversión de la ruta es equivalente, por tanto, a la primera definición de pilotaje (orientación Tipo I) dada por Griffin, que describió originalmente ese mecanismo como un reconocimiento visual de estructuras prominentes del terreno familiar en el que se mueve el animal (GRIFFIN, 1952a). La capacidad de regresar al hogar siguiendo rutas estereotipadas basadas en secuencias de paisajes familiares ha sido estudiada en varias especies de anfibios (DOLE, 1965; HEUSSER, 1969; PLASA, 1979; ADLER, 1980). Sin embargo, este tipo de orientación requiere un alto grado de familiaridad y conocimiento del territorio (SINSCH, 2006) y ha sido criticada por algunos autores como un concepto teórico difícilmente aplicable a casos reales. Así, de acuerdo a WILTSCHKO & WILTSCHKO



(2003), ese tipo de pilotaje requeriría que el animal memorizara un número enorme de referencias visuales, así como las relaciones espaciales existentes entre ellas, por lo que, en conclusión, este tipo de navegación acabaría resultando un mecanismo más complejo y exigente que una verdadera navegación usando las referencias visuales junto a un sentido de compás (ver sección 3.3).

- Inversión de la dirección u orientación mediante compás

En este tipo de navegación, equivalente a la orientación Tipo II de la clasificación de Griffin, el animal mantiene un rumbo direccional fijo mediante el uso de una dirección de compás específica, determinada en este caso sin referencia a estructuras visuales del terreno (PAPI, 1992). A diferencia de los mecanismos de pilotaje, en este caso no hay tampoco ningún contacto sensorial directo con el punto de destino, por lo que la navegación precisa de un factor externo como referencia (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1993). Este factor externo que permite mantener un rumbo direccional (el llamado sentido de “compás” o de “brújula”) puede establecerse en base a distintos tipos de señales. En el caso de los anfibios se ha descrito el uso de diversos tipos de brújulas celestes (FERGUSON & LANDRETH, 1966; FERGUSON *et al.*, 1967; LANDRETH & FERGUSON, 1968; TAYLOR & FERGUSON, 1970; TAYLOR & ADLER, 1973; ADLER, 1976, DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2002) y magnéticas (PHILLIPS, 1977; PHILLIPS, 1986b; FREAKE *et al.*, 2002; DIEGO-RASILLA *et al.*, 2005, 2008; DIEGO-RASILLA & PHILLIPS, 2007), tanto en los comportamientos de orientación respecto al eje-Y como en la navegación de regreso al hogar (ver sección 4). El rumbo de compás a seguir durante una determinada conducta de orientación puede ser una dirección fija, predeterminada de forma innata (mantenimiento de una dirección de movimiento durante un periodo de tiempo o distancia específica con el objetivo de llegar al punto de destino) o bien aprenderse o registrarse durante el desplazamiento, permitiendo luego la inversión del rumbo seguido para poder regresar (BINGMAN & CHENG, 2005). En cualquier caso, el uso de un compás permite a un animal ser consciente en todo momento de la dirección en la que se mueve, pudiendo mantener esta incluso en territorio desconocido. Sin embargo, el uso de este mecanismo de navegación en territorio desconocido únicamente resulta en un regreso al hogar cuando la dirección de compás seguida conduzca al animal a territorio conocido, o directamente al punto de destino (ABLE, 1980).



- Integración de trayectorias

Mediante este procedimiento el animal registra la dirección y longitud de cada segmento de la trayectoria seguida en un desplazamiento, de tal manera que en todo momento conoce la distancia y dirección del punto de inicio del movimiento, pudiendo así inferir su posición relativa en el espacio respecto a este (WEHNER & WEHNER, 1986; SIEGRIST *et al.*, 2003). De esta forma, ya que el animal conoce su posición respecto al punto de origen de desplazamiento, puede volver a él de forma directa incluso aunque haya deambulado previamente por terrenos no familiares siguiendo circuitos sinuosos (COLLET *et al.*, 2007; figura 1.2). Para este proceso de “integración de trayectorias”, puede ayudarse de referencias externas o basarse en fuentes de información internas. En el primer caso (uso de un sentido de compás y/o estructuras prominentes del terreno como referencia para registrar distancias y direcciones), se habla de una integración de trayectorias ayudada por mecanismos alotéticos, mientras que el segundo caso corresponde a una integración de trayectorias “pura”, únicamente basada en información inercial autogenerada por el propio organismo (mecanismos idiotéticos) (RODRIGO, 2002).

La habilidad de regresar al origen de una determinada trayectoria en ausencia de estímulos externos ya fue observada por DARWIN (1873), que instauró el término “*dead reckoning*” para referirse a este proceso, sugiriendo que los animales podrían navegar utilizando información derivada de su propio movimiento, mediante el registro de las múltiples aceleraciones (lineales y angulares) experimentadas durante sus viaje de ida. En este caso, la integración de trayectorias se logra únicamente con el procesado e interpretación de señales propioceptivas y motoras (por ejemplo, las registradas en el aparato vestibular; MATTHEWS, 1951; MACNAUGHTON *et al.*, 2006), tal y como se ha estudiado en diversas investigaciones de laboratorio, llevadas a cabo fundamentalmente con insectos WEHNER & WEHNER, 1986; BISCH-KNADEN & WEHNER, 2001; CHIANDETTI *et al.*, 2006) y mamíferos (BARLOW, 1996; FISET & DORÉ, 1996; ETTIENE *et al.*, 1996, 1998; FISET *et al.*, 2007). En el caso de los anfibios, la integración de trayectorias sólo ha sido estudiada en el tritón *Taricha torosa* (ENDLER, 1970), donde parece estar implicada en el mantenimiento de un rumbo directo de regreso al hogar. En estas investigaciones, los animales se muestran capaces de realizar tareas sencillas de navegación basándose en información inercial (por ejemplo, movimientos de retorno tras



un desplazamiento corto; figura 1.3). Sin embargo, se ha comprobado que una integración de trayectorias de este tipo, en ausencia de referencias externas, tiene serias limitaciones, al producir inevitablemente errores tanto aleatorios como de tipo sistemático en la estimación de distancias y ángulos (GOULD, 2004). Estos errores, acumulativos y que aumentan con la distancia recorrida, hacen que el uso de una integración de trayectorias independiente de referencias externas se restrinja a tareas de orientación dentro del territorio conocido por el animal y en movimientos a lo largo de distancias cortas. Así, una referencia direccional externa es siempre necesaria para la navegación a largas distancias (MORITZ *et al.*, 2007). En cualquier caso, sea cual sea la distancia recorrida, la integración de trayectorias idiótéica es siempre una estrategia de navegación poco fiable en ausencia de estímulos externos, por lo que las referencias visuales del territorio conocido por el animal suelen incorporarse al sistema siempre que estén disponibles, adquiriendo éstas mayor importancia cuando las tareas de orientación son complejas (ETTIENE & SÉGUINOT, 1993; ETTIENE *et al.*, 1996, 1998; SIEGRIST *et al.*, 2003; COLLET & GRAHAM, 2004; CHIANDETI *et al.*, 2006; KNADEN & WEHNER, 2006). De esta manera, la cooperación entre la memorización visual de puntos de referencia y la información vectorial procedente de la integración de trayectorias permite a ciertos animales el desarrollo de una especie de mapa mental, o “mapa cognitivo” basado en relaciones geométricas, del espacio en el que se mueven (BIEGLER *et al.*, 1999; COLLET, 2000; KAMIL & CHENG, 2001; COLLET & GRAHAM, 2004; CHENG & NEWCOMBE, 2005; GRAY & SPETCH, 2006; MCNAUGHTON *et al.*, 2006; FISET *et al.*, 2007; HARRIS *et al.*, 2007).

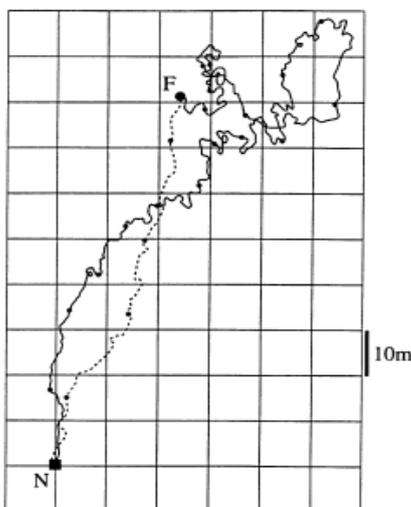


Figura 1.2 Integración de trayectorias tras una exploración en busca de comida

Al estimarse de forma continua la dirección y distancia de cada rama del viaje, el individuo conoce su posición relativa y es capaz de regresar al punto de partida de forma directa (siguiendo un atajo). Así, aunque se haya seguido una trayectoria de exploración sinuosa (línea sólida) se puede realizar un retorno directo al punto de partida (línea punteada).

(FUENTE: WEHNER, 1988)

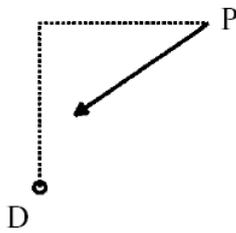


Figura 1.3 Integración de trayectorias con información procedente de propioceptores

El individuo es guiado siguiendo un desplazamiento en "L" (línea de puntos) en condiciones de ausencia de cualquier tipo de estímulo direccional. Tras ser liberado en el punto P, es capaz de volver al origen del movimiento (punto D) siguiendo una trayectoria de retorno recta o atajo. (FUENTE: ETTIENNE et al, 1996)

3.3 Navegación verdadera - Orientación de mapa y compás

En su intento de clasificación de los distintos mecanismos de navegación, GRIFFIN (1955) ya observó que algunas especies animales poseen habilidades de orientación que no pueden explicarse simplemente mediante la existencia de mecanismos de pilotaje, brújula o información recolectada en la ruta. Estas estrategias de navegación, que Griffin únicamente pudo definir de forma negativa, incluyéndolas en su clasificación como "navegación tipo III" (GRIFFIN, 1955), se corresponden con el concepto más actual de "navegación verdadera", definido como la *capacidad de un animal para orientarse hacia su punto de destino al ser liberado en un territorio desconocido para él, en ausencia de estímulos familiares y tras ser desplazado sin posibilidad de acceso a ningún tipo de información o contacto sensorial con el entorno* (ABLE, 1980; PAPI, 1992; PHILLIPS, 1996). Esta definición sugiere, por tanto, un mecanismo de navegación muy sofisticado y complejo, únicamente probado hasta la fecha en unas pocas especies animales (DIEGO-RASILLA, 2004; PHILLIPS et al, 2005), entre ellas tres especies de urodelos, *Notophthalmus viridescens* (PHILLIPS et al., 1995), *Mesotriton alpestris* (DIEGO-RASILLA et al., 2005) y *Lissotriton helveticus* (DIEGO-RASILLA et al., 2008). Aunque esta definición no implica necesariamente la existencia de un mecanismo particular (ABLE, 1980), siempre requiere un sistema que integre varios factores externos como referencia, los cuales deben suministrar al menos dos tipos distintos de información (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003). Así, de acuerdo al conocimiento que actualmente poseemos de este mecanismo, los animales que realizan una verdadera navegación no sólo necesitan un sentido de dirección (o brújula) que



marque el rumbo a seguir, sino que, además, al ser capaces de orientarse tras ser liberados en territorio desconocido y sin posibilidad de acceder a información durante el desplazamiento, precisan también de otro sentido adicional que les indique su posición geográfica respecto al punto de destino. Esta concepción de la verdadera navegación equivaldría al modelo “**mapa y compás**” propuesto por KRAMER (1953, 1957) para aves, según el cual la navegación estaría compuesta por dos sentidos relacionados entre sí y utilizados en pasos diferentes y sucesivos. El primer paso consistiría en el establecimiento de la posición geográfica actual del animal, mediante el llamado sentido de “mapa de navegación”, con la consiguiente deducción de la posición relativa de su punto de destino. Tras consultar dicho mapa, el animal recurriría a un sentido de brújula o “compás” con el que determinar el rumbo o dirección específica a seguir en su movimiento para llegar a su destino (ABLE, 1980).

De forma paralela a esta concepción del sentido de mapa, derivada de los trabajos de Kramer, se han desarrollado, sin embargo, otras definiciones y enfoques que han complicado el panorama actual, al considerar el término “mapa” bajo muy diversos puntos de vista (BENNET, 1996; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003; PHILLIPS *et al.*, 2005b; LOHMANN & LOHMANN, 2006; MCNAUGHTON *et al.*, 2006.). Por otra parte, los intentos de llegar a una teoría unificada de la navegación de mapa y compás han tratado de integrar bajo el mismo concepto tanto aquellos mecanismos usados para guiar movimientos dentro de territorios conocidos por los animales como aquellos usados para regresar al hogar desde lugares no familiares (BENNET, 1996). Sin embargo, los resultados de estos intentos de unificación de criterios han sido en general poco satisfactorios, ya que el concepto de mapa ha venido siendo aplicado a mecanismos muy distintos de orientación, con diferencias fundamentales en el tipo de procesado de la información sensorial (PHILLIPS *et al.*, 2005b). Por lo tanto, aquí consideraremos por separado dos tipos de mapa de navegación, siguiendo el criterio de PAPI (1992) y ABLE (2000). Así, para determinar su posición geográfica relativa al punto de destino, los animales pueden guiarse por dos estrategias básicas: por un lado, utilizar información obtenida durante el desplazamiento; por otro, basarse en información específica de cada lugar mediante la detección de gradientes ambientales (WITSCHKO & WITSCHKO, 2003).



- Mapas de mosaico o mapas cognitivos

Como se ha mencionado previamente, un posible método para deducir la posición geográfica en un sistema de navegación es utilizar un mecanismo de integración de trayectorias en conjunción con el aprendizaje o memorización de una serie de puntos de referencia localizados en el entorno por el que se mueve normalmente un animal. En estas situaciones, el término “mapa de mosaico” define el conocimiento acerca de la posición y relaciones espaciales existentes entre dichas señales visuales de referencia (típicamente lugares prominentes del entorno, como rocas, ciertos tipos de vegetación, etc.), o parcelas del territorio con distinta calidad de estímulos (BINGMAN & CHENG, 2005). Este concepto de mapa de mosaico presenta, por tanto, propiedades idénticas al llamado “**mapa cognitivo**”, término muy empleado en el ámbito psicológico de la orientación espacial (O’KEEFE & NADEL, 1978; RODRIGO, 2002; JACOBS, 2003; CHENG & NEWCOMBE, 2005; MACNAUGHTON *et al.*, 2006) y establecido por primera vez por TOLMAN (1948), que lo definió como *una representación mental del territorio por el que se mueve un animal, la cual indica las rutas, trayectorias y relaciones espaciales que el animal usa para orientarse*. Según Tolman, dicho mapa cognitivo implicaría un mecanismo bastante sofisticado, regulado por el hipocampo en vertebrados (MACNAUGHTON *et al.*, 2006; PRAVOSUDOV *et al.*, 2006), y cuya característica distintiva es que permite al animal la posibilidad de crear nuevas rutas directas entre dos puntos cualesquiera de su territorio familiar gracias a la integración de trayectorias (ver sección 3.2).

Sin embargo, el término “mapa cognitivo” es considerado por diversos autores como un término confuso, impreciso y poco útil, ya que los psicólogos han acabado usándolo para definir una amplia variedad de conceptos, algunos de los cuales son nombrados de forma diferente en el ámbito zoológico (BENNET, 1996; BINGMAN & CHENG, 2005). Así, por ejemplo, se ha aplicado este mismo término a subtipos concretos de mapas de mosaico, tales como los “mapas de lugares”, basados en mecanismos de pilotaje y en los que los valores críticos para el cálculo de la posición son las direcciones a los puntos de referencia, o los “mapas de rumbos”, en los que el énfasis se pone en las relaciones geométricas entre los puntos de referencia y el punto de destino del movimiento (KAMIL & CHENG, 2001; PHILLIPS *et al.*, 2005b) (figura 1.4).

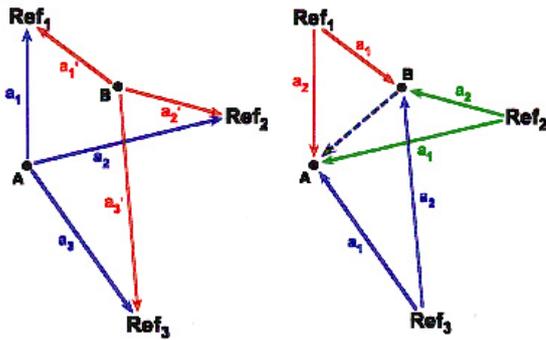


Figura 1.4 Ejemplos de mapas basados en relaciones geométricas entre “landmarks” o puntos de referencia.

Izquierda: Mapa de lugares

Derecha: Mapa de rumbos.

(A-B: posiciones de inicio de desplazamiento y punto de destino / Ref: puntos de referencia).

(FUENTE: PHILLIPS *et al.*, 2005)

En definitiva, obviando todas las definiciones y terminologías específicas, el mapa de mosaico puede considerarse de forma general como un mecanismo de navegación basado en el reconocimiento y memorización de puntos de referencia, a partir de los cuales se deduce, por el método que sea (integración de trayectorias, pilotaje, brújula...) la dirección a tomar (GOULD, 2004). Bajo un punto de vista más amplio, estos puntos de referencia, en principio definidos como marcas visuales, podrían también ser otro tipo de señales, como determinados valores geomagnéticos (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005; PHILLIPS *et al.*, 2005b) u olores (ABLE, 2000) que el animal encuentre dentro de su rango de movimiento habitual y que le sirvan para marcar y reconocer regiones específicas. En cualquier caso, al estar basados en señales locales, los mapas de mosaico únicamente tienen aplicación en movimientos a pequeña escala dentro del territorio familiar conocido por el animal, y, por lo tanto, según varios autores (BINGMAN & CHENG, 2005; PHILLIPS *et al.*, 2005b) no pueden estar implicados en mecanismos de navegación verdadera, en los que los animales son capaces de regresar a su hogar desde un territorio desconocido para ellos y sin tener posibilidad de acceder a puntos de referencia familiares ni a información acerca de la ruta seguida en el desplazamiento.

- Mapas de gradientes o mapas en cuadrícula

De acuerdo a la definición de navegación verdadera, por tanto, la información suministrada por el sentido de “mapa” no puede haber sido recogida durante el desplazamiento por procesos de orientación basada en la ruta, sino que ha de obtenerse



en el sitio de liberación del animal, por mucho que éste sea totalmente desconocido para él. Así, el punto clave en el funcionamiento de un mapa de navegación es que dicho mapa contenga información extrapolable, es decir, que pueda ser usada para estimar la posición geográfica incluso en territorios desconocidos, más allá del área de campeo del animal y en ausencia de puntos de referencia familiares (PHILLIPS, 1996; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003; PHILLIPS *et al*, 2005b). Esta importante característica no la cumplen los “mapas de mosaico” mencionados anteriormente, limitados a áreas de experiencia directa y únicamente válidos en lugares del territorio conocido por un animal. Por lo tanto, los únicos modelos de mapa capaces de explicar todos los comportamientos de navegación detectados en los animales son los denominados modelos de “**mapas de gradientes**”, que han cobrado notable relevancia en los últimos años (RODDA & PHILLIPS, 1992; PHILLIPS, 1996; BOLES & LOHMAN, 2003; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003; PHILLIPS *et al*, 2005b).

La implicación de este tipo de mapas en la navegación animal ya fue sugerida en el siglo XIX por VIGUIER (1882) y su funcionamiento se basa en la detección de uno o varios factores ambientales que varíen de forma continua en diferentes direcciones del espacio (“gradientes”). La utilización de este mapa requiere que el animal conozca el alineamiento (y posiblemente el grado de variación) de estos factores ambientales en la vecindad de su área de campeo o territorio, para luego poder extrapolar dichos gradientes incluso más allá del área que le es familiar. Así, la comparación del valor de un determinado factor del mapa en un lugar desconocido con el valor que toma esa variable en la zona que resulta familiar al animal (territorio, “hogar”, o punto de destino del movimiento), proporcionaría información sobre la posición geográfica relativa del individuo, a lo largo del gradiente, en relación con su hogar o punto de destino. De esta forma, el animal podría reconocer un patrón de variación y utilizar esa información incluso en un lugar desconocido (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1993; PHILLIPS, 1996; DIEGO-RASILLA, 2004; PHILLIPS *et al*, 2005b).

El uso de un mapa de gradientes implica por lo tanto un conocimiento de la distribución espacial de los factores de navegación que ha de ser memorizado a largo plazo, en contraste con lo ocurrido en los mecanismos de orientación y mapas basados en la ruta, en los que la información sobre posiciones se toma durante el desplazamiento y se procesa poco después (BINGMAN & CHENG, 2005). Así, ya que los animales



precisan conocer el valor del gradiente y su dirección de variación en el territorio familiar, el mapa necesita configurarse mediante procesos de aprendizaje, en los que el animal toma múltiples medidas del gradiente en diferentes puntos de su área de movimiento (PHILLIPS *et al.*, 2005). Si esos lugares de medición del gradiente ambiental mantienen una relación espacial conocida se podrá poco a poco establecer el alineamiento del gradiente y el mapa podrá mejorarse continuamente con nueva información a medida que la experiencia del animal aumenta (WILSTSCHKO & WITSCHKO, 1993; FREAKER *et al.*, 2006). De esta forma, las hipótesis del mapa de gradientes suelen postular que los individuos jóvenes e inexpertos de una especie dada no serán capaces de utilizar dicho mapa para la navegación hasta que adquieran la suficiente experiencia, que les permita familiarizarse con la variación de el/los gradiente/s del mapa. Así, los individuos jóvenes de especies migradoras no serán capaces de realizar verdaderas navegaciones en sus primeros movimientos migratorios, teniendo que recurrir a otros mecanismos (como el uso aislado de una brújula, la orientación por pilotaje, etc.) hasta lograr configurar su mapa de gradientes (MUNRO *et al.*, 1997a, 1997b; WITSCHKO & WILTSCHKO, 2003).

Dependiendo del número de factores ambientales implicados en el mapa de navegación existirán mapas de gradientes unioordenados, bicoordenados o multicoordenados. En ausencia de información adicional, un único factor de mapa (mapa unioordenado o mapa de gradiente simple) permitiría a un animal distinguir su posición a lo largo de un único eje. Esto sería análogo, por ejemplo, a conocer la latitud pero no la longitud relativa al hogar. Sin embargo, gradientes de dos factores ambientales diferentes, alineados perpendicularmente, o intersectándose en un cierto ángulo (no paralelos), permitirían fijar la posición en dos dimensiones, posibilitando así una verdadera navegación (GRIFFIN, 1952a; PHILLIPS, 1996; PHILLIPS *et al.*, 2005b) (figura 1.5).

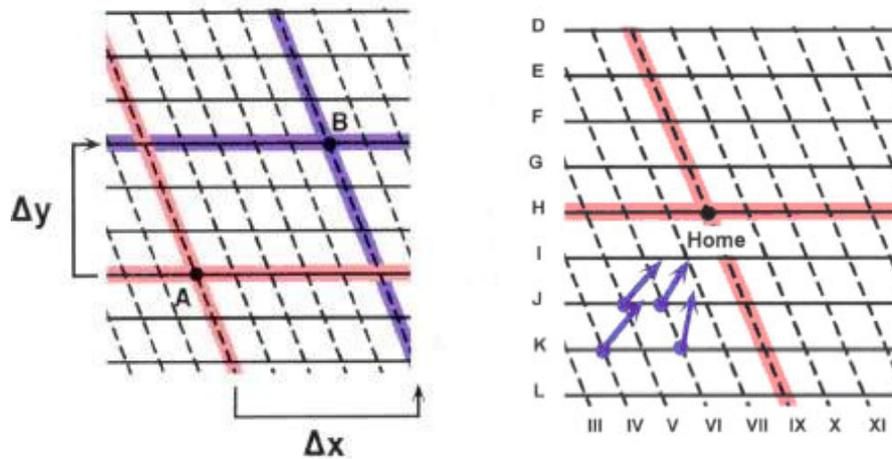


Figura 1.5 Funcionamiento de un mapa de gradientes bicoordenado

En un mapa de navegación en el que participen dos gradientes ambientales de distribución no paralela cada punto del espacio queda definido por la intersección de las isolíneas correspondientes a esos dos gradientes (factor "X", cuyo valor se incrementa de oeste a este, y factor "Y", que toma valores de "D" a "L"). El animal puede navegar de un lugar a otro comparando los valores de ambos factores de mapa, al conocer la dirección de variación de los gradientes y los valores correspondientes a su punto de destino (en este ejemplo, definidos por la intersección de las isolíneas H y IX). (FUENTE: PHILLIPS *et al.*, 2005b)

Cualquier estímulo ambiental que se utilice como coordenada en un mapa de gradientes debe cumplir una serie de características. En primer lugar, debe variar sistemáticamente de forma que un determinado punto de la superficie terrestre pueda ser identificado de modo exclusivo. En segundo lugar, debe ser suficientemente estable en el tiempo a fin de que pueda seleccionarse a lo largo de la evolución la habilidad para detectar y usar el estímulo en la navegación. Por último, el gradiente ambiental debe poder ser detectado y utilizado para determinar la posición con suficiente resolución de acuerdo a las necesidades del animal (WALKER *et al.*, 2002). Teniendo en cuenta esto, han sido propuestas diversas hipótesis acerca de la naturaleza de los factores ambientales que podrían funcionar como componentes de los mapas de gradientes (PHILLIPS *et al.*, 2005b). Desde un primer momento, los candidatos a ser utilizados como factores de mapa se buscaron en gradientes de gran escala, con variación a lo largo de toda la superficie terrestre y que pudieran proporcionar un mapa para migradores de larga distancia como las aves. Así, las primeras hipótesis de mapas de navegación sugirieron



el uso de parámetros del campo geomagnético (como los valores de inclinación magnética; VIGUIER, 1882) o la fuerza de Coriolis debida a la rotación de la Tierra (YEAGLEY, 1947); ambos gradientes presentan dirección norte-sur a lo largo del globo terrestre y, por lo tanto, podrían potencialmente ser útiles en la determinación de la latitud. Por otra parte, el factor o factores que podrían estar implicados en la determinación de la longitud, para dar lugar a mapas bicoordenados, se han mostrado más difíciles de encontrar (GOULD, 1998). Sin embargo, el problema de la determinación de la longitud se puede solucionar en ciertas áreas recurriendo a otros parámetros geomagnéticos (por ejemplo, un mapa bicoordenado basado en valores de inclinación e intensidad magnéticas; PHILLIPS *et al.*, 2005b; ver sección 4.1) o mediante el uso de sistemas de gradientes de tipo radial, como los mapas de tipo olfativo sugeridos para aves (WALLRAFF, 2004; ver sección 4.4). Otros posibles factores de mapa que se han considerado a lo largo de la historia han sido las características derivadas del arco solar (MATTHEWS, 1953), la fuerza de la gravedad (LARKIN & KEETON, 1978) o el uso de infrasonidos (QUINE, 1982). Sin embargo, la mayoría de las mencionadas hipótesis no han podido ser sustentadas con datos experimentales y se consideran refutadas (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003). Así, actualmente sólo se aceptan como mapas de gradientes funcionales, al haber sido probados por diversas investigaciones, aquellos basados en la detección de gradientes olfativos (PAPI, 1976, 1986; GUILFORD *et al.*, 1998; WALLRAFF, 2004; IOALÈ *et al.*, 2007) y los basados en el uso de parámetros del campo magnético terrestre (YEAGLEY, 1947; WALCOTT, 1991; LOHMANN & LOHMANN, 1996; PHILLIPS, 1996; WALKER *et al.*, 2002; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005; PHILLIPS *et al.*, 2005b; FRAKE *et al.*, 2006), si bien existe una gran controversia entre partidarios de una y otra hipótesis (ABLE, 1996; GOULD, 1998; GUILFORD *et al.*, 1998; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003; WALLRAFF, 2004; PHILLIPS *et al.*, 2005b).

4. Estímulos ambientales que pueden ser usados en la orientación espacial

Las señales usadas en los distintos mecanismos de orientación han de ser estímulos ambientales relevantes, persistentes y que proporcionen una información fiable. En la mayoría de los casos, los anfibios, y en general los distintos grupos animales, no dependen de un único factor para navegar, sino que parecen utilizar una



amplia variedad de estímulos ambientales (RAMENOFKY & WINGFIELD, 2007). Así, desde el descubrimiento de la existencia de varios tipos de brújulas (solar, magnética, etc.), la idea de sistemas de orientación multisensoriales, basados en diferentes fuentes de información direccional integradas en mecanismos de navegación redundantes, se ha presentado como un punto clave a considerar en cualquier estudio de orientación espacial (ABLE, 1995). Hasta la fecha, los estudios acerca de las interrelaciones entre distintos tipos de señales y mecanismos de navegación se han realizado fundamentalmente en algunas especies de aves (EMLEN, 1975, WEINDLER *et al.*, 1996, 1998; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003; MUHEIM *et al.*, 2006a, b), en tortugas marinas de la especie *Caretta caretta* (AVENS & LOHMANN, 2003) y en unos pocos invertebrados (SCAPINI, 2006). Sin embargo, las investigaciones realizadas con anfibios también parecen indicar que estos animales son capaces de utilizar varios tipos diferentes de estímulos ambientales y combinarlos en sus sistemas de navegación (FERGUSON, 1971; RUSSELL *et al.*, 2005).

A continuación, se consideran las diversas señales ambientales que pueden formar parte de los mecanismos de orientación utilizados por los anfibios.

4.1 El campo geomagnético

- Características del campo magnético terrestre

La Tierra se comporta como un enorme imán, con los polos magnéticos cercanos a los polos geográficos o rotacionales. Aunque en realidad el polo norte magnético se encuentra en posición sur geográfica, y viceversa, se acepta por tradición llamar polo norte magnético al extremo del dipolo terrestre más próximo al polo norte geográfico, y polo sur magnético al situado en zonas antárticas (CAMPBELL, 2003). El campo magnético de la Tierra procede de fuentes situadas en el núcleo y en la corteza terrestre: su componente principal es de tipo dipolar (>90% del campo magnético percibido) y está originado por corrientes de convección y remolinos existentes en el material fundido del núcleo externo, mientras que las rocas magnetizadas de la corteza terrestre producen campos localizados (SKILES, 1985). El dipolo del núcleo provoca que las líneas del campo magnético abandonen la superficie terrestre en el polo sur magnético, rodeen el globo (curvándose alrededor) y posteriormente ingresen en la Tierra por el polo norte



magnético. Como consecuencia, las líneas del campo apuntan “hacia arriba” (hacia el espacio) en el hemisferio sur, corren paralelas a la superficie de la Tierra en el ecuador magnético y apuntan “hacia abajo” (hacia el interior de la Tierra) en el hemisferio norte (figura 1.6). De esta forma, en cualquier punto del planeta, el campo magnético puede describirse como un vector en el espacio tridimensional (figura 1.6), cuyas características varían sistemáticamente con la latitud, desde el ecuador magnético a los polos magnéticos.

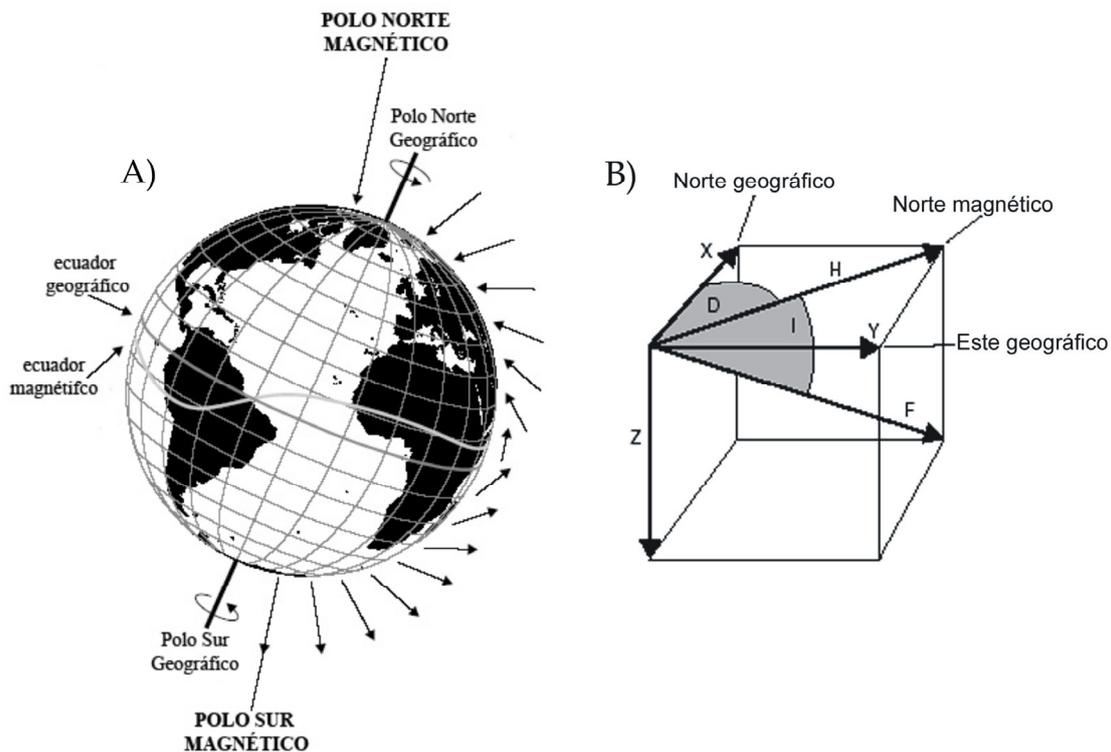


Figura 1.6 A) Diagrama del campo magnético terrestre, en el que las líneas de campo se representan como flechas, mostrándose la variación latitudinal del ángulo de inclinación (perpendicular a la superficie en los polos y paralelo en el ecuador) y de la intensidad magnética (indicada por la longitud de las flechas en la figura). (Modificado de MUHEIM, 2004)

B) Parámetros del vector de campo geomagnético (F : intensidad total de campo; H : intensidad horizontal o en superficie; X, Y, Z : componentes vectoriales; D : declinación magnética; I : inclinación magnética) (Modificado de WALKER et al., 2002)

El vector del campo magnético terrestre puede describirse de dos formas básicas. Por un lado, la intensidad total del campo (vector F en la figura 1.6B) puede descomponerse en tres componentes vectoriales en el espacio tridimensional: un vector X , dirigido hacia el norte geográfico, un vector Y , que toma valores positivos hacia el



este geográfico, y un vector Z , vertical hacia el interior de la Tierra. Frente a este sistema (las llamadas coordenadas “XYZ” en los observatorios magnéticos), existe otra forma alternativa de describir el vector total de campo magnético: el denominado sistema “HDZ”, más comúnmente empleado en la actualidad. Este sistema divide el vector magnético en dos componentes, la intensidad horizontal de campo (H , vector magnético en superficie) y la intensidad vertical de campo (Z), a lo que se añade en este caso el valor de declinación magnética (D : ángulo entre X y H).

De manera simple, el vector de campo también puede ser descrito basándonos únicamente en su intensidad y en su dirección, es decir en los valores de intensidad total de campo (F) e inclinación correspondientes a cada punto del globo. El llamado valor de inclinación magnética es el ángulo formado entre el vector total de campo geomagnético y su proyección en superficie, y forma líneas paralelas que corren en dirección este-oeste. En el hemisferio norte, la inclinación se considera como positiva (tal como se indica en los vectores apuntando hacia la superficie terrestre en la figura 1.6A), mientras que en el hemisferio sur los valores de inclinación se consideran negativos. Así, el ángulo de inclinación magnética forma un gradiente bastante regular, variando desde valores de -90° en el polo sur magnético a $+90^\circ$ en el polo norte magnético, siendo 0° en las proximidades del ecuador magnético, donde el vector magnético es paralelo a la superficie (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005). Por su parte, el vector intensidad total de campo (F) representa la fuerza o energía del campo geomagnético (medida en el sistema internacional en Teslas, donde $1 \text{ T} = 1 \text{ Wb/m}^2$) y sus valores igualmente varían con la latitud, desde mínimos de 20000-25000 nanoTeslas (nT) en el ecuador a máximos de 60000-65000 nT en los polos magnéticos (SKILES, 1985).

Sobre el patrón general descrito del campo geomagnético se superponen ciertas irregularidades espaciales y temporales. Así, el campo regular originado en el núcleo externo puede ser localmente distorsionado por materiales magnéticos en la corteza externa, ocasionando las llamadas “anomalías magnéticas”. Estos campos localizados son generalmente pequeños ($<5\%$ del campo total), pero pueden variar rápidamente en distancias cortas, con ligeros aumentos o disminuciones en el patrón global de intensidad, raramente de más de 1000 nT (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1996; WALKER *et al.*, 2003).



Por otra parte, el campo magnético terrestre experimenta variaciones temporales de origen natural, de diversa magnitud y debidas a diferentes fuentes. Las corrientes eléctricas en la ionosfera y en la propia Tierra producen fluctuaciones diarias en el campo magnético, como las alteraciones diurnas regulares asociadas con el viento solar; la radiación electromagnética originada en el Sol provoca variaciones del campo magnético que son especialmente fuertes en la zona de la Tierra iluminada, conduciendo a fluctuaciones a lo largo del día, del orden de 30 nT a 100 nT, con descensos en la intensidad magnética especialmente durante el mediodía (CAMPBELL, 2003). Además, las tormentas magnéticas ocasionales, asociadas a las llamaradas solares, pueden provocar cambios más pronunciados en todos los parámetros magnéticos, con variaciones de hasta 500 nT o aún mayores. Aparte de estas oscilaciones, que suceden a una escala temporal pequeña, existen cambios más graduales en el campo magnético, debidos a modificaciones de los patrones de corrientes generados en el propio núcleo externo. Esto conduce a la llamada *variación secular*, que provoca cambios en la localización de los polos magnéticos que son lo suficientemente importantes como para obligar a revisar los mapas magnéticos a intervalos de cinco años (DIEGO-RASILLA, 2004). A escalas temporales mayores se dan cambios más bruscos, como inversiones de la polaridad cada $10^5 - 10^6$ años, desapareciendo la componente dipolar durante periodos de $10^3 - 10^4$ años (SKILES, 1985).

Sin embargo, a pesar de las irregularidades espaciales y temporales mencionadas, se puede considerar que el patrón regular del campo geomagnético constituye, debido a su estructura, una fuente de información omnipresente y bastante fiable de cara a su uso en sistemas de orientación espacial (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005). Así, en cualquier punto del globo, la información magnética puede ser de dos tipos. Por una parte, el vector de campo magnético puede proporcionar información direccional, por lo que potencialmente podría ser usado como brújula magnética (WILTSCHKO, 1993). Por otra parte, varios parámetros del campo magnético terrestre (como el ángulo de inclinación, la intensidad total de campo, la intensidad de la componente horizontal y la intensidad de la componente vertical) varían de forma predecible a lo largo de la superficie terrestre, por lo que en principio podrían ser usados para determinar la posición geográfica en un mapa de navegación (LOHMANN *et al.*, 1999; JOHNSEN & LOHMANN, 2005).



- Orientación mediante compás magnético

El uso de información procedente del vector de campo magnético en la orientación animal se propuso a mediados del siglo XIX, cuando VON MIDDENDORFF (1859) sugirió el uso de una brújula magnética por parte de las aves migradoras. Sin embargo, a pesar de la acumulación de indicios, hubo que esperar más de un siglo para encontrar la primera demostración concluyente de la existencia de un compás magnético en un animal: el petirrojo (*Erithacus rubecula*; WILTSCHKO, 1968; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1972). Desde entonces, la detección y el uso del vector geomagnético se ha probado como una capacidad bastante extendida en la naturaleza, ya que ha acabado demostrándose en muy diversas especies animales, incluyendo los principales grupos de vertebrados, así como especies de crustáceos, insectos y en una especie de molusco (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005, 2006). Así, la existencia de una brújula magnética se conoce actualmente en más de veinte especies de aves, incluyendo aves migradoras de todo tipo (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1996), palomas (ej. KEETON, 1974; WALCOTT & GREEN, 1974; THALAU *et al.*, 2007) e incluso pollos de granja (FREIRE *et al.*, 2005). Entre los invertebrados, se ha descrito el uso del vector geomagnético en varias especies de insectos, incluyendo termitas (JACKLYN & MUNRO, 2002), la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* (PHILLIPS & SAYEED, 1993; DOMMER *et al.*, 2008), la abeja *Apis mellifera* (DEJONG, 1982; FRIER *et al.*, 1996; KIRSCHVINK *et al.*, 1997), varias especies de hormigas (ej. CAMLITEPE & STRADLING, 1995; BANKS & SRYGLEY, 2003) y el escarabajo de la harina, *Tenebrio molitor* (ARENDSE, 1978; VÁCHA & SOUKOPOVÁ, 2004), así como en cinco especies de crustáceos (anfípodos del género *Talitrus*, PARDI *et al.*, 1988, y la langosta espinosa, *Panulirus argus*, LOHMANN *et al.*, 1995) y en el molusco marino *Tritonia diomedea* (WILLOWS, 1999; WANG *et al.*, 2003). La brújula magnética se ha encontrado igualmente en varios grupos de vertebrados, como peces óseos (QUINN, 1980; WALKER *et al.*, 1997, 2003; WALKER, 1984; TESCH *et al.*, 1992), rayas y tiburones (KALMIJN, 1984; PAULIN, 1995; MEYER *et al.*, 2005) y tortugas marinas (LOHMANN, 1991, 1993, LOHMANN *et al.*, 1999; LOHMANN, 2007; LUSCHI *et al.*, 2007). Entre los mamíferos los estudios de orientación magnética se han centrado hasta la fecha en varias especies de roedores (MARHOLD *et al.*, 1997, 2000; KIMCHI & TERKEL, 2001; DEUTSCHLANDER *et al.*, 2003; KIMCHI *et al.*, 2004; MUHEIM *et al.*, 2006), los cuales usan su sentido de brújula magnética para localizar sus nidos o almacenes de comida.



Diversos trabajos también han demostrado la orientación magnética en murciélagos (HOLLAND *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2007) y cetáceos (WALKER *et al.*, 1992; 2003).

En el caso concreto de los anfibios existen ciertas evidencias a favor de la implicación del campo geomagnético en la orientación de varias especies de anuros del género *Bufo* (*B. bufo*, *B. calamita* y *B. spinulosus* -SINSCH, 1990a, b; 1991; 1992-), pero hasta la fecha sólo se ha demostrado convincentemente el uso de una brújula magnética en la orientación respecto al eje-Y de las larvas de dos especies de anuros (*Rana catesbeiana* -FREAKE *et al.*, 2002- y *Pelophylax perezi* -DIEGO-RASILLA & PHILLIPS, 2007-) y una de urodelo (*Lissotriton boscai* – RODRÍGUEZ-GARCÍA & DIEGO-RASILLA, 2006). También se ha demostrado el uso de un compás magnético en adultos de cuatro especies de urodelos (en *Eurycea lucifuga* - PHILLIPS 1977-, y en la conducta de vuelta a casa de *Mesotriton alpestris* -DIEGO-RASILLA, 2003; DIEGO-RASILLA *et al.*, 2005-, *Lissotriton helveticus* -DIEGO-RASILLA *et al.*, 2008- y en *Notophthalmus viridescens* - PHILLIPS, 1986a-). Esta última especie (*N. viridescens*) utiliza el campo magnético terrestre para dos conductas diferentes (como brújula en la orientación respecto al eje-Y, y en conductas de navegación en dirección a sus charcas de cría), y en ella se han realizado gran cantidad de estudios (PHILLIPS, 1986a, b; PHILLIPS & BORLAND, 1992a, b, 1994) que han permitido sentar las primeras bases acerca del comportamiento de orientación y navegación magnética en anfibios. Así, por ejemplo, se han descrito dos tipos de mecanismos de compás magnético en esta especie, con diferencias esenciales en su funcionamiento, un compás de polaridad y un compás de inclinación (figura 1.7). El compás de polaridad funciona de un modo similar a las brújulas artificiales, ya que usa la polaridad del campo magnético para distinguir entre el norte y el sur magnético. El compás de inclinación, por el contrario, ignora la polaridad y depende de la dirección axial de las líneas de campo geomagnético, obteniendo información direccional unimodal mediante la interpretación de la inclinación de las líneas de campo con respecto hacia arriba y abajo. Esto implica que el compás magnético de inclinación no distingue entre norte magnético y sur magnético, sino entre un movimiento “hacia los polos”, correspondiente al extremo del eje definido por el menor ángulo entre el vector total de campo y la gravedad (las líneas de campo pasan a apuntar hacia el suelo) y “hacia el ecuador”, donde las líneas de campo apuntan hacia arriba (se van volviendo paralelas a la superficie terrestre) (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2006).



Para descubrir si un animal utiliza un compás de polaridad o uno de inclinación basta con estudiar su respuesta de orientación en un campo magnético con la componente vertical invertida (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1972). Para un animal con un mecanismo de compás de inclinación, incapaz de percibir la polaridad de campo, la inversión experimental de la componente vertical tiene el mismo efecto que el invertir la componente horizontal, resultando ambos casos en un giro de 180° en los rumbos de orientación tomados. En cambio, si la componente horizontal y la vertical fueran invertidas simultáneamente (resultando en una inversión de la polaridad magnética), el comportamiento no se alteraría (ver figura 1.7).

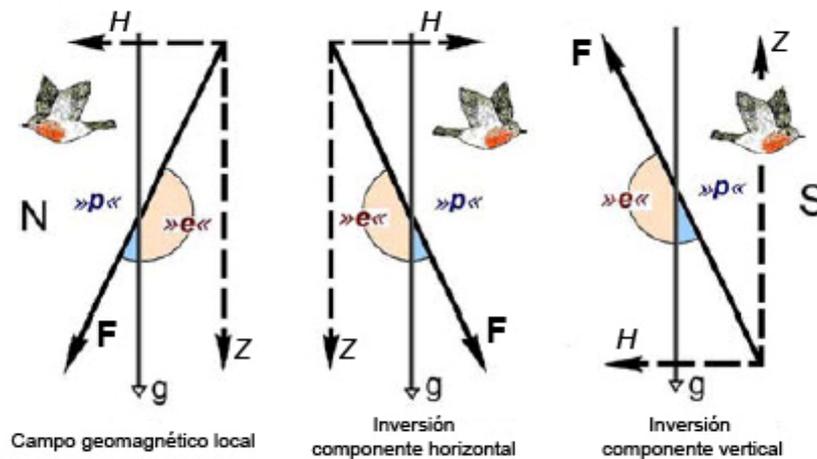


Figura 1.7 Brújula o compás de inclinación

"N, S": norte y sur magnéticos. "F": vector de intensidad total de campo magnético. "H": componente horizontal (en superficie). "Z": componente vertical. "g": vector de la gravedad; "p": sentido percibido de vuelo "hacia el polo", de acuerdo al uso de la inclinación. "e": vuelo "hacia el ecuador". **Izquierda:** en este ejemplo, las aves se orientan rumbo norte en el campo magnético local. **Centro:** Con la inversión de la componente horizontal las aves invierten en consonancia su dirección, tal como lo harían también si utilizaran un compás de polaridad. Sin embargo, al mantener la componente horizontal pero invertir la componente vertical (**derecha**) reaccionan también con una inversión del rumbo, lo que indica el uso del ángulo de inclinación. (Modificado de WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005)

Los tritones de la especie *Notophthalmus viridescens* parecen utilizar tanto un compás de inclinación como uno de polaridad. Cuando la orientación respecto al eje-Y de esta especie es estudiada invirtiendo la componente vertical del campo magnético, los tritones invierten igualmente su rumbo, indicando el uso de un compás de inclinación en esta conducta. En cambio, los tritones que se orientan de vuelta a su hogar o charca de



reproducción no se ven afectados por este tratamiento, lo que sería indicio del uso de una brújula distinta, sensible a la polaridad, para el comportamiento de orientación de vuelta a casa. (PHILLIPS, 1986a, b; PHILLIPS & BORLAND, 1994). Sin embargo, autores como WILTSCHKO & WILTSCHKO (2005) opinan que únicamente se puede considerar plenamente demostrado el uso del compás magnético de inclinación para esta especie (y para los anfibios en general), puesto que los datos que indican sensibilidad a la polaridad magnética en los comportamientos de vuelta a casa pueden deberse en realidad a la interacción entre mecanismos de magnetorrecepción, ya que en la navegación hacia las charcas de cría están implicados otros parámetros magnéticos (los tritones no sólo utilizan un compás, sino que éste interacciona con un sentido de mapa, PHILLIPS *et al.*, 1995; PHILLIPS, 1996; FISCHER *et al.*, 2001; PHILLIPS *et al.*, 2002b).

Por otra parte, el uso de una brújula de inclinación se ha demostrado también en la totalidad de especies de aves con orientación magnética (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005), y en tortugas marinas (LOHMANN & LOHMANN, 1993). Otros grupos animales, como peces (QUINN, 1980), ratas topo (MARHOLD *et al.*, 1997) y la langosta espinosa (LOHMANN *et al.*, 1995) parecen utilizar distintos mecanismos de orientación magnética, al poseer brújulas sensibles a la polaridad de campo.

- Uso del campo geomagnético para determinar posición geográfica

Al igual que el vector del campo geomagnético proporciona una señal direccional que puede usarse como brújula en las tareas de navegación, existen varios parámetros del campo magnético terrestre (como los valores de intensidad o inclinación magnética) que varían de forma sistemática y predecible a lo largo del espacio, por lo que podrían proporcionar información sobre posición geográfica. Las llamadas “hipótesis del mapa magnético” postulan el uso de información derivada de los diversos gradientes geográficos del campo magnético terrestre para definir una o dos coordenadas de un mapa de navegación (YEAGLEY, 1947; GOULD, 1980, 1985; WALCOTT, 1991; LOHMANN & LOHMANN, 1996; PHILLIPS, 1996; WALKER *et al.*, 2002; FREAKE *et al.*, 2006; LOHMANN *et al.*, 2007). Por ejemplo, el uso del ángulo de inclinación de las líneas de campo para determinar la latitud ya fue propuesto por YEAGLEY (1947) y ha sido últimamente probado en varias especies animales (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005). Además del ángulo de inclinación, otros parámetros de campo magnético también varían



sistemáticamente siguiendo gradientes norte-sur, por lo que también podrían usarse para determinar la latitud, como es el caso del gradiente de intensidad total (WALCOTT, 1991), o los valores de intensidad horizontal o vertical del vector de campo magnético (LOHMANN *et al.*, 1999). Sin embargo, en muchas de las regiones de la Tierra, estos parámetros magnéticos no posibilitarían por sí solos una navegación bicoordenada, ya que, por ejemplo, tanto las isolíneas de intensidad total como las de inclinación siguen un patrón global bastante paralelo, proporcionando información sobre latitud, pero no sobre longitud (figura 1.8).

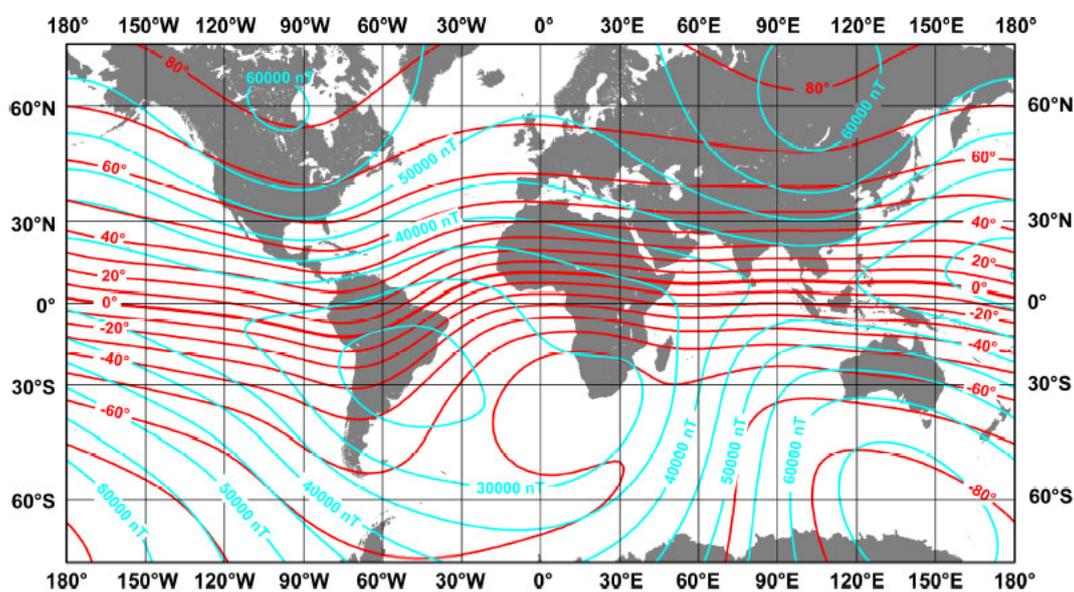


Figura 1.8 Gradientes globales de intensidad total de campo magnético e inclinación

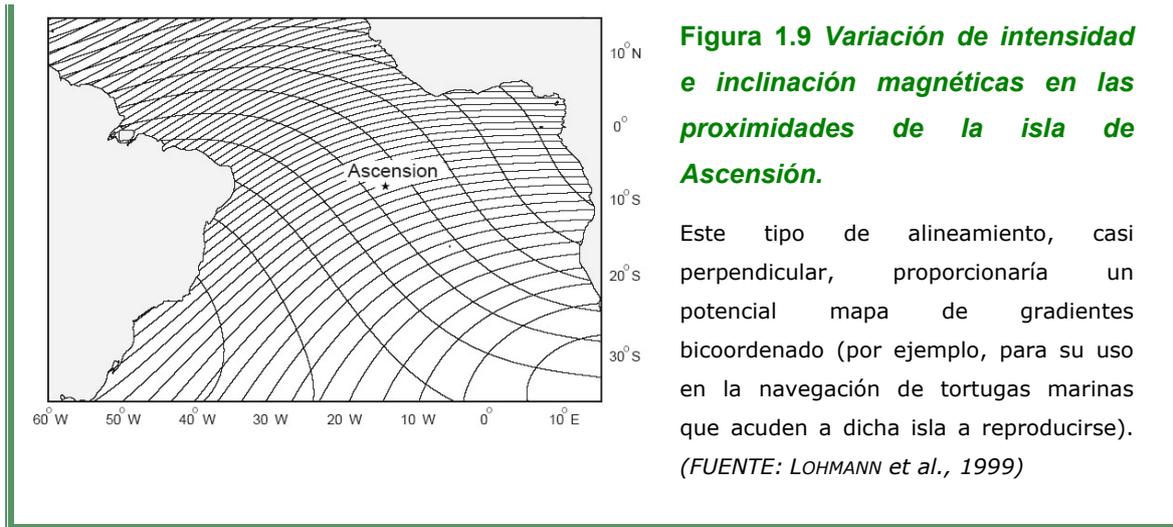
(FUENTE: MUHEIM, 2004)

Aunque en la mayoría de experimentos realizados hasta la fecha con diversas especies sólo se ha probado el uso de parámetros magnéticos, como la inclinación, para estimar posiciones geográficas a lo largo de este eje norte-sur (FREAKE *et al.*, 2006), también se han propuesto varios modelos que permitirían una navegación bicoordenada basada únicamente en gradientes magnéticos. Por ejemplo, la detección del gradiente de declinación magnética (desviación entre norte magnético y geográfico) podría proporcionar una segunda coordenada para determinar el posicionamiento en longitud, ya que en muchas partes del mundo los valores de declinación varían en un ángulo ortogonal a los gradientes de intensidad e inclinación (LOHMANN *et al.*, 1999). Sin embargo, el uso de los gradientes de declinación magnética implicaría que el animal



tuviera un sistema adicional para detectar la dirección norte geográfica y sería incluso más problemático en aquellos animales que se mueven en distancias cortas, como los anfibios. En distancias de unos pocos kilómetros resulta muy poco probable que la declinación magnética pueda ser usada para derivar una segunda coordenada de mapa de navegación, ya que la precisión requerida sería excesivamente grande (PHILLIPS *et al.*, 2005b). Una posibilidad alternativa al uso de la declinación es que las variaciones del campo magnético resulten en gradientes casi perpendiculares de parámetros como la inclinación y la intensidad, tal como ocurre a ciertas escalas y en determinadas zonas del globo (figura 1.9). Frente al empleo de un mapa bicoordenado basado en gradientes de inclinación e intensidad magnética no paralelos (VIGUIER, 1882; PHILLIPS, 1996; LOHMANN *et al.*, 2004), otros modelos proponen el uso de los valores de intensidad total en combinación con el gradiente de intensidad horizontal de campo (GOULD, 1982), o la intensidad total y la dirección de variación máxima en intensidad (WALKER, 1998; WALKER *et al.*, 2002), parámetros que permitirían derivar la posición geográfica con más seguridad y precisión. Aparte de la detección de los gradientes formados por los distintos parámetros del vector de campo magnético, otras hipótesis de mapa magnético proponen el uso de las bandas de máximos y mínimos magnéticos en la corteza oceánica por parte de animales marinos (WALKER *et al.*, 2002). Estas bandas, basadas en patrones de anomalías magnéticas debidas a los procesos de expansión del fondo oceánico y a las inversiones de polaridad magnética recurrentes a lo largo de la historia geológica, se alinean aproximadamente a lo largo del eje norte-sur por lo que podrían proporcionar información para un mapa de navegación magnética utilizable por ciertas especies marinas en sus movimientos (DIEGO-RASILLA, 2004).

Por otra parte, en ciertas áreas del globo, las anomalías y gradientes magnéticos locales pueden llegar a ser más fuertes y uniformes que el patrón regional de gradientes, por lo que potencialmente podrían proporcionar una fuente de información fiable para movimientos de corta distancia (< 5 km), como los llevados a cabo por los anfibios en sus migraciones (PHILLIPS, 1996). En cualquier caso, estos gradientes locales con patrones apropiados para ser usados en una navegación bicoordenada sólo están presentes en algunas zonas de la superficie terrestre, pero no en otras, por lo que sólo podrían ser usados por determinadas poblaciones de animales, mientras que las poblaciones que habiten zonas de gradientes más irregulares o inadecuados deberían recurrir a otros mecanismos de orientación (PHILLIPS *et al.*, 2005b).



Además de su uso como posibles coordenadas de mapas de gradientes, los valores de los diferentes parámetros del campo geomagnético también pueden ser utilizados como puntos de referencia, a modo de balizas. Así, valores familiares de intensidad total e inclinación pueden servir a ciertas especies animales para marcar regiones específicas de su territorio o zonas de su rango de movimiento, indicando modos de actuación determinados a los animales que se encuentren con dichos valores. Por ejemplo, se ha probado que estas balizas magnéticas pueden ser señales que indiquen cambios en los rumbos o comportamientos de migración en especies de aves (ej. BECK & WILTSCHKO, 1988; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1992; FRANSSON *et al.*, 2001; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005; HENSHAW *et al.*, 2008) o ser utilizadas como marcadores de los límites o fronteras del rango de movimiento, tal como se ha demostrado que ocurre en tortugas marinas juveniles de la especie *Caretta caretta* (LOHMANN & LOHMANN, 1994, 1996; LOHMANN *et al.*, 2001).

Aunque posible, la elaboración de un mapa magnético a partir de parámetros como los indicados (gradientes de inclinación, intensidad, etc.) resulta mucho más complicada que el simple uso direccional del vector magnético como brújula (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005). El uso de un mapa magnético plantea una serie de dificultades, destacando entre todas ellas el hecho de que los gradientes magnéticos son extremadamente débiles, ya que la variación media en intensidad es de sólo de 5-10 nT por kilómetro (0.01%/ km) y la variación promedio en inclinación es de 0.01%/ km. Por lo tanto, el mecanismo sensorial responsable de la detección de la variación espacial en



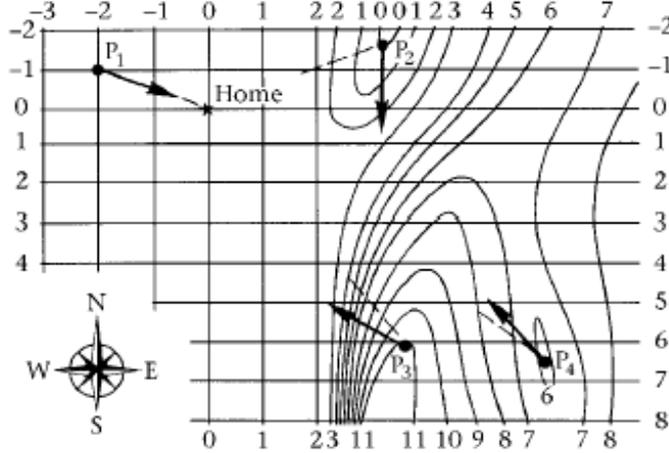
el campo magnético debe ser extraordinariamente sensible y con capacidad suficiente para detectar diferencias tan mínimas, sobre todo en aquellos casos en los que sea necesaria una gran resolución espacial en el mapa de navegación, como sucede en animales con poca capacidad de movimiento como son los anfibios (PHILLIPS, 1996).

La dificultad de detectar los sutiles gradientes magnéticos se ve agravada por otra serie de problemas, como los derivados de las variaciones espaciales y temporales en el campo magnético. Así, la variación regular de los parámetros magnéticos durante las horas de luz solar podría llegar a producir errores significativos en estimaciones de posición basadas en mapas magnéticos, que podrían también ser de gran importancia para animales que precisen mapa de navegación magnética de distancias cortas, como los anfibios, por lo que serían necesarias estrategias de compensación de esa fuente de error (por ejemplo, realizar múltiples mediciones magnéticas durante largos periodos de tiempo u obtener la información magnética durante las horas nocturnas, en las que la variación temporal en el campo magnético es mínima; DIEGO-RASILLA & PHILLIPS, 2004; PHILLIPS *et al.*, 2005a). Otras variaciones temporales, como las tormentas magnéticas, de tipo ocasional, podrían producir igualmente grandes errores en la estimación de la posición geográfica. Igualmente, las variaciones a largo plazo del campo magnético (como la deriva secular) también deberían ser tenidas en cuenta para consideraciones evolutivas, e incluso en algunos casos como fuente de errores sistemáticos en el uso de mapas geomagnéticos por animales que recorran grandes distancias en sus migraciones (PHILLIPS *et al.*, 2005b; LOHMANN *et al.*, 2007).

Un problema adicional al uso de un mapa magnético lo constituyen las irregularidades espaciales de los gradientes magnéticos. A escalas locales, debido a las diferencias de contenido en hierro de las capas de roca de la corteza o a anomalías electromagnéticas causadas por construcciones o instrumentos humanos (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1995), los gradientes magnéticos de ciertas zonas pueden diferir en dirección o grado de variación con el patrón de gradientes regional y superponerse a él (JOHNSEN & LOHMANN, 2005). Esas irregularidades en el campo magnético podrían introducir grandes errores en la estimación de la posición si se usa la extrapolación de los gradientes locales para estimar posiciones geográficas en desplazamientos a larga distancia (figura 1.10).



Figura 1.10 Irregularidades espaciales en la distribución de gradientes



Frente al alineamiento regular de los factores de mapa en las proximidades del hogar (zona izquierda), otras zonas (derecha) pueden presentar irregularidades en un gradiente magnético, que conduzcan a errores en la estimación de la posición. En este ejemplo, las combinaciones locales de gradientes provocan sesgos en el rumbo tomado por los animales en los puntos P_2 , P_3 y P_4 . Las isólineas de los dos gradientes se dan en unidades relativas respecto a los valores del "hogar" (*home value*: 0,0). Las líneas punteadas indican el rumbo de regreso correcto desde cada lugar. Las flechas indican la desviación que seguirían los animales al derivar su posición basándose en la combinación local de gradientes.

(FUENTE: WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003a)

A pesar de todas las dificultades mencionadas, y de que probar experimentalmente el uso de un mapa magnético es más complicado que detectar la existencia de un sentido de brújula (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005), actualmente existen crecientes evidencias a favor del uso de parámetros geomagnéticos en la navegación de los animales. Las primeras evidencias del empleo de gradientes magnéticos en un mapa de navegación se remontan a observaciones realizadas por KEETON *et al.* (1974), los cuales observaron que las palomas liberadas en zonas con anomalías magnéticas mostraban rumbos de orientación más dispersos de lo normal, o incluso fallaban totalmente en la determinación de su posición respecto a su hogar, desorientándose. Desde entonces, se han conseguido pruebas más directas de la implicación de parámetros magnéticos como factores de mapa y la capacidad de verdadera navegación magnética se ha demostrado en varias especies. Estas incluyen caimanes americanos (*Alligator mississippiensis*; RODDA, 1984, 1985), tortugas marinas (*Chelonia mydas* y *Caretta caretta*, LOHMANN & LOHMANN, 1994, 1996; LOHMANN *et al.*, 1999, 2001, 2004; LOHMANN & LOHMANN, 2006), varias especies de aves (BEASON *et al.*, 1997; MUNRO *et al.*, 1997a, b; FISCHER *et al.*, 2002; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003a) y la langosta espinosa (*Panulirus argus*; BOLES & LOHMANN, 2003). Dentro de los anfibios, la verdadera navegación magnética únicamente ha sido plenamente



demostrada en tritones de la especie *Notophthalmus viridescens* (PHILLIPS, 1986A; PHILLIPS & BORLAND, 1994; PHILLIPS *et al.*, 1995; FISCHER *et al.*, 2001), si bien existen evidencias que también sugieren el uso del campo magnético como factor de mapa de navegación en el tritón alpino, *Mesotriton alpestris* (PHILLIPS *et al.*, 2005a; DIEGO-RASILLA *et al.*, datos sin publicar).

- Acerca de los posibles mecanismos de magnetorrecepción

Los mecanismos fisiológicos y los receptores implicados en la capacidad de percepción del campo magnético son aún prácticamente desconocidos. La caracterización de las estructuras implicadas en la magnetorrecepción ha demostrado ser especialmente complicada, debido en gran parte a las propias características del estímulo magnético. Ya que los campos magnéticos son estímulos relativamente simples, no tienen por qué ser necesarios órganos grandes o complejos para su detección o procesado. Además, puesto que los campos magnéticos atraviesan sin dificultad los tejidos vivos (WALKER *et al.*, 2003), no tendría que ser necesaria ninguna estructura externa especializada en su captación, sino que el receptor o receptores podrían estar en cualquier parte del cuerpo del animal. Incluso, la magnetorrecepción podría deberse a receptores diminutos dispersos en un gran volumen de tejido, o simplemente consistir en procesos de transducción basados en reacciones químicas, por lo que no sería necesaria ninguna estructura especialmente dedicada a la detección magnética (ENGSTRÖM & FITZSIMMONS, 1999; LOHMANN & JOHNSEN, 2000; JOHNSEN & LOHMANN, 2005). Por otra parte, las diferencias detectadas en los diversos comportamientos de orientación magnética entre las distintas especies animales indican que la magnetorrecepción no es un fenómeno uniforme y podría implicar la existencia de múltiples mecanismos de recepción y procesado de las señales magnéticas, con características peculiares en cada grupo animal (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005). Hasta la fecha se han propuesto diversos modelos teóricos para explicar la base del proceso por el cual los campos magnéticos pueden ser detectados por los animales (WALKER *et al.*, 2003). Entre ellos, las investigaciones más recientes se centran en tres grandes posibilidades: magnetorrecepción debida a procesos de inducción electromagnética, reacciones químicas dependientes del campo magnético y recepción mecánica basada en partículas de mineral de hierro (magnetita) (DIEGO-RASILLA & RODRÍGUEZ-GARCÍA, 2007).



- Magnetorrecepción mediante inducción electromagnética

Cualquier movimiento en un campo eléctrico produce un campo magnético inducido. De acuerdo al principio físico de *inducción electromagnética*, un electrón moviéndose a través de un campo magnético uniforme experimenta una fuerza perpendicular a su movimiento y a la dirección del campo. Tal como sugieren algunos modelos (LOHMANN & JOHNSEN, 2000; JOHNSEN & LOHMANN, 2005), sistemas biológicos basados en este principio podrían ser capaces de detectar cambios en la intensidad y polaridad del campo magnético terrestre, como se ha propuesto para explicar la orientación magnética de los peces elasmobranquios (KALMIJN, 1984; PAULIN, 1995). Según esta hipótesis, los electrorreceptores de tiburones y rayas (“ampollas de Lorenzini”) podrían utilizarse para detectar la dirección del campo geomagnético de forma bastante precisa, al actuar el agua marina como medio conductor estacionario. Así, cuando los peces nadan en diferentes direcciones, cruzan las líneas de campo a diferentes ángulos, lo que induce gradientes de voltaje que están en función de la orientación del pez (ABLE, 1980). Sin embargo, estos modelos de orientación magnética se complicarían si tenemos en cuenta los campos eléctricos inducidos por las corrientes oceánicas, ya que los animales tendrían que determinar cuál de los componentes del campo total que experimentan es atribuible a su propio movimiento y cuál al movimiento del agua. Además, aunque los electrorreceptores de elasmobranquios han demostrado ser lo suficientemente sensibles como para detectar las pequeñas diferencias de voltaje y la capacidad de orientación magnética se ha detectado en varias especies de tiburones y rayas (PAULIN, 1995; JOHNSEN & LOHMANN, 2005; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005), aún no existe ninguna prueba directa a favor de que la información obtenida mediante los mencionados procesos de inducción electromagnética sea realmente usada para la orientación en base a parámetros geomagnéticos. De hecho, los intentos de suministrar pruebas experimentales a esta hipótesis de magnetorrecepción han resultado normalmente fallidos (WALKER *et al.*, 2003). De forma adicional, en cualquier caso, esta hipótesis de magnetorrecepción sólo sería aplicable a los animales marinos, ya que requiere la existencia de un medio de alta conductividad eléctrica, como el agua de mar (LOHMANN & JOHNSEN, 2000; JOHNSEN & LOHMANN, 2005). Puesto que el aire no cumple las características requeridas por este modelo, animales terrestres como los anfibios no podrían llevar a cabo la magnetorrecepción mediante un proceso de



inducción electromagnética, sino que deben recurrir a otros mecanismos para el empleo de brújulas y mapas magnéticos, como los descritos a continuación.

- Magnetorrecepción química

Este tipo de mecanismos de magnetorrecepción, propuesto en varios modelos teóricos (DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999b; RODGERS & HORE, 2009), supone la existencia de reacciones bioquímicas moduladas por el campo magnético terrestre. Aunque a primera vista puede parecer poco probable que un campo magnético tan débil como el de la Tierra pueda influir en una reacción química, se han propuesto varios tipos de mecanismos en los que, bajo ciertas circunstancias, campos de tan baja magnitud como el terrestre son lo suficientemente fuertes como para provocar influencias apreciables en reacciones químicas específicas. Entre todos los modelos propuestos (LEASK, 1977; SCHULTEN, 1982, 1986; SCHULTEN & WINDEMUTH, 1986; RITZ *et al.*, 2000; WEAVER *et al.*, 2000; JOHNSEN & LOHMANN, 2005; MAEDA *et al.*, 2008), los que cuentan con mayor aceptación actualmente son aquellos que implican reacciones químicas con participación de los llamados “pares de radicales”, o pares de moléculas cargadas que se mantienen en proximidad dentro de una solución (SCHULTEN, 1986). Este tipo de moléculas poseen un número impar de electrones, con un electrón desapareado, y pueden asumir un momento magnético propio. Puesto que los electrones y el núcleo poseen momentos magnéticos intrínsecos proporcionales a su *spin* (SCHULTEN & WINDEMUTH, 1986), las moléculas formadas por muchos electrones y núcleos forman estados cuánticos con diferentes spines y diferentes momentos magnéticos, llamados estados “singlete” (aquellos que tienen spin igual a cero) y estados “triplete” (con spin uno). Las moléculas en diferentes estados de spin son también químicamente diferentes, poseyendo energías distintas y reaccionando de forma diferente, por lo que una transición desde un estado singlete a un estado triplete puede, por lo tanto, actuar como un interruptor molecular, iniciando una reacción sensorial, siendo ésta la premisa en la que se basan los modelos de compás magnético de tipo químico (LOHMANN & JOHNSEN, 2000).

El esquema de magnetorrecepción basada en un mecanismo de “par de radicales”, propuesto en primer lugar por SCHULTEN (1982, 1986; SCHULTEN & WINDEMUTH, 1986), ha sido desarrollado y ampliado de forma reciente (RITZ *et al.*, 2000; RODGERS & HORE, 2009) y ha conseguido reunir un número bastante elevado de

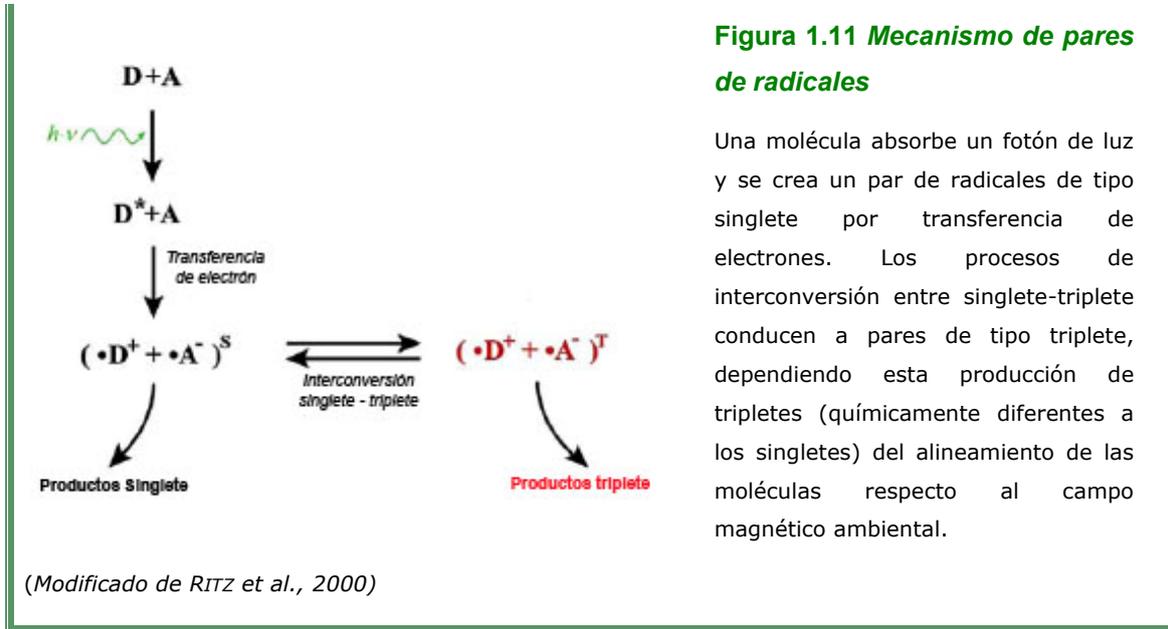


pruebas experimentales a su favor al aplicarlo tanto a aves como a anfibios (DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999b; RITZ *et al.*, 2002; JOHNSEN & LOHMANN, 2005). En concreto, el modelo propone una reacción bioquímica de transferencia de electrones fotoinducida, que es el modo más común de generar pares de radicales y que tendría como paso inicial la transferencia de un electrón desde una macromolécula donante excitada a una macromolécula receptora, quedando cada una con un electrón desapareado (ver figura 1.11). Como resultado, se pueden formar pares de radicales en estado singlete con spines antiparalelos, los cuales, por interconversión singlete-triplete pueden pasar a convertirse en pares de tipo triplete, con sus electrones libres con spines paralelos. Según este modelo, el campo geomagnético alteraría la dinámica de la transición entre diferentes estados de *spin* y, como consecuencia, la velocidad de producción de tripletes dependería del alineamiento de la macromolécula con respecto al campo magnético ambiental. Por lo tanto, esos productos químicamente diferentes pueden ser modulados por la fuerza y la dirección de un campo magnético externo, por lo que potencialmente proporcionarían las bases de un compás magnético (RITZ *et al.*, 2000).

Sin embargo, para que un campo magnético externo sea capaz de influir de modo apreciable en la probabilidad de transiciones entre estados singlete y triplete del par de radicales, se tienen que cumplir una serie de condicionantes. En primer lugar, los campos magnéticos internos creados por los spines nucleares de la molécula deben ser relativamente débiles. Además, la separación de los dos miembros del par de radicales debe mantenerse dentro de un rango espacial estrecho durante tiempo suficiente para que ocurran las conversiones entre estados (DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999b). Asimismo, para que el sistema sea lo suficientemente sensible como para detectar el débil campo magnético terrestre, la reacción de par de radicales debe ser relativamente lenta en términos químicos, durando en torno a 100 nanosegundos. Sin embargo, la reacción tampoco debiera ser excesivamente lenta, ya que en ese caso las correlaciones de spin se volverían aleatorias debido a procesos disruptivos (JOHNSEN & LOHMANN, 2005). Por último, la transferencia inicial de un electrón no debe aleatorizar las relaciones iniciales de spin (paralelas u opuestas) de los electrones de las dos macromoléculas que formarán el par de radicales. Para que todas estas condiciones se cumplan, la reacción del par de radicales debe tener lugar en el interior de membranas celulares y la transferencia inicial de un electrón, con la formación de pares de radicales, debe ser inducida por la



absorción de un fotón de luz (figura 1.11) (SCHULTEN, 1986; SCHULTEN & WINDEMUTH, 1986). Por lo tanto, según este modelo, los magnetorreceptores químicos deben ser también fotorreceptores. (RITZ *et al.*, 2000).



Para que la magnetorrecepción química proporcione información direccional y pueda servir como brújula en la orientación espacial, la producción de productos triplete resultante de la reacción ha de variar con la dirección en la que se mueve el animal. Por ello, estos modelos asumen que las macromoléculas afectadas (fotopigmentos) debieran estar en una disposición ordenada, orientadas en varias direcciones y manteniendo una posición fija en relación al animal (JOHNSEN & LOHMANN, 2005). Esta condición se cumple, por ejemplo, en la disposición esférica de los fotopigmentos en los ojos de los vertebrados o en el complejo pineal de anfibios (DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999b), donde de forma adicional se da la característica de que los fotorreceptores/magnetorreceptores están conectados a una cadena de transducción nerviosa. RITZ *et al.* (2000) sugirieron que los criptocromos podrían ser las moléculas fotorreceptoras responsables de la magnetorrecepción química. Los criptocromos son un tipo de fotopigmentos recientemente descubierto, que están relacionados con las fotoliasas y, al igual que éstas, poseen una serie de propiedades químicas cruciales para el funcionamiento del modelo, incluida la habilidad de formar pares de radicales tras procesos de fotoexcitación (RITZ *et al.*, 2002; JOHNSEN & LOHMANN, 2005). Estos criptocromos están implicados en los sistemas circadianos de plantas y animales y se han encontrado en la retina y en la



glándula pineal de muchos animales (NĚMEC *et al.*, 2005), incluidos los anfibios (DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999b).

El modelo de RITZ *et al.* (2000) propuso los ojos de los animales, concretamente los de las aves, como los centros de recepción del estímulo magnético, donde la disposición esférica de los fotorreceptores provocaría que los procesos de par de radicales generasen patrones de respuesta característicos en la retina. Esos patrones, cuyas manifestaciones específicas dependerían de la intensidad magnética, serían centralmente simétricos en torno al eje del campo geomagnético, permitiendo a aves y otros animales literalmente “ver” las líneas de campo magnético, en forma de un patrón de sombras (o variaciones de intensidad de luz o color), superpuesto sobre sus impresiones visuales y que girase con los movimientos de su cabeza (SCHULTEN & WINDEMUTH, 1986; RITZ *et al.*, 2000).

Aunque el modelo de magnetorrecepción química mencionado no dispone aún de ninguna prueba directa, puesto que todavía no se conoce ninguna reacción bioquímica concreta que se vea afectada por el campo geomagnético (TIMMEL & HENBEST, 2004), existen un gran número de evidencias a su favor. En primer lugar, una brújula o compás químico del tipo descrito sería, debido a sus características, un compás de inclinación, ya que los patrones de respuesta serían centralmente simétricos en torno al eje de las líneas de campo magnético, es decir, suministrarían información de tipo axial y no polar (RITZ *et al.*, 2000), lo cual está en consonancia con las propiedades descritas en las brújulas magnéticas de anfibios y otros grupos como aves y tortugas marinas (ver anteriormente). En segundo lugar, la característica más evidente de una magnetorrecepción basada en reacciones químicas y fotorreceptores es su dependencia de la luz, característica probada en la orientación magnética de tritones y aves, los cuales son incapaces de orientarse de forma correcta en situaciones de oscuridad total (PHILLIPS & BORLAND, 1992a; DIEGO-RASILLA, 2003; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005). Además, si en la magnetorrecepción están implicados ftopigmentos, es poco probable que éstos absorban la luz en todo el rango del espectro, por lo que el modelo predice que la orientación por compás magnético también debería verse modificada por las longitudes de onda de la luz incidente, tal como se ha probado en *N. viridescens* (PHILLIPS & BORLAND, 1992b; DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999a, b) y larvas de *Rana catesbeiana* (FREAKE & PHILLIPS, 2005) y *Pelophylax perezi* (DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2008). Asimismo, además de en



anfibios, efectos parecidos (si bien con peculiaridades en cada caso) de la longitud de onda de la luz ambiental sobre la magnetorrecepción se han encontrado en aves (WILTSHCKO & WILTSCHKO, 2006), en la mosca de la fruta (PHILLIPS & SAYEED, 1993) y el escarabajo de la harina (VÁCHA *et al.*, 2008). De forma adicional, los estudios realizados con distintas especies de aves indican que en estos animales la orientación magnética exhibe una dependencia más compleja de las distintas características de la luz y se han documentado tanto respuestas dependientes de longitudes de onda como efectos producidos por las distintas intensidades de luz (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005; WILTSCHKO *et al.*, 2005; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2006).

Otro paso crucial en la demostración del modelo de magnetorrecepción química es la identificación de la región receptora del estímulo magnético. Las consideraciones teóricas del modelo de RITZ *et al.* (2000) se han podido comprobar en aves, con el descubrimiento de que la percepción del estímulo magnético parece localizarse en el ojo derecho (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005). De igual manera, los ojos de mamíferos parecen estar también implicados en el proceso de magnetorrecepción (WEGNER *et al.*, 2006). En los tritones, sin embargo, los receptores magnéticos (al menos los responsables del sentido de brújula magnética) parecen no estar en los ojos, sino que están localizados en el complejo pineal, estructura de fotorreceptores implicada en la regulación de ritmos circadianos que en anfibios presenta una sensibilidad directa a la luz (DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999b; PHILLIPS *et al.*, 2001).

Por otra parte, evidencias adicionales a favor del modelo de magnetorrecepción química se han encontrado al estudiar otras propiedades de la brújula magnética en el caso de las aves, cuya sensibilidad parece estar limitada a un rango estrecho de intensidades magnéticas (aquellas que los animales hayan experimentado antes en su territorio o en sus movimientos). Esta estrecha “ventana funcional” de intensidades magnéticas, fuera de la cual las aves no son capaces de orientarse, podría explicarse debido a que la manifestación específica de los patrones visuales derivados de la modulación magnética en un mecanismo de par de radicales varía con la intensidad total del campo ambiental, tal como predice el modelo de RITZ *et al.* (2000) (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005). Otra prueba consistente con un mecanismo de par de radicales se ha obtenido en estudios recientes con aplicación de ondas de radio frecuencia a aves migradoras durante sus respuestas de orientación magnética. De acuerdo a sus



propiedades, las reacciones de par de radicales pueden ser perturbadas por campos magnéticos oscilantes de frecuencias específicas en el rango de los megahertzios (1-10 MHz), característica que puede proporcionar una potencial prueba diagnóstica al provocar procesos de resonancia en las transiciones singlete-triplete que anularían la posibilidad de orientación magnética, tal y como se ha comprobado que ocurre en aves (RITZ *et al.*, 2004; THALAU *et al.*, 2005). Estos procesos no podrían, sin embargo, explicarse recurriendo a otros mecanismos de magnetorrecepción ya que es muy poco probable que sistemas no basados en reacciones de par de radicales se vieran afectados por intensidades tan bajas (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005).

Aunque los posibles mecanismos fisiológicos implicados en la magnetorrecepción química son aún prácticamente desconocidos, el modelo de par de radicales se ha visto también apoyado recientemente por una serie de descubrimientos realizados en aves. Así, se han detectado respuestas electrofisiológicas a campos magnéticos en varias regiones del cerebro de aves que reciben proyecciones nerviosas procedentes del sistema visual. Por ejemplo, se han documentado respuestas magnéticas en células situadas en el *tectum opticum* y la raíz óptica basal (nBOR) y estudios similares realizados en la glándula pineal de palomas han puesto de manifiesto la existencia de zonas sensibles a cambios graduales en la fuerza de campos magnéticos tan débiles como el terrestre (JOHNSEN & LOHMANN, 2005). Por otra parte, la propuesta de que los criptocromos sean los fotorreceptores implicados en la magnetorrecepción (RITZ *et al.*, 2000) ha sido respaldada recientemente, al detectarse su expresión en células retinarias y de la glándula pineal, con activación neuronal durante el momento de magnetorrecepción y capacidad de formar pares de radicales bajo determinadas longitudes de onda de luz incidente (MÖLLER *et al.*, 2004; NĚMEC *et al.*, 2005; LIEDVOGEL *et al.*, 2007). Asimismo, estudios realizados en la mosca de la fruta demuestran que la correcta expresión de los criptocromos, activados por fotorreducción, es necesaria para el funcionamiento del compás magnético dependiente de la luz (GEGEAR *et al.*, 2008; HOANG *et al.*, 2008)

- Magnetorrecepción basada en partículas de magnetita

Aunque el modelo de magnetorrecepción química basado en fotorreceptores ha conseguido bastante apoyo experimental, no sirve sin embargo para explicar un gran



número de comportamientos de orientación magnética observados en animales. Así, aunque el compás magnético de anfibios, aves y moscas de la fruta se haya mostrado dependiente de la luz (DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999b), otros grupos animales, como tortugas marinas, ratas topo, abejas o el escarabajo de la harina (LOHMANN & LOHMANN, 1993; KIMCHI & TERKEL, 2001, WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1995; ARENDSE, 1978) son en cambio capaces de utilizar el campo magnético para orientarse incluso en oscuridad total. Por otra parte, como ya se ha comentado anteriormente, los tritones de la especie *Notophthalmus viridescens* presentan comportamientos de orientación magnética con una sensibilidad polar directa durante sus conducta de regreso al hogar, sensibilidad que igualmente se ha detectado en las conductas de orientación de roedores y peces salmónidos y que es difícilmente explicable recurriendo al modelo químico, que sólo permite la existencia de brújulas de inclinación (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005). Finalmente, los mecanismos de magnetorrecepción química tampoco son capaces de explicar la extremada sensibilidad magnética necesaria para ciertas tareas de navegación detectadas en varias especies, como el uso de un mapa de parámetros magnéticos para determinar posiciones geográficas. Sólo otro tipo de sistemas de magnetorrecepción, basados en minerales ferromagnéticos, podrían mostrar independencia de la luz y sensibilidad a la polaridad magnética, además de ser capaces de detectar cambios pequeños en los parámetros magnéticos con la resolución necesaria para un mapa de navegación (WALKER *et al.*, 2002; JOHNSEN & LOHMANN, 2005; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2006).

La magnetita es la única sustancia ferromagnética de origen biogénico que ha sido detectada en los animales (KIRSCHVINK *et al.*, 1985; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2006). Se trata de una forma específica de óxido de hierro (Fe_3O_4), cuyas propiedades generales dependen de la forma y tamaño de las partículas. De forma general, en este mineral se producen interacciones entre estados de spin que provocan que los spines de átomos adyacentes se alineen y acaben formando “dominios” con todos los spines paralelos. Así, las partículas grandes de magnetita incluyen múltiples dominios, con sus momentos magnéticos cancelándose en su mayor parte entre sí, mientras que las partículas de tamaño entre $1.2 \mu\text{m}$ y $0.05 \mu\text{m}$ consisten en un dominio único (“magnetita de un solo dominio”) y tienen momentos magnéticos estables, actuando como imanes permanentes diminutos. Este último tipo de partículas fueron encontradas por primera vez en los seres vivos en los años 70, en el interior de bacterias magnetotáticas



(BLAKEMORE, 1979; KIRSCHVINK, 1989), y desde su descubrimiento ha cobrado fuerza la idea de que la percepción de la información magnética esté mediada por mecanismos mecánicos consistentes en estos pequeños imanes biogénicos. Estas hipótesis de magnetorrecepción proponen, básicamente, que el movimiento de cristales de magnetita en el interior de células especializadas podría convertir la fuerza ejercida sobre las partículas por un campo magnético externo en una señal mecánica susceptible de ser detectada por el sistema nervioso.

Aunque aún no existe un concepto uniforme, han sido propuestos varios modelos de magnetorreceptores basados en consideraciones teóricas sobre diversos tipos de estructuras y cristales de magnetita (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005). Algunos de estos modelos se basan en cristales de magnetita de un solo dominio, los cuales funcionarían como imanes permanentes, girando respecto al alineamiento del campo magnético de la Tierra si se les permite rotar libremente en las estructuras receptoras. Por lo tanto, estos cristales podrían mediar la transducción de la información magnética de varias formas diferentes (por ejemplo, ejerciendo torsión o presión en receptores secundarios o mediando la apertura de canales de iones mediante asociación con filamentos de citoesqueleto) (WALKER *et al.*, 2002; JOHNSEN & LOHMANN, 2005; FLEISSNER *et al.*, 2007). En estos mecanismos hipotéticos, cadenas intracelulares de magnetita de un solo dominio podrían ser usadas por los animales para detectar tanto la dirección del vector magnético (ya que el alineamiento medio de los cristales seguirá la dirección del campo externo) como la magnitud de intensidad de campo (ya que el grado de dispersión de las partículas está en función de dicho parámetro). Es decir, los animales podrían obtener, con una sensibilidad máxima, tanto información de brújula magnética como información de los componentes del vector magnético, potencialmente utilizable en la configuración de mapas de gradientes (WALKER *et al.*, 2002).

Otros modelos similares de mecanismos de magnetorrecepción consideran otro tipo de partículas de magnetita más pequeñas que los cristales de un solo dominio. Estas partículas, denominadas “superparamagnéticas”, tienen distintas propiedades magnéticas que la magnetita de un solo dominio, ya que no tienen un momento magnético permanente y a temperatura ambiente su momento magnético fluctúa como resultado de procesos de reagitación térmica. Sin embargo, aunque estas partículas no pueden rotar físicamente para alinearse con campos magnéticos externos, también podrían ser



potencialmente utilizables para detectar información geomagnética. Así, el eje magnético de un cristal superparamagnético rastrea el eje de cualquier campo magnético, incluso aunque el propio cristal se mantenga estacionario. En campos magnéticos de fuerza similar al terrestre, los cristales superparamagnéticos pueden generar campos lo suficientemente fuertes como para atraer o repeler otros cristales vecinos, de forma que las interrelaciones entre cristales tendrían igualmente el potencial de transformar la señal magnética en información mecánica bajo ciertas condiciones (JOHNSEN & LOHMANN, 2005).

La detección de magnetita en animales es complicada debido a diversos factores. Los cristales de magnetita son difíciles de identificar microscópicamente, siendo demasiado pequeños para su detección por microscopía óptica convencional y demasiado poco abundantes en los tejidos para su detección por microscopía electrónica de transmisión. De forma adicional, los óxidos de hierro son contaminantes histológicos y ambientales comunes y pueden ser un subproducto de ciertos procesos biológicos, lo que acaba por complicar el estudio de posibles estructuras de detección magnética basadas en magnetita (WALKER *et al.*, 1997). Sin embargo, la magnetita ha terminado descubriéndose en un gran número de especies animales capaces de orientarse utilizando el campo magnético de la Tierra (como aves, salmones, tortugas marinas y anfibios; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005). Así, partículas de magnetita han sido localizadas en el abdomen de abejas, mientras que en la mayoría de vertebrados parece encontrarse en regiones de la parte frontal de la cabeza, como las lamelas olfativas de salmónidos, donde se han encontrado partículas de magnetita de un solo dominio (WALKER *et al.*, 1997) o el pico de aves, donde se han encontrado tanto cristales de un solo dominio como magnetita superparamagnética (HANZLIK *et al.*, 2000; FLEISSNER *et al.*, 2003; MORA *et al.*, 2004; FLEISSNER *et al.*, 2007a, b). En el caso de los anfibios, sólo existen pruebas de presencia de mineral ferromagnético en *Notophthalmus viridescens*, si bien no se ha definido el tipo de partículas ni su disposición espacial concreta (BRASSART *et al.*, 1999).

Recientemente, se han desarrollado una serie de experimentos que han conseguido aportar nuevas pruebas a la implicación de partículas de magnetita en la orientación magnética de los animales. Estos experimentos se basan en la utilización de campos magnéticos fuertes, aplicados en pulsos de corta duración en la cabeza de los



animales, de tal forma que se interfiriera con los potenciales magnetorreceptores alterando la magnetización de los cristales de magnetita. Estos pulsos magnéticos podrían invertir los momentos de dipolo de cristales de dominio único, siempre que el campo aplicado se alinee correctamente, sea lo suficientemente fuerte (en general 0.5 T) y lo suficientemente breve (3-5 ms de duración) para que las partículas no puedan rotar dentro del campo y escapar de la remagnetización (JOHNSEN & LOHMANN, 2005). De forma similar, bajo ciertas condiciones, estos tipos de campos también se podrían aplicar para alterar cristales superparamagnéticos, por lo que servirían para diagnosticar cualquier posible receptor basado en magnetita (WILTSCHKO *et al.*, 2002). Hasta la fecha, se ha demostrado que la aplicación de estos pulsos altera temporalmente el comportamiento de orientación magnética de varias especies de aves, roedores y tortugas marinas (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2006; WILTSCHKO *et al.*, 2007), sugiriendo que al menos alguna parte de sus sistemas de magnetorrecepción implican la presencia de magnetita.

4.2 Estímulos celestes

Las señales celestes son posiblemente las señales de tipo visual más fácilmente accesibles para la gran mayoría de organismos, por lo que no resulta sorprendente que sean utilizadas a modo de compás por gran cantidad de especies y en diversas conductas de orientación (ABLE, 1980).

- Sol

Desde 1923, cuando Felix Santschi obtuvo la primera evidencia del uso del sol como estímulo direccional en una especie de hormiga (SANTSCHI, 1923), la existencia de un compás solar se ha demostrado en una amplia variedad de animales (ABLE, 1980; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1993). Si bien el disco solar resulta un estímulo sobresaliente del entorno para su uso por especies diurnas, la vista del sol por sí misma no es suficiente para mantener direcciones de compás constantes, debido al movimiento aparente del sol en el cielo. Así, puesto que el sol parece moverse en el cielo diariamente siguiendo un rumbo de este a oeste, el ángulo de orientación a seguir respecto al sol por un animal durante un movimiento orientado dependerá de la hora del día. Por lo tanto,



para que un animal sea capaz de mantener una dirección constante de orientación en base a un compás solar, deberá ser capaz de memorizar las correspondientes relaciones entre cada hora del día y el valor de acimut solar (la dirección del sol en el horizonte, ver figura 1.12, que es el parámetro que parecen utilizar los animales; GOULD, 1998). Es decir, el uso de un compás solar implica la existencia de un complejo sistema de compensación, constituido por un reloj interno en fase con el sol, configurado tras aprendizaje o experiencia previa con el movimiento del sol en el cielo (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1993). En este sistema circadiano, el organismo no sólo debe conocer la hora local para corregir el movimiento diario del sol, sino que en aquellos animales de vida relativamente larga es necesaria cierta recalibración del reloj interno para compensar el cambio estacional en la relación entre acimut solar y hora del día (GOULD, 2004). De igual manera, el arco solar depende de la latitud geográfica, por lo que el compás solar tiene que estar adaptado a la situación local de la región donde viva el animal (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1993).

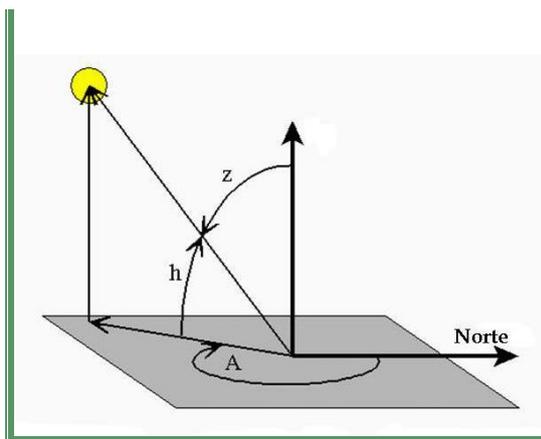


Figura 1.12 Acimut solar

El acimut del sol en un momento dado se mide como el ángulo (A) formado entre la dirección Norte geográfica y la proyección vertical del disco solar sobre el horizonte. [Otros parámetros en el diagrama: "h", elevación solar / "z", ángulo de cénit]

Para probar el empleo de un compás solar por parte de una especie animal se hace, por lo tanto, necesario demostrar la existencia del mencionado reloj interno, tal como llevó a cabo por primera vez Von Frish, con la abeja de la miel (VON FRISH, 1946). Investigaciones subsiguientes han demostrado el uso de un compás solar en numerosas especies animales, en su mayoría invertebrados (PARDI & GRASSI, 1955; ABLE, 1980; OLIVEIRA *et al.*, 1998 SCAPINI, 2006) y aves (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003), donde el funcionamiento del reloj circadiano solar ha sido estudiado ampliamente (KEETON, 1954; SCHMIDT-KOENING, 1965; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1981; BUDZYNSKI *et al.*, 2000).



En el caso de los anfibios, el compás solar compensado se ha demostrado en varias especies de anuros (FERGUSON *et al.*, 1965; FERGUSON & LANDRETH, 1966; FERGUSON *et al.*, 1967; LANDRETH & FERGUSON, 1968) y en urodelos de los géneros *Taricha* y *Ambystoma* (LANDRETH & FERGUSON, 1967; FERGUSON, 1971; ADLER, 1976), estando implicado en muchas ocasiones en conductas de orientación respecto al eje-Y. La mayoría de dichas investigaciones han utilizado protocolos en los cuales se altera el reloj interno de los individuos de experimentación. En estos protocolos, los animales de experimentación son mantenidos en un ambiente artificial, variando el ciclo luz-oscuridad de forma que su reloj interno pase a estar desfasado respecto al sol, con lo que posteriormente interpretarán mal el acimut solar. Estos experimentos tienen la ventaja de que el grado de error en el rumbo tomado por los individuos sometidos al tratamiento de desfase horario es predecible (de 15° por cada hora de desfase del reloj interno respecto al sol, ya que la dirección del acimut solar se mueve 15° cada hora; figura 1.13). En anfibios, se ha comprobado que la orientación mediante compás solar está mediada por receptores extraoculares y los ojos no parecen tener ningún papel en la detección del disco solar (TWITTY, 1966, TRACY & DOLE, 1969. LANDRET & FERGUSON, 1967; TAYLOR & FERGUSON, 1970; HERSHEY & FORRESTER, 1980). Concretamente, es el complejo pineal el que parece estar encargado de mantener el reloj interno en fase con el sol, y posiblemente también sea el responsable directo del uso del compás solar, tal como se ha demostrado en anuros (ADLER, 1970) y en dos especies de urodelos (*Notophthalmus viridescens* –DEMIAN & TAYLOR, 1977 - y *Ambystoma tigrinum* –TAYLOR, 1972).

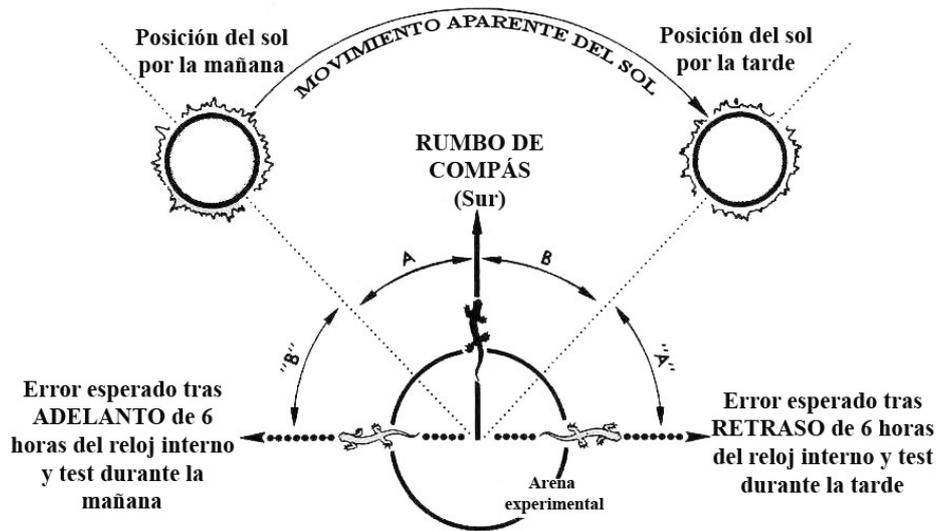


Figura 1.13 Efecto sobre el compás solar tras desfase del reloj interno en un tritón

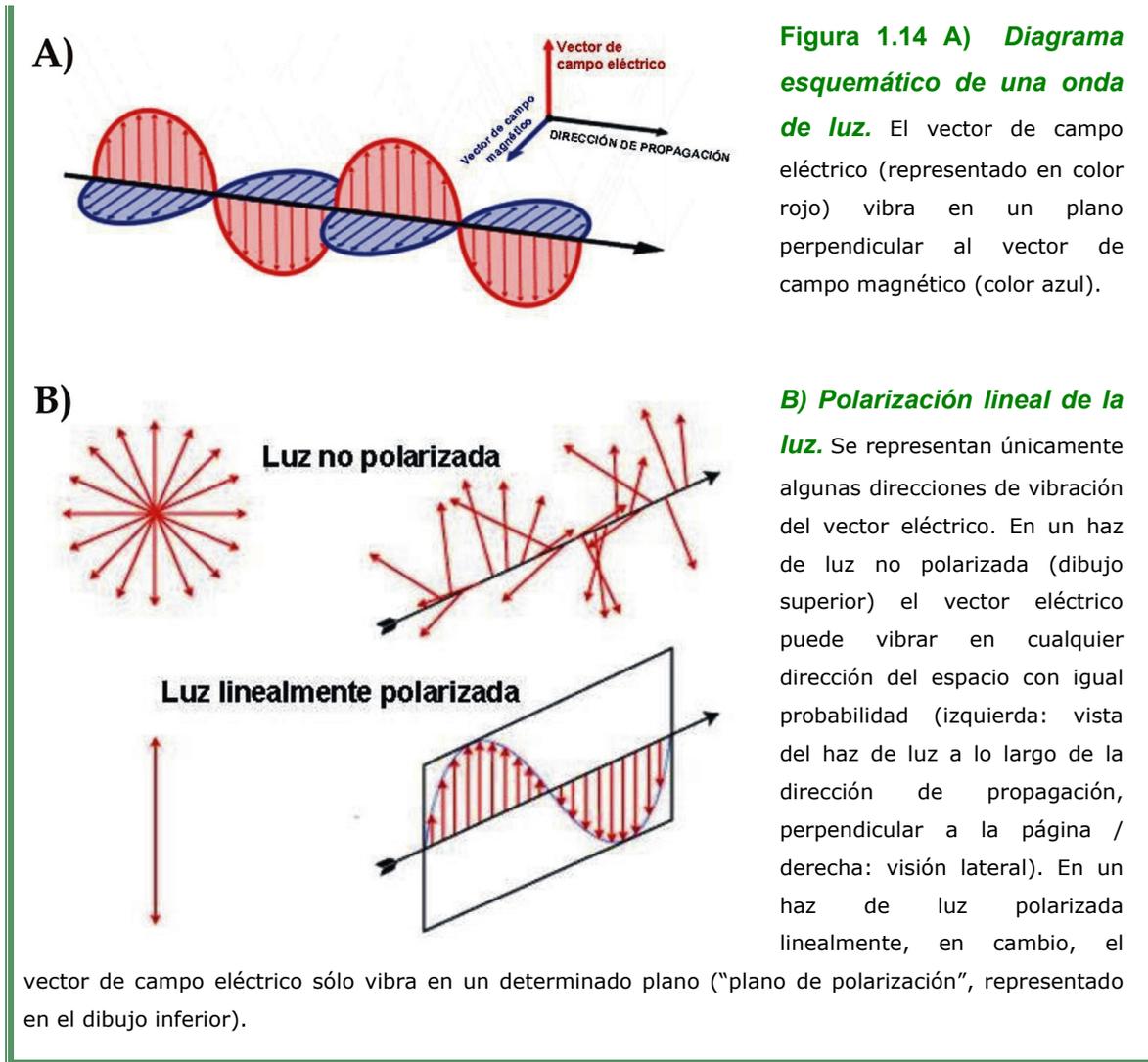
Los animales del grupo control serán capaces de tomar el rumbo de compás adecuado al ser ensayados en una arena experimental, independientemente de la hora del día (ya que su reloj interno está sincronizado con el fotoperiodo natural). Así, un animal moviéndose hacia el sur en el hemisferio boreal se orientaría hacia la derecha del sol por la mañana y hacia la izquierda del sol por la tarde. Sin embargo, los animales con su reloj interno adelantado o retrasado se moverán en direcciones equivocadas en 90° (en uno u otro sentido), al confundir la posición del sol por la mañana con la posición por la tarde (y viceversa) (Modificado de ADLER, 1976).

- Patrón de polarización de la luz

En lugar de utilizar la posición o acimut del disco solar como señal direccional, algunos animales recurren a características derivadas de la luz del sol para orientarse, tales como el plano de polarización de la luz (WEHNER, 2001). La luz, como onda electromagnética, posee una naturaleza transversal, con los vectores eléctricos y magnéticos asociados a ella formando ángulos rectos entre sí e igualmente perpendiculares a la dirección de propagación de la onda (figura 1.14A). La llamada “dirección de polarización” es una propiedad física intrínseca de la luz que se define como la dirección de vibración del vector eléctrico, correspondiente a la dirección de vibración atómica de cada átomo o molécula de la fuente luminosa (SERWAY, 1997). Debido a que la luz natural es una superposición de ondas producidas por fuentes atómicas individuales, todas las direcciones de vibración y direcciones de vector de campo eléctrico son igualmente probables (si bien en un punto dado y en un instante del



tiempo sólo hay un campo eléctrico resultante), por lo que el resultado es una onda luminosa “no polarizada” (figura 1.14B). Sin embargo, existen otros estados de polarización de la luz y se dice que una onda está “polarizada linealmente” (u “onda plana-polarizada”) si su vector eléctrico vibra siempre en una dirección preferente en cada punto particular, siendo el plano de polarización el formado por el vector eléctrico (o *e-vector*) y la dirección de propagación de la onda (SERWAY, 1997).



Es posible obtener un haz polarizado linealmente a partir de un haz no polarizado eliminando todas sus ondas de luz excepto aquellas cuyos vectores de campo eléctrico oscilan en un solo plano. En ambientes naturales tienen lugar diversos procesos de polarización de la luz, producidos por la dispersión de la luz del sol en la atmósfera e hidrosfera y la reflexión de la luz por el agua y otras superficies (WEHNER, 2001). Entre estos, la principal fuente de luz polarizada en la naturaleza (y que constituye la señal



direccional más conspicua para su uso en tareas de orientación; WEHNER, 2001) es la dispersión de los rayos solares en la atmósfera. Cuando la luz del sol incide sobre las moléculas de gas que conforman el aire, los electrones de éste pueden absorber y re-radiar parte de la luz, provocando que algunas ondas de luz pasen a vibrar en un plano predominante perpendicular a la dirección de propagación. Este proceso hace que la luz que atraviesa la atmósfera en cualquier momento se encuentre parcialmente polarizada, en un grado en función de la nubosidad de la atmósfera y el ángulo de incidencia de los rayos solares, al contener tanto ondas polarizadas linealmente como no polarizadas (figura 1.15; SERWAY, 1997). Esta polarización de la luz solar mediante dispersión origina un patrón radial simétrico de intensidades y ángulos de polarización, ordenado con respecto al sol y que varía de forma predecible según la posición del sol en cada momento. Por lo tanto, este patrón de polarización natural puede ser utilizado como una alternativa al compás solar en la orientación, tal como se ha demostrado que ocurre en algunas especies de anfibios y otros animales (ABLE, 1980; WEHNER, 2001). Este compás de polarización parece estar basado en la detección del vector eléctrico, o dirección de vibración predominante de las ondas de luz linealmente polarizada (plano o ángulo de polarización), independientemente de las variaciones en otros parámetros como la intensidad, grado de polarización y contenido espectral de la luz polarizada (WEHNER, 2001). El vector eléctrico puede proporcionar un eje de orientación para aquellos animales que puedan percibirlo, pudiendo también ser usado para determinar la posición del sol cuando éste no es directamente visible. Sin embargo, el plano de polarización de la luz por sí mismo únicamente proporciona información axial, lo que resultaría en una orientación de tipo bimodal en los animales que lo empleen para orientarse, a no ser que se tomen medidas de vector eléctrico a partir de dos puntos bastante alejados en el cielo o se utilice conjuntamente con otro tipo de información (ABLE, 1980).

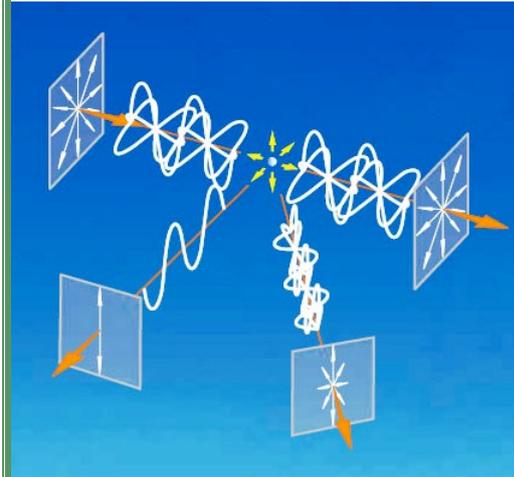


Figura 1.15 Polarización de la luz por dispersión en la atmósfera

Los rayos de luz solar sin polarizar (arriba izquierda) pueden permanecer despolarizados si alcanzan al observador de forma directa (arriba derecha), pero en otras condiciones son polarizados de forma natural debido a procesos de dispersión. En una atmósfera teórica (condiciones de Rayleigh) los rayos son polarizados linealmente con un grado de polarización del 100% si el ángulo de incidencia es de 90° (abajo izquierda). Otros ángulos de dispersión producirían grados de polarización menores (abajo derecha), con

lo que, en conjunto, la luz solar incidente se encuentra parcialmente polarizada en todo momento (Modificado de WEHNER, 2001).

Ya que el patrón de luz polarizada está directamente relacionado con la posición del sol en cada momento del día, para su uso en la orientación espacial se hace necesaria la existencia de un reloj biológico interno, al igual que en un simple compás solar, que compense el movimiento aparente del sol (ADLER, 1976; WEHNER, 1992; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1993). Sin embargo, un compás de luz polarizada puede resultar más útil que una brújula basada en la visión del sol, ya que puede funcionar en aquellas situaciones en las que el disco solar esté oculto e incluso en condiciones de niebla o nubosidad moderada o alta (POMOZI *et al.*, 2001; HEGEDÜS *et al.*, 2007). Así, el ángulo o patrón de polarización a través de las nubes, aunque más complejo que el producido por un cielo despejado, es cualitativamente similar al originado en ausencia de nubes, siempre que se cumplan ciertas condiciones bastante frecuentes en la naturaleza (principalmente, nubes no muy altas e iluminación directa del sol a la nube; POMOZI *et al.*, 2001). Si bien en una atmósfera teórica (“condiciones de Rayleigh”) el grado de polarización podría alcanzar el 100% bajo determinados ángulos de dispersión, en la atmósfera real el grado de polarización es siempre menor de 70%, y, a diferencia del ángulo de polarización, disminuye considerablemente cuanto mayor es la nubosidad (WEHNER, 2001). Aunque el grado de polarización en cielos encapotados suele ser menor de 16%, la mayoría de las especies animales parecen tener umbrales de sensibilidad a la luz polarizada aún menores (HORVÁTH & VARJÚ, 2006), por lo que podrían usar un compás de polarización incluso en condiciones de nubosidad extrema (HEGEDÜS *et al.*, 2007). Asimismo, aunque el grado de polarización pueda experimentar una gran variación en función de la nubosidad, el patrón de vector eléctrico se mantiene



relativamente constante, lo que explica que sea el ángulo de polarización, y no el grado, la principal señal óptica usada en este tipo de compases celestes (POMOZI *et al.*, 2001). Por otra parte, el uso de la luz polarizada en la orientación tiene otras ventajas frente al empleo de un simple compás solar, ya que únicamente requiere la visión de una pequeña área de cielo, por lo que puede resultar útil para especies que vivan en medios en los que no sea posible la visión directa del sol (por ejemplo, al estar oculto por vegetación densa). Igualmente, la información procedente de la polarización de la luz también está disponible al amanecer y al atardecer, cuando el disco solar ya se ha ocultado en el horizonte (WEHNER, 2001), lo cual permitiría su uso en especies de hábitos crepusculares, como es el caso de muchos anfibios (ABLE, 1980). Además, diversos estudios realizados con aves subrayan la importancia de la información de la luz polarizada obtenida durante el amanecer y el atardecer (MOORE, 1988; MUHEIM *et al.*, 2006b). En esos momentos del día (puesta y salida de sol), el patrón de polarización es más fuerte y útil como señal direccional, puesto que la “banda de máxima polarización” (región del cielo donde la intensidad de polarización es máxima, localizada siempre a 90° del disco solar) y el plano de polarización se encuentran en posición cenital (MUHEIM *et al.*, 2006b; HEGEDÜS *et al.*, 2007). Así, investigaciones llevadas a cabo con distintas especies de aves sugieren el uso del patrón de polarización del amanecer y el atardecer como marco de referencia para recalibrar otro tipo de compases (compás magnético, o incluso solar) en los momentos previos al inicio de las migraciones en este grupo animal (MOORE & PHILLIPS, 1988; PHILLIPS & WALDVOGEL, 1988; PHILLIPS & MOORE, 1992; ABLE & ABLE, 1995, 1996; SANDBERG *et al.*, 2000; MUHEIM *et al.*, 2006c, 2007).

Si bien en el caso de las aves aún no existe una prueba directa del uso de un compás de luz polarizada compensado (únicamente se ha probado el uso de la polarización como referencia para calibrar otros compases), este tipo de compás sí ha sido demostrado en otros grupos animales, siendo los insectos el grupo más estudiado (WEHNER, 1992). En especies como las hormigas del género *Cataglyphis*, las langostas del desierto *Schistocerca gregaria* o las abejas de la miel *Apis mellifera* se han realizado numerosas investigaciones, que han permitido elucidar las bases fisiológicas de la percepción de luz polarizada en este grupo animal (WEHNER, 1998; WEHNER & LABHART, 2006; KINOSHITA *et al.*, 2007). De esta forma, se ha comprobado que en insectos y otros invertebrados sensibles a la luz polarizada (BAINDRIDGE & WATERMAN,



1957; JOHNSEN, 1994; FLAMARIQUE & BROWMAN, 2000) la percepción del e-vector parece realizarse en la zona ultravioleta del espectro (410-430 nm) y ser dependiente del alineamiento de moléculas de rodopsina en los rabdómeros de ciertos omatidios de los ojos compuestos (WATERMAN, 1981; WEHNER & LABHART, 2006; GREINER *et al.*, 2007). Para el caso de los vertebrados, sin embargo, el conocimiento disponible acerca de los posibles mecanismos de recepción es más limitado (HORVÁTH & VARJÚ, 2004), si bien el uso del e-vector ha sido probado en varias especies de peces (WATERMAN & FORWARD, 1970; QUINN & BRANNON, 1982; HAWRYSHYN & BOLGER, 1990; NOVALES-FLAMARIQUE *et al.*, 1998; PARKYN *et al.*, 2003) y dos especies de reptiles (ADLER & PHILLIPS, 1985; FREAKE, 1999, 2001). Asimismo, el compás de polarización se ha demostrado en dos especies anfibios, un urodelo y un anuro, concretamente en salamandras de la especie *Ambystoma tigrinum* (ADLER & TAYLOR, 1973; TAYLOR & ADLER, 1973, 1978) y larvas de *Rana catesbeiana* (TAYLOR & AUBURN, 1978; AUBURN & TAYLOR, 1979). En ambos casos, el uso del ángulo de polarización está implicado en la orientación respecto al eje Y, y parece estar mediado por receptores extraoculares (ADLER & TAYLOR, 1973; TAYLOR & ADLER, 1978; AUBURN & TAYLOR, 1979), de forma similar a lo propuesto para reptiles (donde el ojo parietal parece ser el encargado de la orientación por luz polarizada, ADLER & PHILLIPS, 1985; FREAKE, 2001) y a diferencia de otros vertebrados como peces y aves (donde se ha propuesto la implicación de distintos tipos de receptores retinarios, DELIUS *et al.*, 1979; CAMERON & POUGH, 1991; NOVALES-FLAMARIQUE *et al.*, 1998). Concretamente, el complejo pineal de anfibios (órgano frontal en anuros) posee una organización de fotorreceptores que posibilitaría la detección del e-vector y parece ser el centro encargado de mediar la orientación por luz polarizada (ADLER, 1970; ADLER, 1976; TAYLOR & ADLER, 1978), al igual que ocurre con la orientación por compás magnético dependiente de la luz (PHILLIPS *et al.*, 2001) o la orientación por compás solar (TWITTY, 1966; TAYLOR & FERGUSON, 1970). De hecho, es posible que la gran mayoría de comportamientos de orientación solar detectados en anfibios se basen realmente en el análisis de la luz polarizada procedente del sol, y no en la visión del disco solar por sí mismo (ADLER, 1976).

- Luna y estrellas

De forma análoga al uso del sol en los movimientos orientados de especies diurnas, para aquellas de hábitos nocturnos parece lógico suponer el uso de estímulos direccionales propios del cielo nocturno, tales como la luna o las estrellas. De hecho, la



navegación guiada por las estrellas está bien documentada en la migración de diversas especies de aves (ABLE, 1980; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1993), donde se ha demostrado el uso del patrón formado por las estrellas y constelaciones para localizar el “punto polar” (EMLEN, 1972, 1975; WEINDLER *et al*, 1997; SANDBERG *et al*, 2000). Este punto, alrededor del cual parecen rotar las estrellas en la bóveda celeste, permite deducir la posición de la dirección norte o sur geográfica y parece ser utilizado por las aves como punto de referencia para el desarrollo de sus capacidades de orientación (compás estelar en conjunción con un compás magnético -ABLE & ABLE, 1996; WEINDLER *et al*, 1996; MOURITSEN, 2000; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003).

Al igual que el sol, la luna también proporciona un estímulo direccional potencial. Sin embargo, la complejidad de las efemérides lunares dificulta mucho su uso como referencia direccional externa en la orientación. En primer lugar, la luna no está siempre presente en el cielo nocturno, sino que sólo es visible durante una parte de cada ciclo lunar. Además, durante el tiempo que es visible, su forma, tamaño aparente y posición en el cielo varían de una noche a otra, así como las horas de salida y puesta de luna. Por lo tanto, para usar la luna como compás o brújula en la navegación, un animal tendría que poseer un reloj interno finamente calibrado, en fase con el movimiento de la luna y el ciclo lunar. Este mecanismo sería realmente complejo y supondría, para algunos organismos, la existencia de dos sistemas de biorritmos independientes y con distinto periodo, uno en fase con el ciclo día-noche y calibrado con respecto al sol y otro reloj interno diferente, que operase a un ritmo ligeramente menor y calibrado con respecto a la luna (WALLRAF, 1981; PAPI, 1992; GOULD, 1998; UGOLINI *et al*, 1999).

Sin embargo, a pesar de las dificultades teóricas, la existencia de un compás lunar se ha probado en varias especies de invertebrados, destacando las investigaciones realizadas con anfípodos, donde el compás lunar fue descrito por primera vez (PAPI & PARDI, 1953a, b) y parece ser un sistema innato, regulado por un reloj interno independiente y que coexiste con un compás solar compensado. (PAPI, 1960; UGOLINI *et al*, 1999, 2002, 2003, 2007). Asimismo, investigaciones recientes han demostrado el uso del patrón de polarización de la luz lunar (de características similares al formado por el sol durante el día, pero de mucha menor intensidad) en una especie de escarabajo nocturno (*Scarabeus zambesianus*; DACKE *et al*, 2003), lo que sugiere la posibilidad de encontrar mecanismos similares en otras especies.



Hasta la fecha, el uso de un compás lunar no ha sido claramente demostrado para ninguna especie de vertebrado. Sin embargo, en el caso concreto de los anfibios sí existen datos que sugieren una orientación basada en la percepción del cielo nocturno (bien la luna o las estrellas), tanto en la orientación respecto al eje Y de algunas especies de anuros (FERGUSON *et al.*, 1965; FERGUSON & LANDRETH, 1966; TRACY & DOLE, 1969) como en la orientación de regreso al hogar de urodelos (*Triturus marmoratus*, DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2002).

4.3 Referencias geográficas

Otra fuente de información direccional útil en los mecanismos de orientación es el propio reconocimiento visual de estructuras prominentes del terreno, que pueden ser usadas como puntos de referencia durante los movimientos orientados o en conjunción con información de compás en la configuración de mapas cognitivos de áreas familiares (ver sección 3.3). El uso de referencias geográficas en la orientación de regreso al hogar ha sido bien estudiado en varias especies de aves y otros grupos animales (ABLE, 1980; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003; GOULD, 2004). En el caso concreto de los anfibios, estructuras sobresalientes del entorno como troncos de árboles o zonas de mayor densidad de arbustos parecen tener un papel importante en los movimientos de corta distancia, dispersión de juveniles o en la fase final de las migraciones reproductoras, al ofrecer lugares de refugio terrestre y actuar asimismo como puntos de referencia para mecanismos de pilotaje o inversión de la ruta (RUSSELL *et al.*, 2005). Así, la importancia de este tipo de referencias visuales adyacentes a las charcas de reproducción ha sido estudiada en varias investigaciones, basadas en el seguimiento en el campo de los movimientos de especies de anuros (DOLE, 1965; HEUSSER, 1969; SINSCH, 1990b) y urodelos (PLASA, 1979; JEHLE & ARNTZEN, 2000; MALMGREM, 2002; MARTY *et al.*, 2005). De forma adicional, la capacidad de memorizar pistas visuales y usarlas en la orientación también ha sido probada en experimentos de laboratorio consistentes en el entrenamiento de anuros en arenas circulares (ADLER, 1980; DALL'ANTONIA & SINSCH, 2001).



4.4 Estímulos químicos

De acuerdo a varias investigaciones, la detección de señales químicas u olores característicos procedentes de la charca de reproducción juega un papel fundamental en las conductas de orientación de regreso al hogar de anfibios migrantes (SINSCH, 1992; RUSSELL *et al.*, 2005; SINSCH, 2006). La importancia de la olfacción en la navegación de anfibios ha sido puesta de manifiesto en diversas especies, comenzando con los experimentos realizados por Twitty y colaboradores (TWITTY, 1966) con *Taricha granulosa*, donde tritones cuyos nervios olfativos habían sido dañados se mostraron incapaces de encontrar el rumbo correcto de regreso a su charca (mientras que sí lo hacían aquellos sin ojos). Desde entonces, varias investigaciones, utilizando protocolos menos invasivos, han probado igualmente la existencia de mecanismos de pilotaje hacia las charcas de reproducción guiados por olores en varias especies de urodelos (GRANT *et al.*, 1968; JOLY & MIAUD, 1989, 1993; HERSHEY & FORESTER, 1980) y anuros (GRUBB, 1973, 1975; SINSCH, 1987; SUMUSA *et al.*, 1995). Igualmente, la preferencia de los anfibios por las marcas de olor características del agua de la charca de reproducción en la elección de sustratos ha sido estudiada también empleando protocolos de laboratorio (MARTOF, 1962; GRUBB, 1976; MCGREGOR & TESKA, 1989). Por otra parte, otras investigaciones también han señalado el reconocimiento y seguimiento, por parte de urodelos migrantes, de las marcas de olor dejadas en el sustrato por otros congéneres al moverse durante sus migraciones, lo que parece ayudar a individuos juveniles o inexpertos a tomar los rumbos de migración adecuados (HAYWARD *et al.*, 2000). Asimismo, el pilotaje olfativo también parece intervenir en la conducta de búsqueda de agua por parte de sapos (*Bufo bufo*) deshidratados (RESHETNIKOV, 1996) y en la localización de refugios terrestres por parte de varias especies de salamandras (GAUTIER *et al.*, 2004, 2006).

En otros grupos animales, como las aves, también existe una amplia literatura acerca del uso de señales químicas en la orientación espacial (ABLE, 1980, 1996; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1993). En el caso concreto de las aves, varios estudios con palomas han sugerido la existencia de mapas de navegación basados en olores, formados por un mosaico de sustancias químicas donde fuentes de olor discretas funcionarían de la misma forma que referencias geográficas visuales en un mapa de lugares (PAPI, 1976,



1982, 1986; GANZHORN, 1990). Incluso, algunos autores han llegado a proponer la existencia de una verdadera navegación enteramente basada en la detección de gradientes de olores (WALLRAFF, 1996; GUILFORD *et al.*, 1998; WALLRAFF, 2004; IOALÈ *et al.*, 2007). Según estas hipótesis, palomas y otras aves serían capaces de desarrollar un mapa olfativo de gradientes de tipo radial mediante la asociación de sensaciones olfativas (debidas a distintas sustancias químicas en suspensión en la atmósfera) con las direcciones predominantes del viento. En estos modelos, los animales no se basarían tanto en la concentración absoluta de dichas sustancias, sino en las relaciones cuantitativas o índice de variación entre ellas, puesto que las concentraciones de cada sustancia en la atmósfera formarían gradientes espaciales de direcciones más o menos fijas (WALLRAFF, 2004). Sin embargo, aunque este tipo de mapa olfativo ha recibido bastante apoyo experimental y sus defensores sostienen que constituye el modo de navegación fundamental utilizado por las aves, al ser válido incluso para desplazamientos de largas distancias (WALLRAFF, 2004), también es una hipótesis que ha recibido una gran cantidad de argumentaciones en su contra y actualmente genera gran controversia (WALDVOGEL & PHILLIPS, 1982; ABLE, 1996; GOULD, 1998; GUILFORD *et al.*, 1998; WILTSCHKO & WITSCHKO, 2003; PHILLIPS *et al.*, 2005b). En cualquier caso, si bien el uso de un mapa de olores ha sido también sugerido para anfibios (SINSCH, 1990a), no ha recibido ningún apoyo experimental y la totalidad de investigaciones realizadas hasta la fecha con anfibios sólo demuestran la utilidad de los estímulos químicos para la orientación en áreas familiares y distancias cortas, quizá sólo unos centenares de metros (PHILLIPS *et al.*, 2005b). Así, para animales de movimiento tan limitado como los anfibios, la habilidad para orientarse por los olores de la charca de reproducción depende en gran medida de la intensidad del gradiente olfativo, por lo que posiblemente sólo tenga importancia en las cercanías inmediatas de la charca y en los últimos momentos de las migraciones reproductoras (RUSSELL *et al.*, 2005). De forma adicional, la utilidad de las pistas olfativas es aún menor en el interior de hábitats boscosos, puesto que el régimen turbulento de aire propio de esos medios elimina cualquier posible relación existente entre la dirección del viento a nivel atmosférico y la dirección de las corrientes de aire a nivel del suelo, donde se encuentran los anfibios (HUTCHISON & HICKS, 1985; BALDOCCHI, 1989).



4.5 Estímulos acústicos y otros

De forma adicional a los estímulos magnéticos, visuales o químicos, se ha descrito una gran variedad de tipos de señales que pueden ser útiles en las conductas de orientación espacial de los animales. Así, por ejemplo, el uso de señales acústicas como ayuda en las migraciones, probado en aves (QUINE, 1982), se ha demostrado también recientemente en el caso de los anfibios. DIEGO-RASILLA & LUENGO (2004b) probaron por primera vez el uso de estímulos sonoros en la orientación de tritones jaspeados (*Triturus marmoratus*), los cuales se mostraron capaces de reconocer de forma específica los cantos de las especies de anuros con las que compartían su charca de reproducción. Dichos cantos, hacia los que los tritones mostraron una clara fonotaxis, podrían servir como ayuda en la orientación en las últimas etapas de las migraciones de regreso al hogar o bien jugar un papel en la dispersión hacia nuevos medios acuáticos. Más recientemente, una conducta similar ha sido también descrita en *Lissotriton helveticus* (DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2007) y *Lissotriton vulgaris* (PUPIN *et al.*, 2007). De forma similar a este reconocimiento heterospecífico de cantos de anuros por parte de urodelos, varios estudios también han sugerido la utilidad de dichos cantos como ayuda en la orientación de regreso a las charcas por parte de las propias especies de ranas y sapos que los producen (BATTSTROM, 1962; SINSCH, 1990a, 1992).

Por otra parte, otra clase de señales, de tipo táctil o inercial, pueden ser utilizadas por los animales en sus movimientos orientados en asociación con algún otro marco de referencia o información de compás (BARLOW, 1996). Ejemplos de este tipo de señales son la detección de olas y corrientes oceánicas, empleadas por peces, invertebrados marinos y tortugas marinas (ABLE, 1980; RODRIGO, 2002; LOHMANN & LOHMANN, 1996) o la percepción de la dirección del viento, que juega un cierto papel en la navegación de algunas especies de insectos y aves migratorias (ABLE, 1980). Aunque las mencionadas señales no juegan papel alguno en la orientación de animales terrestres como los anfibios, otro tipo de información táctil como es la suministrada por la pendiente o inclinación del sustrato sí que presenta gran importancia en los movimientos de anfibios, los cuales, en ausencia de otro tipo de estímulos direccionales, tienden a moverse pendiente abajo, tratándose posiblemente de una respuesta instintiva de búsqueda de agua (más probable de encontrar en las depresiones del terreno; OMLAND, 1998; DALL'ANTONIA & SINSCH, 2001).

II

METODOLOGÍA GENERAL





II. METODOLOGÍA GENERAL

1. Especies estudiadas

1.1 Acerca de *Triturus marmoratus* (tritón jaspeado)

El tritón jaspeado, *Triturus marmoratus* (Latreille, 1800) es un urodelo (familia Salamandridae) distribuido por el noroeste de la Península Ibérica y el centro y oeste de Francia. En la Península ocupa la mitad septentrional al norte del Sistema Central, si bien cruza hacia la vertiente sur de dicho sistema por tres zonas (este de la Sierra de Guadarrama, Sierra de Gata y Serra da Estrela en Portugal). Las poblaciones de la mitad sur peninsular, tradicionalmente incluidas en esta especie, corresponden sin embargo a *Triturus pygmaeus*, una especie bien caracterizada a nivel morfológico y molecular (ALBERT & GARCÍA-PARÍS, 2002). El tritón jaspeado falta o es muy escaso en la submeseta norte y se rarifica en la cornisa cantábrica, correspondiendo por otra parte el límite oriental de su área de distribución a poblaciones puntuales de Zaragoza, valle del Ebro, zonas próximas a Soria y Navarra y dos núcleos poblacionales catalanes (en Girona y Tarragona). El área de distribución de esta especie se corresponde a zonas de dominio climático eurosiberiano y supramediterráneo (aunque alcanza zonas mesomediterráneas en los valles del Duero y Ebro y en algunas vertientes del Sistema Central). Si bien puede encontrarse desde el nivel del mar hasta los 2100 metros (Sierra de Guadarrama), por lo general su presencia se rarifica mucho por encima de los 1000 metros de altitud (ALBERT & GARCÍA-PARÍS, 2002; MONTORI & HERRERO, 2004). Ocupa gran variedad de ambientes y utiliza distintos tipos de medios acuáticos para su reproducción, tanto naturales como artificiales, aunque es mucho más abundante en masas de agua con abundante vegetación acuática y preferentemente escasa insolación, ya que las elevadas temperaturas del agua ralentizan el desarrollo e incrementan la mortalidad larvaria (JAKOB *et al.*, 2003). En la zona de estudio se encuentra cerca del límite de su área de distribución, si bien es uno de los anfibios más abundantes de la zona y ocupa tanto charcas permanentes como temporales, prefiriendo medios acuáticos con abundante vegetación situados en praderas o zonas abiertas de robledales. No utiliza arroyos o aguas corrientes en general (LIZANA *et al.*, 1989). El estado global de conservación de sus poblaciones puede considerarse aceptable y se encuentra catalogado



en España como especie de “interés especial” y de “preocupación menor” (LC) en cuanto a su estado de conservación. Asimismo, esta especie está incluida en el anexo IV de la Directiva de Hábitats europea (RD 1997/95, de “interés comunitario”) y en el anexo III del Convenio de Berna.

Los adultos de tritón jaspeado poseen una talla media, generalmente entre 120 y 140 mm de longitud total. Cuerpo robusto con cabeza deprimida, morro ancho y redondeado y cola comprimida lateralmente, más gruesa en su segmento proximal y terminada en punta sin filamento caudal. La coloración general es de fondo verde-amarillento con manchas negruzcas de gran tamaño formando un reticulado y frecuentemente unidas formando bandas. El vientre es grisáceo o casi negro con abundantes punteaduras de color blanco, si bien existe variabilidad interpoblacional en cuanto al diseño y en varias poblaciones de Madrid y de la zona de estudio (Salamanca) se han encontrado individuos con conspicuas manchas marmóreas ventrales (MONTORI & HERRERO, 2004). Durante el celo, los machos presentan una cresta dorso-caudal muy desarrollada de borde ondulado, que presenta un diseño de bandas verticales alternando colores oscuros y claros; esta cresta es reabsorbida en su mayor parte después del celo. Asimismo, los machos poseen una banda blanca recorriendo longitudinalmente el centro de los costados de la cola, que no suele presentarse en hembras de tritón jaspeado. Las hembras, por su parte, carecen de cresta dorsal y en su lugar presentan un pequeño surco anaranjado o amarillento, que se continúa por la carena de la cola. Las hembras también alcanzan tallas mayores que los machos y presentan una cloaca menos desarrollada y de sección más oval. Las larvas de tritón jaspeado, acuáticas hasta su metamorfosis, son de color blanquecino con dos líneas dorsales de color cobrizo, largas falanges y cresta dorsocaudal desarrollada con manchas oscuras cuando poseen las cuatro extremidades. Presentan una talla en torno a 10 mm en el momento de eclosionar y la metamorfosis se produce a una talla media de 23.5 mm. Como la mayoría de tritones europeos, el tritón jaspeado presenta un ciclo de vida complejo, con fases acuáticas y terrestres, tratándose de una especie bien adaptada a la vida fuera del agua (MONTORI & HERRERO, 2004).

El periodo reproductor en zonas próximas al área de estudio se inicia en invierno y finaliza en abril (LIZANA *et al.*, 1989). Esta época de reproducción se inicia un poco más tarde que la entrada en el agua de los adultos, siendo normalmente los machos los primeros que acuden a las charcas de reproducción, unos quince días antes que las



primeras hembras (MONTORI & HERRERO, 2004). El cortejo, que se puede subdividir en una fase de exhibición y otra de transmisión del espermátforo, se realiza en el agua y preferentemente durante la noche. Los huevos, algo ovalados y de color blanco-amarillento, poseen un diámetro entre 1.5 y 2 mm (4 mm con la cubierta gelatinosa hidratada completamente) y son depositados de forma individual en la vegetación sumergida. La eclosión se produce a los 14-15 días de la puesta y el periodo de desarrollo larvario es muy variable de una localidad a otra y según condiciones ambientales (MONTORI & HERRERO, 2004). Estudios realizados en zonas de Salamanca registran metamorfosis de julio a noviembre, con el máximo en octubre (LIZANA *et al.*, 1989). Los juveniles recién metamorfoseados abandonan el agua y no regresan al medio acuático hasta la madurez sexual (BARBADILLO *et al.*, 1999).



Macho de *Triturus marmoratus*. La Rinconada de la Sierra

Si bien la fase acuática de los tritones jaspeados se extiende como norma general desde mediados de otoño hasta finales de primavera, existe gran variación en los patrones de actividad de una localidad a otra. Así, en zonas de la provincia de Salamanca (Villasrubias) se ha descrito una actividad acuática continua de junio a marzo, con permanencia de algunos ejemplares en el agua tras finalizar el periodo reproductor (LIZANA *et al.*, 1990). Igualmente, aunque se trata de una especie de urodelo de hábitos principalmente nocturnos, en la zona de estudio se pueden encontrar tritones activos en fase acuática durante todo el día (LIZANA *et al.*, 1989; observaciones personales). Por



otra parte, también se pueden dar casos de hibernación en poblaciones de mayor altitud (MONTORI & HERRERO, 2004).

La información disponible sobre las migraciones reproductoras de esta especie es escasa. Estudios sobre sus patrones de migración basados en el vallado de charcas de cría y seguimientos por radiotelemetría muestran una alta fidelidad por el medio acuático de reproducción y las direcciones mayoritarias de migración, que transcurren preferentemente por zonas boscosas, evitando áreas desarboladas (JEHLE, 2000; JEHL & ARTZEN, 2000; MARTY *et al.*, 2005). Por otra parte, el conocimiento existente acerca de los estímulos direccionales utilizados por esta especie en la orientación espacial se reduce a dos investigaciones recientes, habiéndose probado la implicación de información procedente del cielo nocturno en la conducta de regreso al hogar (DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2002), así como la capacidad de fonotaxis hacia cantos de anuros simpátricos (DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2004b).

1.2 Acerca de *Lissotriton boscai* (tritón ibérico)

El tritón ibérico, *Lissotriton boscai* (Lataste, 1879) es un tritón (Salamandridae) de pequeño tamaño que se encuentra distribuido por la mitad occidental de la Península Ibérica. Especie hasta hace poco incluida en el género *Triturus*, una serie de estudios han mostrado claramente la parafilia de dicho género (LARSON *et al.* 2003; GARCÍA-PARÍS *et al.* 2004), por lo que actualmente se ha propuesto la división de los tritones paleárticos en varios géneros, siendo los taxones *Triturus*, *Mesotriton* y *Lissotriton* los incluidos en el territorio español (GARCÍA-PARÍS *et al.* 2004). Tanto en el caso del tritón ibérico como en el de las otras especies citadas en este texto se ha optado por utilizar las recomendaciones taxonómicas incluidas en la versión más actual de la Lista Patrón de los Anfibios y Reptiles de España publicada por la Asociación Herpetológica Española (MONTORI *et al.*, 2005)

Su distribución se ajusta a la del grupo de especies procedentes del núcleo noroccidental de la Península, correspondiéndose con las áreas de refugio de bosque caducifolio durante las últimas glaciaciones. Se encuentra preferentemente en zonas entre 400 y 1000 metros de altitud sobre el nivel del mar, si bien se ha citado en zonas



montañosas de hasta 1800 m (DÍAZ-PANIAGUA, 2002; MONTORI & HERRERO, 2004). Ocupa hábitats de carácter mediterráneo oceánico y continental, encontrándose en biotopos muy diversos (pinares, bosques de encinas, alcornoques o robles, zonas de matorral, cultivos...) (DÍAZ-PANIAGUA, 2004). Para su reproducción, el tritón ibérico utiliza diversos tipos de medios acuáticos. Así, aunque se ha citado su presencia en charcas permanentes, en el caso concreto de la sierra salmantina (donde se cita como abundante, MONTORI & HERRERO, 2004) es más frecuente en puntos de agua de baja entidad, tales como pequeñas charcas temporales, riachuelos, pozos, abrevaderos, fuentes o acequias (LIZANA *et al.*, 1989; DÍAZ-PANIAGUA, 2004). De cara a su estatus de conservación, a escala nacional se considera abundante y poco amenazada, catalogada como “de preocupación menor” (LC), si bien se hace escasa en los límites orientales de su área de distribución (DÍAZ-PANIAGUA, 2002). Al igual que el tritón jaspeado y otras especies de anfibios, el tritón ibérico se encuentra así mismo incluido el anexo IV de la Directiva de Hábitats europea (RD 1997/95, de “interés comunitario”) y en el anexo III del Convenio de Berna.

Los adultos de tritón ibérico pueden alcanzar hasta 97 mm de longitud total. La cola, de similar longitud al cuerpo, está comprimida lateralmente y en los machos acaba en un pequeño filamento. La coloración de cabeza y dorso suele ser de color pardomarrón, mientras que el vientre es de color anaranjado o rojizo, sobre el que destacan conspicuas manchas o puntos negros, irregularmente dispuestos pero más frecuentes en las zonas laterales (BARBADILLO *et al.*, 1999). Los machos poseen el cuerpo más estilizado y alcanzan una menor longitud que las hembras, no desarrollando cresta dorsal, sino sólo una cresta caudal baja durante el periodo de celo. Asimismo, la coloración corporal de los machos es más contrastada que en las hembras, mostrando de forma más clara una franja longitudinal blanquizca y brillante en el extremo final de la cola. El mamelón cloacal de los machos presenta una forma globosa protuberante y suele adquirir color anaranjado, mientras que las hembras poseen una cloaca cónica y dirigida hacia atrás, acabada en una pequeña apertura elíptica. Por su parte, las larvas nacen con una longitud total de unos 8-10 mm y presentan una coloración amarillenta, que se va tornando más oscura al aumentar el desarrollo. Al finalizar el desarrollo, las larvas alcanzan una longitud hocico-cloaca máxima de 18.1 mm (38 mm de longitud total) (MONTORI & HERRERO, 2004), siendo 16 mm la longitud hocico-cloaca media del comienzo de la metamorfosis en la zona estudiada (observación personal). Las larvas



son enteramente acuáticas hasta su metamorfosis, mientras que los adultos poseen fases terrestres y acuáticas, siendo esta última la predominante en la mayoría de las poblaciones (CAETANO & LECLAIR, 1999; DÍAZ-PANIAGUA, 2004). Los tritones ibéricos adultos poseen una variación significativa de tamaño corporal a lo largo de su área de distribución (DÍAZ-PANIAGUA *et al.*, 1999) y, asimismo, análisis filogeográficos recientes utilizando marcadores mitocondriales han identificado dos linajes distintos de *Lissotriton boscai*, cada uno de ellos con tres clados (MARTÍNEZ-SOLANO *et al.*, 2006). Las poblaciones de tritón ibérico estudiadas en este trabajo formarían parte del mismo clado que el resto de poblaciones del Sistema Central, mientras que el linaje correspondiente a las poblaciones de *L. boscai* distribuidas en el centro y suroeste de Portugal podría tratarse de una especie distinta (MARTÍNEZ-SOLANO *et al.*, 2006).

Si bien en esta especie existe una gran variedad fenológica en función de las poblaciones consideradas, aún mayor que en el caso de *Triturus marmoratus* (CAETANO & LECLAIR, 1999), en áreas de la sierra salmantina próximas a la zona de estudio se ha constatado que la reproducción del tritón ibérico comienza a finales de invierno—principios de primavera (LIZANA *et al.*, 1989; LIZANA *et al.*, 1990). La fecundación se realiza tras un cortejo realizado en el agua que consta de tres fases, al final del cual se produce la transferencia del espermátforo a la hembra y la fecundación interna. La hembra deposita de 100 a 250 huevos, de unos 2 mm de diámetro, con el polo superior oscuro y el inferior blanco, que adhiere de uno en uno a la vegetación acuática u objetos del fondo. Las eclosiones se producen entre diez y veinte días después de la puesta y el desarrollo larvario es de duración muy variable (de 3 meses en el sur de la Península, pero que puede alargarse dependiendo de las condiciones climatológicas; DÍAZ-PANIAGUA, 2004). En las proximidades de la zona de estudio, LIZANA *et al.* (1989; 1990) observaron un periodo de ovoposición continuado, apareciendo larvas en estados tempranos en los meses de primavera y produciéndose la mayoría de las metamorfosis de julio a septiembre. Asimismo, estos autores detectaron la presencia de larvas invernantes, las cuales permanecen en estado larvario los meses más fríos y no completan el desarrollo hasta la primavera siguiente, originándose de esta forma en algunas localidades dos periodos metamórficos distintos (de larvas del año y de larvas invernantes). Tras la metamorfosis, los individuos juveniles abandonan el agua, permaneciendo en estado completamente terrestre (bajo piedras, matorrales o en praderas) hasta que alcanzan la madurez sexual, a los 2-4 años de edad, momento en que



regresan al medio acuático (BARBADILLO *et al.*, 1999; CAETANO & LECLAIR, 1999; MONTORI & HERRERO, 2004).



Macho de *Lissotriton boscai*. Miranda del Castañar

Aunque en general el tritón ibérico es una especie muy acuática, sus pautas de actividad estacional varían considerablemente entre poblaciones (CAETANO & LECLAIR, 1999). En condiciones favorables, con temperaturas suaves y agua permanente, parte de los ejemplares adultos pueden prolongar su fase acuática durante todo el año, tal como observaron LIZANA *et al.* (1989; 1990) en las proximidades de la zona de estudio, si bien estos autores también constataron un descenso de la actividad en verano. Así, la densidad de tritones adultos en fase acuática parece estar determinada por la temperatura y las precipitaciones, abandonando el agua para estivar en tierra cuando el agua se calienta demasiado o la humedad relativa del aire baja en exceso (MONTORI & HERRERO, 2004). Igualmente, las observaciones personales realizadas durante esta investigación constataron que la llegada masiva de tritones ibéricos a los medios acuáticos para comenzar la temporada de reproducción primaveral parece producirse siempre tras las primeras lluvias en la zona de estudio. Al igual que lo hallado para otras especies de tritones, los machos de tritón ibérico son los primeros en llegar a los medios de cría, encontrándose en poblaciones del área estudiada razones de sexos de hasta 4.3 machos por cada hembra a principios de la temporada reproductora (febrero-marzo), proporción



que disminuye progresivamente con la incorporación posterior de las hembras, hasta alcanzar proporciones equilibradas a finales de primavera (observaciones personales). Asimismo, los machos de tritón ibérico parecen ser también los primeros en abandonar el medio acuático en verano, cuando las condiciones se hacen más desfavorables, por lo que es común encontrar razones de sexos favorables a las hembras en meses de verano (de 1.5 hembras por macho, o superiores -observación personal-).

Existen muy pocos estudios sobre el comportamiento migratorio de *L. boscai*. De acuerdo a lo observado por CAETANO & LECLAIR (1999), algunos tritones ibéricos pueden entrar y salir de su charca o medio acuático varias veces dentro de un mismo año y los adultos se aventuran de forma regular en tierra incluso cuando tienen acceso a hábitats acuáticos permanentes. Por lo tanto, se puede considerar que la migración en *L. boscai* ocurre a nivel individual y no como un gran movimiento en masa. Este comportamiento migratorio resulta similar, según los mencionados autores, al mostrado por la especie americana *Notophthalmus viridescens*, en la que se ha constatado una buena capacidad de orientación y navegación entre medios terrestres y acuáticos mediante el uso de parámetros geomagnéticos (PHILLIPS, 1986a, b; PHILLIPS & BORLAND, 1992a, b; 1994; PHILLIPS *et al.*, 1995, 2002a, b). Sin embargo, los mecanismos de orientación espacial usados por el tritón ibérico son desconocidos, y los únicos trabajos existentes relativos a este aspecto se reducen a estudios de las posiciones tomadas por individuos en cautividad en el interior de acuarios o terrarios (FONTANET, 1986). Los estímulos direccionales utilizados por *L. boscai* en sus conductas de orientación no han sido analizados todavía, si bien estudios de discriminación sensorial sugieren que las señales químicas podrían tener algún papel en la orientación hacia las charcas de cría, al preferir los tritones masas de agua con estímulos químicos de otros coespecíficos (ARAGÓN *et al.*, 2000).

2. Área y poblaciones estudiadas

Para la realización de los experimentos de orientación se utilizaron ejemplares procedentes de varias poblaciones de tritón jaspeado y tritón ibérico de la sierra salmantina (Sistema Central), localizadas en territorios pertenecientes a los espacios naturales protegidos de Sierra de Quilamas (11.100 Ha de extensión) y parque natural de



Las Batuecas (32.300 Ha). Ambas áreas montañosas se encuentran adyacentes, al sur de la provincia de Salamanca e incluyen en su entorno los términos municipales de La Bastida, Cilleros de la Bastida, Valero, La Rinconada de la Sierra, Navarredonda de la Rinconada, San Miguel de Valero, Linares de Riofrío, San Esteban de la Sierra, Escorial de la Sierra, Santibáñez de la Sierra, Nava de Francia, La Alberca, Herguijuela de la Sierra, Miranda del Castañar, Monsagro, Serradilla del Arroyo, El Cabaco y El Maíllo.

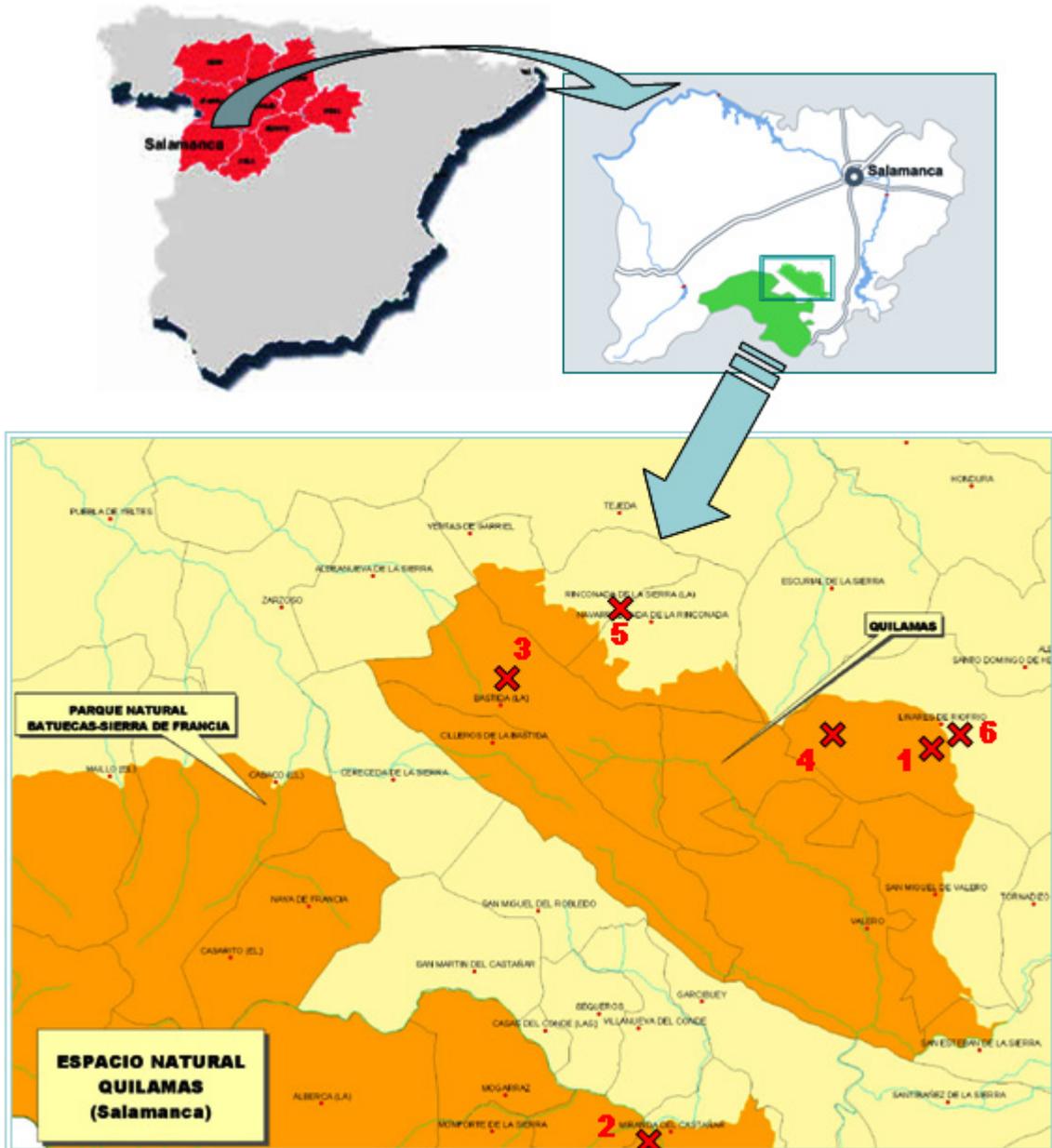


Figura 2.1 Localización del área de estudio

Los números del mapa inferior indican la posición aproximada de las poblaciones estudiadas (ver más adelante) (FUENTE: Ministerio de Medio Ambiente)



2.1 Geología, geomorfología y paisaje

El conjunto del Sistema Central es un área fragmentada y deformada del macizo o zócalo ibérico paleozoico, correspondiendo a la zona más interna (“zona centroibérica”) de la antigua cordillera herciniana, de rumbo general noroeste-sureste y en la que predominan los materiales de origen profundo (MUÑOZ JIMÉNEZ & SANZ HERRÁIZ, 1995). Así, las alineaciones montañosas del Sistema Central comparten una serie de rasgos comunes, con presencia de rocas fuertemente metamorfizadas y granitizadas y de naturaleza principalmente silíceas (plutónicas, pizarras, esquistos, cuarcitas, etc.). Estos terrenos, endurecidos por metamorfismo y granitización, son rígidos, siendo más sensibles a las fracturas y grandes abombamientos que a los pliegues, y la tectónica tardiherciniana y la geotectónica del neógeno y cuaternario crearon la red de fallas que condicionaría los rasgos principales del relieve actual. Por lo tanto, las montañas del Sistema Central son montañas de bloques, formadas por materiales hercinianos levantados por el plegamiento alpino y con una diversidad geomorfológica debida en primer lugar a esa tectónica de fracturas, interviniendo en segundo lugar un modelado litológico, de tipo granítico en las sierras occidentales, así como las morfologías debidas a la erosión, predominando en las sierras y en los valles de ríos los resultados de la morfogénesis cuaternaria (FLORISTÁN SAMANES, 1991).

El sector occidental del sistema central corresponde, pues, a una extensión de rocas graníticas entre las que quedan aislados algunos afloramientos metamórficos con predominancia de materiales preordovícicos, presentando el relieve una sucesión de pliegues anticlinales y sinclinales en el área comprendida entre Salamanca y la comarca de la Sierra de Francia. Así, el sinclinal de Tamames se extiende desde el sur de esa población hasta el valle del río Alagón y las sierras de Quilamas modelan el flanco septentrional de dicha estructura, mientras que las sierras de las Batuecas se levantan al suroeste, separadas por una falla NE (MUÑOZ JIMÉNEZ & SANZ HERRÁIZ, 1995). La característica más destacada del Sistema Central en ese sector es su “rotura” o interrupción, condicionada por la importante acción erosiva del río Alagón (tributario del Tago) y sus afluentes, sólo matizada en las zonas más llanas por la naturaleza del sustrato granítico, que condiciona la aparición de bolos, berrocales o lanchares. La erosión torrencial produce barrancos entre grandes bloques, típicos de erosión dominante y



creciente, originando un paisaje de profundos y estrechos valles. Las grandes crestas de Las Batuecas se corresponden con conjuntos ordovícico-silúricos, labradas sobre bancos de cuarcitas, destacando asimismo el número de sinclinales colgados de gran tamaño que destacan sobre los anticlinales (como ejemplo, el sinclinal colgado de La Peña de Francia, -cota máxima de la Sierra de Francia, 1725 m-), sin olvidar el importante retoque periglaciario que dio lugar a canchales de gran extensión. Por su parte, la sierra de Quilamas corresponde a otra alineación cuarcítica de baja altitud (cota máxima 1463 m, correspondiente al pico Cerbero) con similar diversidad geomorfológica, donde la erosión de los materiales del silúrico ha producido lomas redondeadas y valles angostos por donde discurren arroyos como el arroyo de Quilamas o el de la Palía) (JIMÉNEZ & ARRIBAS, 1979). En conjunto, la topografía irregular, la existencia de cursos de agua estrechos y encajados y los contrastes entre áreas de roca desnuda y el mosaico de la variada cubierta vegetal contribuyen al gran valor paisajístico de la zona. Asimismo, el agua es un elemento fundamental de la sierra, con gran cantidad de manantiales naturales y fuentes artificiales, que junto a los arroyos y charcas proporcionan una gran variedad de medios para la reproducción de las diversas especies de anfibios, encontrándose citadas hasta 13 especies en las inmediaciones del área de estudio (PLEGUEZUELOS *et al.*, 2002).

2.2 Suelos

La mayor parte de los suelos de la zona son ácidos, con tendencia a formar suelos profundos donde las pendientes lo permiten, ricos en nutrientes y con una proporción de materia orgánica dependiente de las condiciones climáticas y cubierta forestal. En general, son suelos de tipo forestal y forestal degradado. La secuencia de suelos más representativa muestra la seriación: litosuelo, ranker, tierra parda, suelo pardo lixivado. En aquellos suelos menos degradados por la acción del hombre se conservan potentes horizontes de humus de tiempo moder o moder mulliformes. (GARCÍA RODRÍGUEZ *et al.*, 1979).



2.3 Clima

En conjunto, el área adyacente al valle del Alagón presenta unas características más termófilas y mediterráneas que el resto de la provincia de Salamanca, así como una mayor pluviosidad en las regiones estudiadas (BALCELLS, 1979). En general, el clima correspondería a un tipo subhúmedo templado-húmedo templado, con precipitaciones anuales superiores a los 800 mm y oscilaciones pluviométricas entre mínimas y máximas mensuales muy variables, si bien la oscilación entre el mes más lluvioso y el mes más seco suele ser superior a 120 mm. Con pocas excepciones, las mínimas de precipitación se consiguen en el mes de agosto, estando el máximo de pluviosidad menos definido (enero-febrero-marzo o noviembre; OLIVER-MOSCARDÓ & LUIS-CALABUIG, 1979). En cuanto a las temperaturas, las localidades del área estudiada presentan mínimas ligeramente más elevadas que el resto de la provincia, con temperatura mínima por lo general a finales de diciembre o principios de enero, siendo julio el mes más cálido. Las estaciones meteorológicas situadas en la cuenca del Alagón tienen mayor media anual, mayor media de las mínimas durante el mes más frío y menor oscilación máxima. De acuerdo al sistema de Trewartha (1954), la provincia de Salamanca se encuentra dentro del grupo de climas mesotérmicos (es decir, media del mes más frío entre 0 y 8 °C y media del mes más cálido superior a 10°C). Según la propuesta de Bagnouls y Gausson (1957) para la consideración conjunta de las evoluciones de temperatura y pluviometría en forma de diagramas ombrotérmicos, las estaciones cercanas al río Alagón corresponderían a un tipo de clima mesomediterráneo acentuado (75-100 días secos). Utilizando el cociente pluviométrico de Emberger (1971), el climograma resultante es típicamente húmedo y fresco y la zona sería típicamente mediterránea con poca influencia oceánica en las regiones fitoclimáticas de robledal (OLIVER-MOSCARDÓ & LUIS-CALABUIG, 1979).



Vista del arroyo Quilamas a su paso por Valero de la Sierra

2.4 Vegetación y pisos bioclimáticos

En el conjunto del Sistema Central el roble rebollo o melojo (*Quercus pyrenaica*) constituye la etapa climática, presentando el área de estudio una vegetación de tipo atlántica-mediterránea con robledales del sur ocupando la mayor parte del terreno (FLORISTÁN SAMANES, 1991). Muy frecuentemente el roble forma parte del matorral con sus rebrotes de raíz, apareciendo también robledales aclarados como etapas seriales consecuencia del aprovechamiento humano. Junto a las masas de *Quercus pyrenaica* conviven arbustos como *Hedera helix*, *Crataegus monogina* o *Genista falcata*, así como la endémica *Euphorbia broteorana* y otras herbáceas como *Teucrium scorodonia*, *Clinopodium vulgare*, *Festuca rubra*, *Holcus mollis*, *Pteridium aquilinum*, *Linaria triornithophora* o *Luzula forsteri* (LUIS-CALABUIG & MONTSERRAT, 1979). Si bien la mayor parte de la zona está ocupada por melojares, en las zonas más meridionales y de clima más templado aparecen también bosques mixtos con presencia de alcornoques (*Quercus suber*) junto a otra vegetación de matorral típicamente mediterránea, de brezales (*Erica spp.*), en las partes más frías y húmedas, y jarales (*Cistus spp.*) en las más cálidas y secas. Los madroñales (*Arbutus unedo*) abundan también en las zonas más frescas y lluviosas de Las Batuecas y el valle del Alagón, formando en ocasiones



matorrales lauroides altos y densos con especies de jarales o encinares (*Quercus rotundifolia*) asociados, si bien muchas veces derivan de la degradación de alcornoques o melojares luso-extremadurenses. En el área de Quilamas encontramos igualmente muchos enclaves de vegetación mediterránea, con brezales, alcornocales y madroños entremezclados con las masas predominantes de melojo en forma de manto adherido, si bien en determinados enclaves de laderas umbrías también están bien representados los bosques mixtos de hoja semicaduca y caduca, en este caso con acebos (*Ilex aquifolium*), serbales (*Sorbus aucuparia*), avellanos (*Corylus avellana*) y castaños (*Castanea sativa*) integrados entre los robles melojos. Asimismo encontramos algunas hayas (*Fagus sylvatica*) relictas en los castañares húmedos de Linares de Riofrío, así como repoblaciones de *Pinus pinaster*, *Pinus sylvestris* y eucaliptos en áreas de las Batuecas, y bosques galería de tipo aliseda (*Alnus glutinosa*) o fresnedas (*Fraxinus angustifolia*) (LUIS-CALABUIG & MONTERRAT, 1979).

A la diversidad florística contribuye la situación biogeográfica de la zona, a caballo entre dos regiones tan distintas como la Luso-Extremadurensis y la Carpetano-Ibérica-Leonesa, estando el espacio estudiado ubicado en la superprovincia Mediterráneo-Iberoatlántica, con representación de tres de sus cinco pisos: el oromediterráneo, el supramediterráneo y el mesomediterráneo, que contacta con el supramediterráneo a través del corredor formado por el río Alagón. De acuerdo a una reciente división fitogeográfica (RIVAS-MARTÍNEZ, 2005), el sector fitogeográfico salmantino comprendería varios distritos, correspondiendo la mayor parte del área de estudio al distrito “altosalmantino”, con presencia del distrito “serrano” en la zona ocupada por las poblaciones de tritón de Las Batuecas (Miranda del Castañar). En este distrito, la vegetación correspondiente a las cumbres altas se encuentra dominada por un matorral bajo de piorno (*Cytisus purgans*) y cambrión (*Echinopartum pulviniformis*), apareciendo los melojares inmediatamente por debajo del matorral de altura. Por último, también destaca la presencia de formaciones forestales esclerófilas típicamente mesomediterráneas y luso-extremadurenses correspondientes a los alcornoques y encinares acompañados de madroño, durillo (*Viburnum tinus*), rusco (*Ruscus aculeatus*), *Rubia peregrina* y otras especies (FERRERAS & AROZENA, 1987). En los valles del Alagón podemos encontrar también una inversión frecuente de los pisos de vegetación, debido a la inversión térmica casi constante durante las calmas de invierno-primavera



(anticiclón estabilizado), con alcornoque-carrasca en las parte altas, y melojos-fresnos (con o sin alisos) en el fondo (LUIS-CALABUIG & MONTSERRAT, 1979).

2.5 Poblaciones estudiadas

Los experimentos incluidos en este trabajo se llevaron a cabo con ejemplares procedentes de seis medios acuáticos diferentes, cuya situación geográfica aproximada se indica en la figura 2.1. El tritón ibérico y el tritón jaspeado son especies relativamente comunes en la zona de estudio y en ocasiones se encuentran en simpatria utilizando el mismo medio para la reproducción, ya que no existe una alta exclusión competitiva entre ambas especies. Así, *L. boscai* es una especie relativamente diurna y pelágica, en comparación con *T. marmoratus*, de hábitos más nocturnos y bentónicos (CAETANO & LECLAIR, 1999). Igualmente, existen diferencias en el comportamiento de las larvas de una y otra especie (DÍAZ-PANIAGUA, 1983), que posibilitan la convivencia en algunos puntos de agua. Sin embargo, aunque ambas especies se puedan encontrar en simpatria en el área estudiada, existen también diferencias en las preferencias ambientales que hacen que una especie sea más abundante que otra en función de las condiciones del medio acuático. Así, por ejemplo, el tritón ibérico es mucho más abundante en tramos de aguas corrientes o en fuentes, pilones y otras estructuras artificiales, mientras que *T. marmoratus* únicamente ocupa fuentes de tamaño elevado y se encuentra preferentemente en aguas con mayor conductividad y menor pH que las ocupadas por *L. boscai* (RODRÍGUEZ-GARCÍA & LIZANA, 2008). Por otra parte, en charcas temporales o permanentes de tamaño mediano y suficiente vegetación acuática suelen encontrarse ambas especies, si bien las observaciones realizadas en el área de estudio indican que *L. boscai* es una especie más abundante en términos generales.

A continuación, se describe brevemente la localización y algunos aspectos acerca de las poblaciones de tritón estudiadas (identificadas de aquí en adelante con números para simplificar). En conjunto, en la realización de este trabajo fueron utilizados tritones jaspeados adultos procedentes de dos poblaciones (identificadas con los números 1 y 5) y tritones ibéricos adultos de tres poblaciones distintas (números 1, 2 y 4). Asimismo, las larvas de *L. boscai* utilizadas en los experimentos fueron capturadas en tres medios acuáticos diferentes (números 3, 4 y 6).



- Población número 1



Esta charca, próxima a la localidad de Linares de Riofrío ($40^{\circ} 34' 3''$ N, $5^{\circ} 53' 19''$ O, 900 m altitud) se encuentra en el interior de un robledal adhesionado (finca ganadera), y es utilizada como medio acuático por dos poblaciones de *L. boscai* y *T. marmoratus* que fueron estudiadas en varios experimentos de orientación de regreso al hogar. Se trata de una charca de carácter permanente, con unas dimensiones aproximadas de 17 x 13 m. Si bien la charca es utilizada tanto por tritones ibéricos como jaspeados, se detectó una mayor abundancia de ejemplares de *L. boscai* que de *T. marmoratus*. Igualmente, se detectó la reproducción de otras cuatro especies de anfibios en el medio acuático (*Bufo bufo*, *Hyla arborea*, *Pelophylax perezi* y *Salamandra salamandra*).



- Población número 2

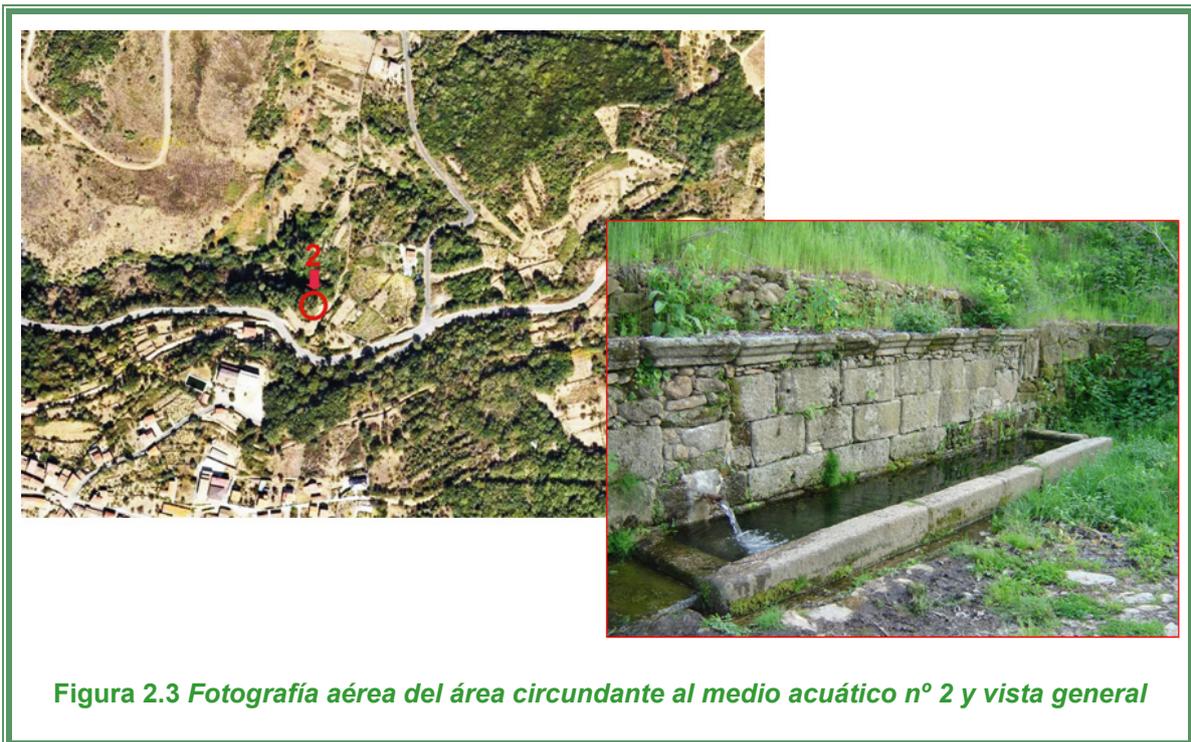


Figura 2.3 Fotografía aérea del área circundante al medio acuático n° 2 y vista general

El medio acuático designado con el número 2 ($40^{\circ} 29' 12''$ N, $5^{\circ} 59' 38''$ O, 600 m altitud) es una fuente-abrevadero situada en las cercanías de Miranda del Castañar (Parque Natural de Las Batuecas-Sierra de Francia), próxima a un entorno semiurbanizado de huertas y merenderos. Se encuentra ocupada por una población de tritón ibérico que convive con ejemplares de tritón jaspeado, si bien en la presente investigación sólo se analizó la orientación de los ejemplares de *L. boscai*. La fuente también es utilizada como punto de reproducción por *Pelophylax perezi*, *S. salamandra* y, ocasionalmente, *Rana iberica*.



- Población número 3



Figura 2.4 Vista general del medio acuático n° 3 y fotografía aérea del área circundante

Para el estudio de la conducta de orientación respecto al eje-Y del tritón ibérico se realizaron varios experimentos empleando larvas de *L. boscai* capturadas en un pequeño abrevadero, localizado en el término municipal de La Bastida (área natural de Quilamas, 40° 35' 23'' N, 6° 3' 21'' O, 1110 m de altitud). Esta fuente (designada con el número 3 en los mapas) se encuentra en un entorno de robledal aclarado y consta de varias estructuras conectadas, con una medida total de 915 cm de largo y una anchura de la cuenca de 83-38 cm (zona principal-zonas adyacentes). La profundidad del agua varía entre 49 y 29 cm y de la fuente sale un pequeño arroyo que discurre colina abajo, formando una pequeña charca en las proximidades de la fuente. Dicha charca es igualmente usada como punto reproductor por *L. boscai*, si bien los tritones ibéricos son mucho más abundantes en la propia fuente. El abrevadero es utilizado también *S. salamandra* para su reproducción.



- Población número 4



Figura 2.5 Vista general del medio acuático n° 4 y fotografía aérea del área circundante

Varios experimentos de orientación espacial incluidos en el presente trabajo se llevaron a cabo con tritones adultos y larvas procedentes de una población de *L. boscai* que ocupa como medio acuático un abrevadero situado en el interior de un paraje natural conocido como “La Honfría” (40° 34’ 20” N, 5° 57’ 5” O, 1100 m altitud, término municipal de Linares de Riofrío). Este paraje, de gran interés florístico y faunístico, es un bosque mixto caducifolio, asentado sobre calizas cámbricas y constituido predominantemente por ejemplares de melojos, castaños, acebos, avellanos, majuelos y saúcos acompañados por una gran variedad de flora vascular (ej. *Actaea spicata*, *Atropa belladonna*, *Epipactis fageticola*, *Himantoglossum hircinum*, *Lilium martagon*, *Monotropa hypopitis*, *Nepeta multibracteata*, *Paris quadrifolia* y otras). El pilón, con unas medidas de 700 x 120 cm y 78 cm de profundidad de agua, posee gran cantidad de vegetación fanerógama acuática y constituye el único punto de agua permanente del entorno inmediato. Aparte de ser el lugar de reproducción de una de las poblaciones de tritón ibérico objeto de estudio, también es utilizado por *S. salamandra* y *P. perezii*. Asimismo, en el último año de trabajo experimental (2007) se detectó la presencia de tritones jaspeados en la fuente (siendo observados un número máximo de 5 tritones jaspeados adultos -3 machos y 2 hembras-, cuya reproducción en el pilón se constató en la última temporada de estudio).



- Población número 5



Figura 2.6 Fotografía aérea del área circundante al medio acuático n° 5 y vista general

Esta fuente, situada en el casco urbano de la localidad de Rinconada de la Sierra ($40^{\circ} 36' 41''$ N, $6^{\circ} 1' 17''$ O, 1005 m de altitud), albergaba una abundante población de *Triturus marmoratus*, cuya conducta de orientación de regreso al hogar fue analizada en varios experimentos. Aunque en el interior de un entorno urbano, la fuente (constituida por tres zonas, con medidas totales de 1210 cm x 133 cm y una profundidad de agua en torno a 40 cm) presentaba unas condiciones ideales para su uso por parte de los anfibios, con una cierta cantidad de sedimentos y vegetación acuática y próxima a zonas de huertas y tapias de piedra, potencialmente útiles como refugios terrestres. Dicha estructura era también utilizada como medio de reproducción por *S. salamandra* y *P. perezi* y fue demolida por el ayuntamiento local en la primavera de 2007 (con el consiguiente impacto sobre las poblaciones de anfibios que la ocupaban), construyéndose una nueva fuente en su lugar.



- Población número 6



Figura 2.7 Fotografía aérea del área circundante al medio acuático nº 6 y vista general

El último medio acuático utilizado como fuente de ejemplares para el presente trabajo es un abrevadero situado en la periferia de la localidad de Linares de Riofrío, en un área ocupada por huertas y pequeñas fincas ganaderas ($40^{\circ} 34' 54''$ N, $5^{\circ} 54' 43''$ O, 965 m de altitud). En el abrevadero (con medidas de 1050 cm x 120 cm y unos 60 cm de profundidad) conviven en simpatria sendas poblaciones de *Triturus marmoratus* y *Lissotriton boscai*, si bien en el presente trabajo sólo fueron utilizadas larvas de tritón ibérico procedentes de este pilón en un experimento de orientación respecto al eje-Y. Asimismo, el pilón es ocupado también por otras especies de anfibios (*S. salamandra* y *P. perezii*).

3. Metodología experimental

El trabajo experimental del presente proyecto de tesis se planteó mediante la realización de una serie de experimentos independientes, en los que se analizaron las preferencias direccionales y tipo de estímulos ambientales empleados en la orientación de tritones adultos o larvas procedentes de distintas poblaciones. Si bien la metodología concreta seguida fue particular dependiendo del experimento y conducta de orientación a investigar, el protocolo experimental básico de toma de datos y análisis de respuestas fue similar en todos los casos.



La mayoría de los estudios de orientación espacial se basan en el análisis de las direcciones iniciales de arrumbamiento seguidas por los sujetos experimentales. En muchas ocasiones se emplean para ello arenas de ensayo donde se presentan distintos estímulos a los individuos y se determina su respuesta direccional (rumbo tomado en el movimiento; ABLE, 1980). Es fundamental que la arena experimental sea, por tanto, simétrica y homogénea, de forma que, salvo por el estímulo o comportamiento a estudiar, no exista ninguna característica que sesgue los resultados al conducir a los animales a elegir preferentemente una dirección o rumbo concreto. En los experimentos de orientación realizados en el presente estudio se utilizó una arena de ensayo circular y visualmente simétrica, constituida por un recipiente de plástico opaco de 43 cm de diámetro y 24 cm de altura. Al ensayar la conducta de orientación de los tritones, éstos eran liberados de forma individual en el centro de la arena, punto a partir del cual se les permitía moverse sin restricciones.

A lo largo de los distintos ensayos de orientación realizados se tomaron los rumbos seguidos por los animales bajo diferentes condiciones de acceso a estímulos direccionales (ambientales o artificiales), en varios lugares de experimentación y empleando distintas condiciones de entrenamiento previo o transporte hasta el lugar de experimentación (ver secciones siguientes para detalles de metodologías concretas). En el caso de los estudios de la orientación de regreso al hogar de tritones jaspeados e ibéricos, grupos de tritones adultos fueron transportados desde sus medios acuáticos de reproducción hasta lugares de experimentación situados a distancias comprendidas entre los 300 m y los 12 km, donde su capacidad para orientarse de vuelta a su medio era ensayada durante las horas siguientes a su captura o al día siguiente a su captura. Para estudiar la orientación respecto al eje-Y del tritón ibérico, larvas, juveniles y tritones adultos fueron entrenadas en acuarios especiales durante periodos de varios días, para posteriormente evaluar su capacidad de aprendizaje y analizar el mecanismo de orientación empleado (ver sección V).

La realización del trabajo de campo y experimental incluido en esta memoria se distribuyó a lo largo de cuatro años (2004 a 2007). Los distintos experimentos se llevaron a cabo teniendo en cuenta el ciclo biológico de las especies estudiadas, haciéndose coincidir con las épocas más propicias en cuanto a actividad y abundancia de los ejemplares. Así, los análisis de las conductas de orientación de regreso al hogar se



llevaron a cabo durante la primavera y principio de verano de cada año, coincidiendo con el principal periodo reproductor de las especies en el área estudiada. De esta forma se consiguió la necesaria motivación de los tritones, o impulso migratorio, para orientarse de regreso a sus medios acuáticos. Por otro lado, el estudio de las conductas de orientación respecto al eje-Y de larvas y ejemplares juveniles de tritón ibérico se realizó en periodos en los que dichos ejemplares pudieran ser accesibles y fueran abundantes en la zona estudiada (meses de verano, principalmente).

Salvo en el caso del estudio de la luz polarizada como señal direccional en la orientación respecto al eje-Y del tritón ibérico (llevado a cabo en el interior de un laboratorio; ver sección V-3), en el presente trabajo se optó por realizar los experimentos al aire libre y en condiciones ambientales, buscando así una menor interferencia en el comportamiento de los tritones y una mayor similitud con las conductas de orientación desarrolladas de forma natural en su entorno. De esta forma, los ensayos de orientación se realizaron bajo las condiciones ambientales reinantes en cada momento, siendo en general la única alteración experimental la provocada sobre la señal direccional o estímulo ambiental a estudiar (por ejemplo, la alteración del campo magnético natural percibido por los tritones en el momento de los ensayos, tal como se detalla más adelante). Salvo casos concretos (ver secciones posteriores), se permitió a los animales un acceso libre a los distintos estímulos celestes (sol, luna, estrellas...) disponibles durante los ensayos, gracias a la configuración de la arena experimental, que posibilitaba a los animales ensayados una clara visión del cielo sobre sus cabezas pero no del horizonte.

Los ensayos de orientación llevados a cabo han seguido en su mayoría protocolos ya contrastados para otras especies de urodelos (ej. PHILLIPS 1986; DIEGO-RASILLA, 2003; DIEGO RASILLA *et al.*, 2005). De acuerdo al protocolo experimental general, antes del ensayo individual de su conducta de orientación, cada tritón era colocado en un tanque rectangular de plástico (alineado con su longitud mayor siguiendo el eje magnético Norte-Sur en los estudios de orientación de regreso al hogar o siguiendo el eje-Y entrenado en los estudios de orientación respecto a la orilla) y con 1 cm de profundidad de agua procedente de su medio de reproducción (en el caso de la orientación de regreso al hogar) o bien agua de grifo convenientemente tratada (en el caso de la orientación respecto al eje-Y del tritón ibérico). En dicho tanque el tritón



permanecía aislado durante al menos 5 minutos, tiempo durante el cual tenía acceso libre a los estímulos ambientales reinantes (visión del cielo y campo magnético ambiental). Tras ese tiempo, era llevado a la arena experimental, previamente nivelada para impedir cualquier posible influencia de la inclinación del terreno en la orientación (OMLAND, 1998), y se colocaba en su centro, dentro de un mecanismo de liberación consistente en un cilindro de plástico opaco (de 12 cm de diámetro y 14 cm de altura). Cada tritón permanecía 1 minuto dentro de ese cilindro para minimizar posibles efectos en su conducta derivados del manejo, tiempo tras el cuál el cilindro era levantado y el tritón quedaba libre de moverse en el interior de la arena. Tal como se observó en ensayos preliminares, en casi todos los casos los tritones (adultos o larvas) liberados se movían siguiendo un rumbo más o menos directo a partir del centro de la arena hasta llegar a contactar con la pared, moviéndose a partir de ese momento en círculos alrededor de la arena (o intentando escalar sus paredes). Por lo tanto, como criterio descriptor de la orientación seguida por cada tritón se midió en todos los casos el rumbo correspondiente al lugar de la pared de la arena donde el individuo hizo contacto por primera vez. El tiempo límite de respuesta fue establecido en 5 minutos para la mayoría de experimentos (como el caso de los experimentos de orientación de regreso al hogar; ver secciones III y IV), y en 10 minutos para aquellos experimentos de orientación respecto al eje-Y realizados con larvas (ver sección V). De esta forma, los rumbos de los tritones que no contactaron con la pared de la arena dentro del tiempo establecido no fueron considerados. El rumbo de orientación se registró con una precisión de 5°, gracias a una serie de marcas radiales practicadas en el borde exterior de la pared de la arena (no visibles por los tritones sujetos a ensayo) y mediante la ayuda de brújulas (*Konus*®, modelo *Konustar Professional*, y *Suunto*®, modelo *A-10*). De manera adicional, la determinación de otros rumbos (como el de vuelta al medio reproductor), distancias y velocidades se realizó en su caso empleando un GPS de 12 canales (*Garmin*®, modelo *eTrex Legend*).

En todos los casos, los individuos utilizados en cada experimento de orientación fueron capturados previamente en su medio acuático de reproducción (charca o fuentes descritas anteriormente) mediante manguero con una red de 26 x 38 cm de tamaño y con una luz de malla de 2 mm (suficiente para la captura de adultos y larvas). Una vez finalizado un experimento y comprobada su conducta de orientación, los ejemplares eran devueltos a su lugar de captura (charca o fuente de cría) sin excepciones y en perfecto



estado. Asimismo, se emplearon las medidas biosanitarias pertinentes a la hora de manejar los individuos de experimentación, manipulando en todo momento los tritones con guantes de látex y utilizando redes de captura específicas para cada localidad, que igualmente eran lavadas tras finalizar cada captura.

3.1 Análisis de orientación basada en el campo geomagnético

A la hora de caracterizar una determinada conducta de orientación de una especie resulta en muchos casos complicado discriminar qué parte de la respuesta o comportamiento observado se debe a uno u otro tipo de mecanismo sensorial. En el caso concreto de los estudios de orientación basada en parámetros magnéticos, un buen diseño experimental es clave para permitir diferenciar las respuestas magnéticas de otro tipo de respuestas. Así, estudios clásicos basados en la alteración del campo magnético ambiental mediante sistemas de imanes (ej. WALCOTT & GREEN, 1974; KEETON, 1974; VISALBERGHI & ALLEVA, 1979; IOALÈ, 1984; SINSCH, 1990a, b, 1991) fallan al no poder excluir posibles efectos no específicos del campo magnético alterado sobre otro tipo de sistema sensorial (PHILLIPS, 1986b).

En el presente estudio se ha recurrido al empleo de un sistema de doble bobina para caracterizar los efectos de la alteración del campo magnético sobre la orientación de *T. marmoratus* y *L. boscai*. A diferencia de otros diseños, estos sistemas permiten modificar únicamente la dirección del vector de campo magnético percibido por los animales, sin alterar otros parámetros magnéticos como la intensidad o la inclinación (PHILLIPS, 1986B; KIRSCHVINK, 1992; DIEGO-RASILLA *et al.*, 2005). De esta forma, es posible estudiar el uso de una brújula magnética en la orientación comprobando si los cambios producidos artificialmente en la dirección del vector magnético se traducen en los correspondientes (y predecibles) cambios en la dirección de orientación tomada por los animales estudiados (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1995). Dependiendo del diseño de doble bobina, el sistema permite controlar en mayor o menor medida los pequeños artefactos y efectos no magnéticos producidos por los hilos de las bobinas (por ejemplo, pequeños gradientes de campo magnético, efectos de calentamiento dentro de las bobinas debidos a la corriente eléctrica, vibraciones producidas por interacciones magnetomecánicas entre hilos adyacentes, o pequeños campos eléctricos producidos por



la caída de voltaje entre vueltas de bobina). En general, los sistemas de bobinas cuadradas con 4 o 5 vueltas de bobina, tal como el utilizado en el presente estudio, controlan estas pequeñas imperfecciones de manera aceptable y permiten producir volúmenes de campo magnético uniforme relativamente grandes (KIRSCHVINK, 1992).

El sistema de doble bobina empleado para alterar el campo magnético percibido por los tritones fue un sistema de doble bobina de superficie cúbica, también llamado “bobina de Rubens” (RUBENS, 1945), sistema que ya ha sido utilizado con éxito en otros estudios de orientación magnética en urodelos (PHILLIPS, 1986a, b; PHILLIPS & BORLAND, 1992a, b; 1994; PHILLIPS *et al.*, 1995; DIEGO-RASILLA *et al.*, 2005; DIEGO-RASILLA *et al.*, 2008) y que consiste en dos bobinas cuadradas de hilo de cobre dispuestas perpendicularmente entre sí y enrolladas alrededor de una estructura cúbica. Tal como se muestra en la figura 2.9, cada una de estas dos bobinas está compuesta por cinco elementos paralelos (vueltas de bobina), separados entre sí por una misma distancia y formados por un determinado número de vueltas de hilo, enrollado siguiendo la superficie cúbica siempre en un mismo sentido. Para el presente estudio se construyó como soporte del sistema de bobinas un cubo de madera de pino de 1 metro de lado, sobre el que se dispusieron las dos bobinas cuadradas, utilizando hilo de cobre esmaltado de 0.8 mm y siguiendo el diseño de Rubens (PHILLIPS, 1986b). En el interior de la estructura cúbica se habilitó un soporte sobre el que se colocó la arena circular utilizada en los experimentos de orientación, de tal manera que ésta quedaba en el mismo centro del sistema de bobinas. Al activar las dos bobinas (simultáneamente o por separado), éstas generan un campo magnético artificial perpendicular al plano de bobina, siendo este campo magnético más uniforme en el centro de la estructura, coincidiendo así con la posición de la arena de experimentación (figura 2.8). De esta manera, conectando las bobinas a una fuente de alimentación regulable (*HQ Power*®, modelo PS23023) podemos aplicar a cada bobina los valores de intensidad de corriente y voltaje adecuados para nuestros objetivos (produciendo una fuerza de campo de 35.69 $\mu\text{T}/\text{amperio}$ en el centro de un sistema de Rubens de 1m de lado; KIRSCHVINK, 1992). Así, alineando de forma adecuada la estructura de bobinas con respecto al norte geomagnético, podemos conseguir girar a voluntad la dirección del vector magnético percibido por los tritones ensayados. Tal como se explica en la figura 2.9B, la suma del vector magnético creado por la bobina con el campo magnético terrestre posibilita el giro de la componente horizontal del vector de campo, creando en el interior del cubo un campo magnético



total de igual valor de intensidad e inclinación que el campo geomagnético natural pero variando a nuestro antojo la dirección norte magnética (PHILLIPS, 1986b).

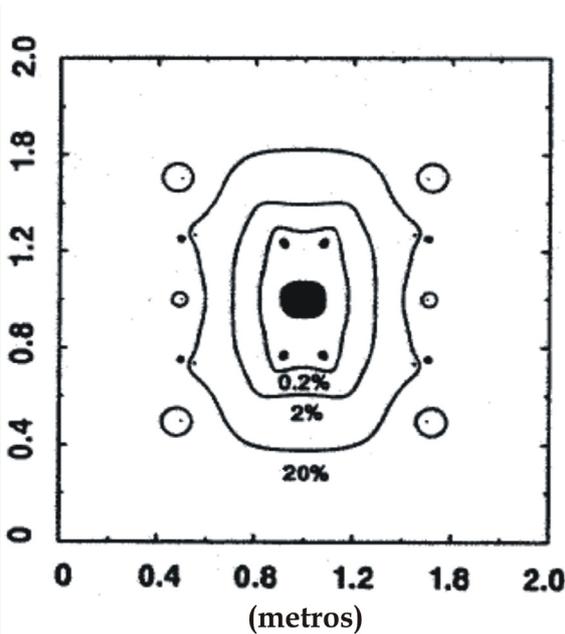


Figura 2.8 Uniformidad de campo para un sistema de bobinas de Rubens

Los cálculos se muestran en base a un plano de $2 \times 2 \text{ m}^2$ que pase a través del centro del sistema paralelo al eje. Las líneas muestran los contornos de variación de 0.02%, 0.2%, 2% y 20% respecto a las condiciones de uniformidad total de campo. Las áreas negras en el centro muestran la zona donde la uniformidad de campo es mejor que 0.02%.

Para un sistema cúbico de 1 m, como el utilizado, la gran mayoría del espacio central afectado por las bobinas mantiene un nivel de uniformidad de campo menor de 2%, suficiente para estudios de brújula magnética (PHILLIPS, 1986b; KIRSCHVINK, 1992)

(FUENTE: KIRSCHVINK, 1992)

El sistema de bobinas empleado permitió ensayar los tritones bajo cuatro condiciones o alineamientos distintos de campo magnético percibido (ver figura 2.9C):

- **Campo magnético ambiental ($N_{mag}=N$):** Desconectando ambas bobinas, se estudia la conducta de orientación de los tritones bajo el campo geomagnético natural (condición control de la manipulación). Puesto que la declinación magnética (diferencia entre Norte magnético y geográfico) en las latitudes de trabajo se considera despreciable (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1995), de cara a la interpretación de los resultados se ha asumido que en esta condición experimental la dirección Norte magnética coincide con la dirección Norte geográfica.
- **Campo magnético rotado al Este ($N_{mag}=E$):** Conexión de una de las bobinas (B), de forma que el vector magnético resultante gira 90° respecto a su dirección natural (Norte magnético en Este geográfico).
- **Campo magnético rotado al Oeste ($N_{mag}=W$):** Conexión individual de la otra bobina (A), de forma que el vector magnético gira 270° respecto a la dirección natural (Norte magnético en Oeste geográfico).



- **Campo magnético rotado al Sur ($N_{mag}=S$):** Conexión de las dos bobinas a la vez, en paralelo, de forma que el vector magnético gira 180° respecto a la dirección natural (campo magnético invertido, Norte magnético en Sur geográfico).

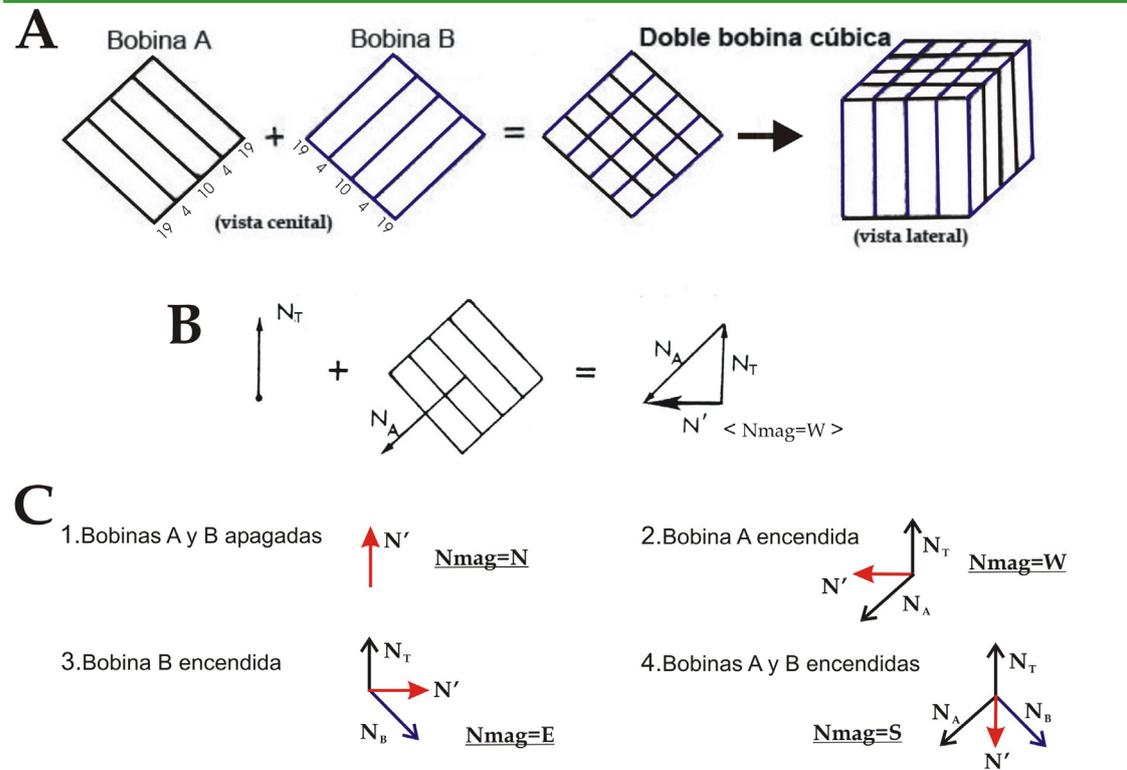


Figura 2.9 Funcionamiento de la bobina de Rubens

A. Representación esquemática del diseño de doble bobina. Cada bobina está formada por cinco elementos constituidos por una serie de vueltas de hilo de cobre (se muestra el número de vueltas de hilo correspondientes a cada elemento de bobina). La distancia entre elementos de una misma bobina en nuestro caso es de 0.25 m (una cuarta parte de la longitud total del cubo, de acuerdo a la formulación de RUBENS, 1945). Ambas bobinas (A y B) se disponen perpendiculares alrededor de una estructura cúbica.

B. Alineamiento de bobina necesario para girar la componente horizontal del vector magnético 90° en sentido contrario a las agujas del reloj. La bobina se coloca de manera que produzca un campo magnético artificial (N_A) a 135° del norte geomagnético (N_T). El aumentar la intensidad del campo artificial hasta que el campo total resultante (N') rote 90° respecto al vector geomagnético reproduce la intensidad horizontal propia del campo magnético terrestre (consiguiendo así que el norte magnético percibido, N' , pase a estar en posición oeste geográfica). Ya que con este procedimiento no se altera la componente vertical, los vectores magnéticos vertical y horizontal se suman produciendo un campo de valores de inclinación e intensidad total iguales al campo geomagnético natural.

C. Con una configuración constante de la fuente de alimentación regulable conectada a ambas bobinas se puede lograr producir cuatro componentes horizontales de vector magnético distintos, que sumándose al campo magnético natural permiten obtener cuatro alineamientos de campo magnético distintos (dependiendo de qué bobinas estén conectadas).

(Modificado de PHILLIPS, 1986b)

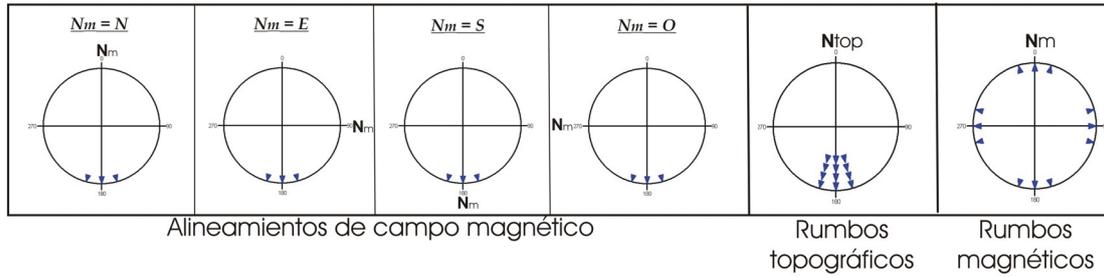


El tipo de diseño simétrico empleado, con cuatro alineamientos distintos del campo magnético, tiene la ventaja de que los datos correspondientes a las cuatro condiciones experimentales pueden combinarse, rotando las distribuciones de rumbos topográficos (medidos respecto a la dirección norte magnético ambiental) de modo que el norte magnético coincida en las cuatro. De esta forma, si se ensaya un número similar de tritones bajo cada condición (campo magnético ambiental o rotado al Este, Oeste o Sur), al agrupar respecto al norte magnético todos los rumbos obtenidos se logra eliminar cualquier sesgo o influencia no magnética que pudiera influir en la orientación (PHILLIPS, 1986b). Igualmente, este sistema nos permite tener dos distribuciones de rumbos, una correspondiente a los rumbos topográficos (respecto al norte geográfico o topográfico, que se mantiene constante en todas las condiciones) y otra correspondiente a los rumbos magnéticos (rumbos transformados respecto a la dirección del norte magnético en cada alineamiento). Así, podremos determinar si una determinada orientación preferente en la distribución de las direcciones de arrumbamiento se debe al uso del campo geomagnético (en cuyo caso los rumbos topográficos estarían distribuidos al azar pero los rumbos magnéticos mostrarían una dirección preferente) o bien se trata de una respuesta no magnética (orientación topográfica, como puede ser el caso del uso de una brújula basada en señales celestes, en cuyo caso los rumbos topográficos mostrarían una orientación preferente, pero no así los magnéticos; ver figura 2.10).

En la realización de los experimentos de orientación magnética los tritones fueron ensayados alternativamente en cada una de las cuatro condiciones magnéticas descritas. Es decir, un tritón se ensayaba bajo $N_{mag}=N$, el siguiente bajo $N_{mag}=E$, el siguiente bajo $N_{mag}=W$, el siguiente bajo $N_{mag}=S$, y así sucesivamente. Si un individuo no contactaba la pared de la arena dentro del tiempo de respuesta estipulado (5 o 10 minutos) era excluido de los datos, de forma que el siguiente tritón se ensayaba bajo el mismo alineamiento de campo magnético. De esta forma, un número similar de tritones fue ensayado bajo cada condición.



Orientación Topográfica



Orientación Magnética

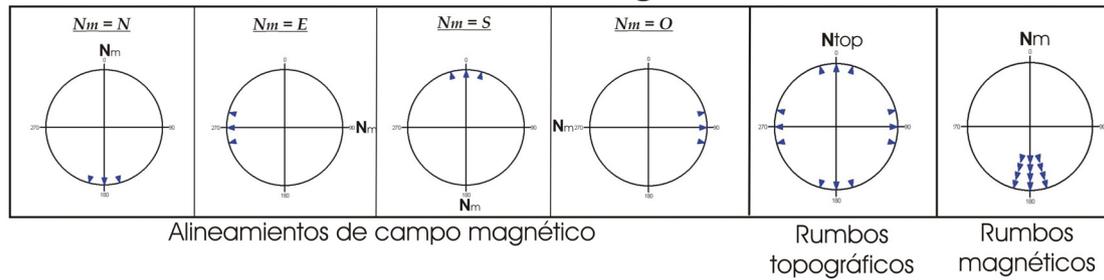


Figura 2.10

La combinación de los rumbos correspondientes a cada alineamiento del campo magnético nos permite determinar el tipo de orientación (topográfica o magnética). N_m = norte magnético. N_{top} = norte topográfico o geográfico. (Modificado de PHILLIPS et al., 2005a).

3.2 Análisis de estímulos celestes y características de la luz sobre la orientación

Para contrastar el posible papel de los estímulos celestes en las conductas de orientación de los tritones se estudiaron las respuestas direccionales obtenidas bajo diferentes condiciones de presencia o ausencia de dichos estímulos (visión del sol, luna o estrellas) tanto durante la realización de las pruebas de orientación como durante el transporte de los animales hasta el lugar de experimentación (para el caso de la orientación de regreso al hogar). Asimismo, los rumbos topográficos de los tritones ensayados bajo condiciones de luna o sol visible se analizaron respecto al valor del acimut lunar o solar existente en el momento de la realización de cada ensayo de orientación. Los valores de acimut para cada localización, fecha y hora concreta se



obtuvieron de la dirección web <http://aa.usno.navy.mil/data/docs/AltAz.php> (U.S. Naval Observatory, Astronomical Applications Department). Posteriormente, se restó a cada rumbo topográfico el valor de acimut correspondiente, obteniéndose así una distribución de desviaciones respecto a la posición del sol y la luna en cada momento, que fue analizada estadísticamente con el objetivo de contrastar la implicación de compases de tipo solar o lunar en la orientación de los tritones. Por otra parte, el posible uso del patrón de polarización de la luz fue estudiado en el caso de la orientación respecto al eje-Y de tritones ibéricos adultos mediante entrenamiento y ensayo de los tritones bajo fuentes de luz linealmente polarizada, empleando filtros polarizadores específicos y condiciones controladas de laboratorio, tal como se explica con detalle en capítulos posteriores (ver sección V-3).

Con el objetivo de investigar las características funcionales del mecanismo de magnetorrecepción utilizado por los tritones para orientarse, se llevaron a cabo experimentos bajo condiciones de oscuridad total y experimentos en los cuales los individuos eran iluminados bajo luz de distintas longitudes de onda (ver secciones III-1, IV-1 y V-2). Estos experimentos se llevaron a cabo filtrando la luz natural ambiental a través de sistemas de filtros específicos a ciertas longitudes de onda, logrando así obtener una iluminación de las características deseadas. Así, de forma adicional a la iluminación natural de espectro total, se emplearon condiciones de iluminación de banda ancha (longitudes de onda largas, con luz de $\lambda \geq 500$ nm -zona amarilla del espectro luminoso-) y de luz de onda corta ($\lambda \leq 450$ nm -extremo azul del espectro-). La iluminación con luz de longitud de onda larga se consiguió empleando dos capas de filtro de gelatina específico para la transmisión de estas longitudes de onda (“Lee n° 101” -“Yellow”-, Lee Filters[®], Andover, Hants, UK; ver figura 2.11 -izquierda-), mientras que para la iluminación de longitud de onda corta se utilizó una capa de otro filtro de gelatina, específico en este caso para permitir el paso de longitudes de onda corta (“Lee n° HT 120” -“Deep Blue-”, Lee Filters[®]; figura 2.11 -derecha-). En cada caso las capas de filtro se dispusieron colocadas entre dos placas de metacrilato transparente (de 0.4 cm de grosor cada una), utilizando pegamento de cianocrilato y cinta adhesiva tricapa de alta resistencia a la tracción (*Power Tape*[®]), con lo que se obtuvieron planchas fácilmente manejables que se utilizaron para cubrir bien el aparato de ensayos o bien los tanques de entrenamiento (ver secciones III-1, IV-1 y V-2).

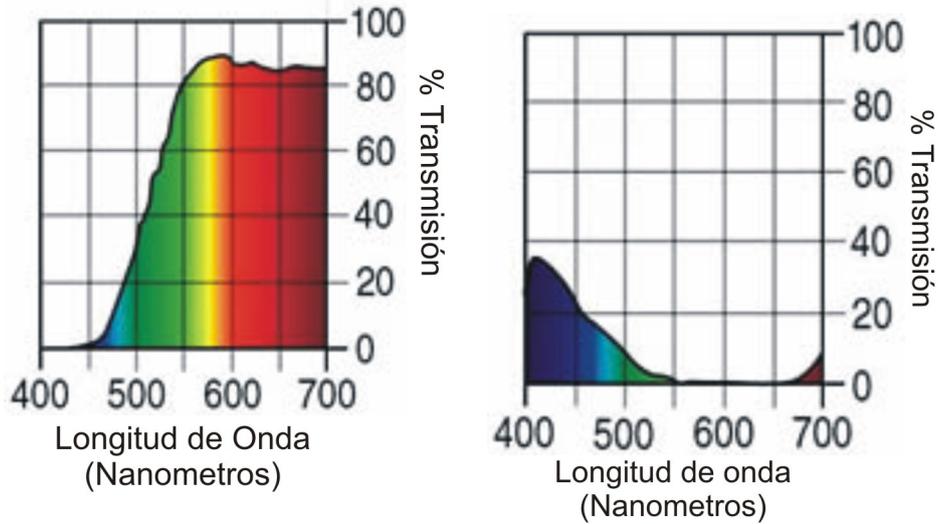


Figura 2.11 Curvas espectrales de los filtros de gelatina empleados en los ensayos

Izquierda: LEE nº 101 -filtro específico para la transmisión de longitudes de onda largas- /
Derecha: LEE HT-120 -filtro específico para longitudes de onda bajas-. Se representa el porcentaje de transmisión para cada longitud de onda (nm).

Otras metodologías experimentales particulares de cada conducta de orientación y experimento realizado serán detalladas en secciones posteriores. En general, la importancia relativa de la información direccional percibida por los tritones durante el desplazamiento desde su punto de reproducción hasta el lugar de experimentación fue calibrada transportando a los animales a diferentes velocidades y en condiciones de presencia o ausencia de estímulos direccionales. Asimismo, para contrastar la existencia o no de un mecanismo de verdadera navegación en la orientación de regreso al hogar del tritón jaspeado y el tritón ibérico se emplearon protocolos de transporte en oscuridad, transporte con campo magnético alterado y procedimiento que imposibilitara el registro de señales inerciales. Por otra parte, para analizar la eficacia de la toma de medidas ambientales por parte de los tritones en relación con las oscilaciones diarias naturales de señales direccionales, como es el caso del campo geomagnético, se estudiaron las respuestas de orientación seguidas por diferentes grupos de tritones durante la noche y en las horas centrales del día (ver secciones posteriores).



4. Metodología estadística

4.1 Almacenamiento de la información

La información y datos correspondientes a cada experimento realizado fueron recogidos primeramente en una tabla similar a la adjunta, en la que los diferentes campos eran rellenados a lápiz durante el transcurso del trabajo. Así, en todos los casos se tomaron una serie de anotaciones descriptivas del experimento, con un código que facilitara su identificación posterior, fecha de realización, localidad y hora de captura de los tritones utilizados, y orientación y distancia desde el lugar de experimentación hasta la población de origen de los tritones (estimados mediante GPS). Igualmente se registró la metodología seguida en el transporte de los individuos (por ejemplo, transporte en oscuridad, en coche, indicando rumbo de alejamiento y duración del transporte), así como una descripción general de las condiciones meteorológicas reinantes (viento y dirección, fase lunar y visión de la luna, cantidad de nubes, etc.) y otros comentarios relativos al protocolo o condiciones de experimentación (ver tabla 2.1). Durante los ensayos de orientación, para cada individuo ensayado se anotaba su número (orden de ensayo), hora exacta de inicio del ensayo (considerándose la hora en la que se introducía el tritón en la arena circular a través del cilindro de liberación), valores de temperatura y humedad relativa ambiental en el momento del ensayo y sexo del individuo. Los rumbos de orientación se midieron en todo caso respecto al norte geográfico. En aquellos ensayos realizados bajo distintos alineamientos de campo magnético se registró la orientación de cada tritón en una columna correspondiente a la condición de alineamiento magnético bajo la que había sido ensayado ($N_{mag} = N$, $N_{mag} = E$, $N_{mag} = O$, $N_{mag} = S$).

En el caso de los experimentos de orientación respecto al eje-Y (ver sección V) se utilizó un formato de tabla de recogida de datos similar al expuesto, con indicaciones adicionales respecto a los protocolos de entrenamiento e incluyendo como columnas de tabla indicaciones acerca del acuario o tanque de entrenamiento de procedencia del individuo ensayado, temperatura del agua en la arena en el momento del ensayo y tiempo de respuesta en la arena circular. Asimismo, en los experimentos realizados con individuos larvarios se incluyó una medida del tamaño de cada larva (grado de



desarrollo y longitud hocico-cloaca) realizadas después del experimento. Igualmente, en caso de utilizar varios grupos experimentales se registraba la condición en la que era ensayado cada tritón.

Una vez finalizado un experimento, todos los datos recogidos eran pasados a soporte informático, introduciéndolos en una tabla en forma de fichero de Microsoft Excel 2003. Para los experimentos de orientación magnética, los rumbos topográficos medidos eran rotados respecto a la dirección norte magnética de cada condición (esto es, restando mediante aritmética modular 90° a los rumbos topográficos de tritones ensayados con el norte magnético rotado al este geográfico, 270° a los rumbos topográficos de la condición $N_{mag}=O$ y 180° a los de la condición $N_{mag}=S$). De esta forma, se agrupaban y transformaban en rumbos magnéticos, que eran igualmente almacenados en una columna contigua de dicha tabla. Análogos procedimientos de aritmética modular fueron llevados a cabo para realizar análisis de rumbos respecto a las posiciones de acimut solar o lunar o respecto a otro tipo de direcciones topográficas. Una vez completada la tabla de Excel, los datos eran exportados para su posterior análisis al programa informático Oriana 2.0 (*Kovach Computing Services*), que fue el programa utilizado para la totalidad de cálculos estadísticos.

Tabla 2.1 Ficha de recogida de datos

Código experimento..... Fecha.....
 Localidad captura..... Hora de captura.....
 Orientación hacia el lugar de captura..... Distancia.....
 Condiciones de transporte.....
 Condiciones ambientales.....
 Comentarios.....

| Nº | Hora | Tª | % HR | Sexo | Nmag=N | N mag=E | Nmag=O | Nmag=S | Especial |
|----|------|----|------|------|--------|---------|--------|--------|----------|
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |



4.2 Estadística Circular

Las distribuciones de rumbos topográficos y magnéticos fueron analizadas utilizando Estadística Circular (BATSCHLET, 1981; JAMMALAMADAKA & SENGUPTA, 2001). Este tipo de estadística se aplica a aquellos datos, como los rumbos direccionales, que pueden representarse gráficamente como ángulos sobre una circunferencia; es decir, aquellas variables en las que dos valores extremos coinciden en un mismo punto (por ejemplo, el valor de dirección 0 grados y el valor 360 grados). Esta clase de variables aleatorias, en las que su valor no es necesariamente único, ya que depende del punto del círculo elegido como origen y del sentido de rotación, son las denominadas *variables angulares*. Debido a sus características distintivas, estas variables angulares precisan de unos análisis matemáticos sustancialmente diferentes de los usados en la estadística clásica o “lineal”, existiendo procedimientos y pruebas estadísticas específicas (JAMMALAMADAKA & SENGUPTA, 2001; LAHOZ BELTRÁ *et al.*, 1994).

La posición o dirección de un dato de tipo circular en la circunferencia puede describirse mediante dos coordenadas de tipo rectangular, con origen en el centro de la circunferencia y dos ejes perpendiculares (X, Y) a través del origen, o bien en términos de coordenadas polares como (r, α) , donde r representa la distancia al origen y α su dirección (figura 2.12). Se puede convertir un sistema de coordenadas en otro mediante funciones trigonométricas y, puesto que en los análisis circulares el interés está puesto en la dirección y no en la magnitud del vector, se considera por conveniencia que los vectores de las variables circulares son de longitud (r) igual a 1. Por lo tanto, cada dirección se corresponde con un punto (P) en la circunferencia, definido por su ángulo o por sus coordenadas rectangulares (JAMMALAMADAKA & SENGUPTA, 2001).

$$(1, \alpha) \leftrightarrow (x = \cos\alpha, y = \text{sen}\alpha)$$

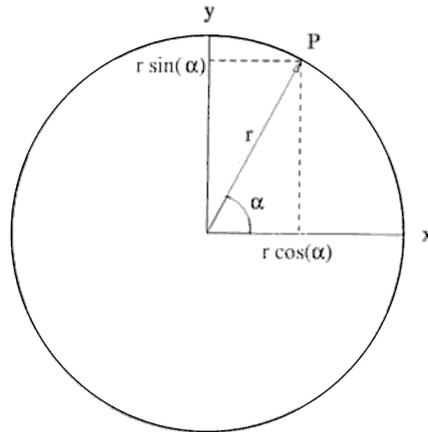


Figura 2.12 Variables circulares (FUENTE: JAMMALAMADAKA & SENGUPTA, 2001)

Al tratar con datos circulares, el cálculo de la media muestral sufre de una fuerte dependencia derivada de la elección del origen o “dirección cero” y del sentido de rotación, por lo que debe evitarse el uso de la media como medida de tendencia central de direcciones. La varianza muestral, S^2 , al depender de la media muestral, sufre similares problemas y por lo tanto se hace necesario recurrir a medidas alternativas de tendencia central y dispersión (JAMMALAMADAKA & SENGUPTA, 2001). Así, en estadística circular, una medida útil de la dirección media para un grupo de datos unimodales (es decir, concentrados hacia una única dirección) se obtiene tratando los datos como vectores unitarios y usando la dirección del vector resultante, calculada de la siguiente forma:

$$\mathbf{R} = \left(\sum_{i=1}^n \cos \alpha_i, \sum_{i=1}^n \sin \alpha_i \right) = (C, S)$$

de manera que la longitud del vector resultante, R , es igual a

$$R = \|\mathbf{R}\| = \sqrt{C^2 + S^2}$$

La dirección del vector resultante se utiliza como dirección media de los datos, representada por

$$\phi_0 = \arg \left\{ \sum_{j=1}^n \cos \alpha_j + i \sum_{j=1}^n \sin \alpha_j \right\} = \arctan (S/C)$$

Esta medida de tendencia central refleja el centro de la distribución de datos sin depender de la elección del sentido de origen y sentido de rotación, y, de manera adicional, la longitud del vector resultante ($R = \|\mathbf{R}\|$) sirve como indicador de la



dispersión de los datos. Así, un valor bajo de R indica una alta dispersión (con $R=0$ correspondiendo a la situación de datos distribuidos de forma totalmente homogénea o uniforme alrededor de la circunferencia), mientras que valores altos de R son indicativos de una alta concentración de los datos (pudiendo ser R tan grande como el tamaño muestral, n). Corrigiendo respecto al tamaño muestral, tenemos que $\|R\|/n$ toma valores entre cero (dispersión grande) y 1 (dispersión pequeña), medida que se ha usado como indicador de la dispersión en nuestros análisis, calculando para cada distribución de rumbos el vector medio de los datos y su longitud (r). De igual forma, el valor $(n - R)$ funciona como un análogo de la varianza muestral para datos lineales (JAMMALAMADAKA & SENGUPTA, 2001).

En algunas ocasiones, la distribución de los datos angulares puede concentrarse siguiendo un determinado eje. En esos casos (las llamadas distribuciones de tipo bimodal), los rumbos angulares son transformados en “rumbos axiales”, en los que cada dirección “ θ ” queda identificada con su dirección opuesta ($\theta + \pi$). En los análisis del presente estudio, estos datos axiales o bimodales se manejaron siguiendo el procedimiento habitual de doblar los datos, reduciendo cualquier valor mayor de 360 mediante aritmética modular. Este sistema permite eliminar la ambigüedad direccional de los análisis y reconvertir posteriormente las estadísticas resultantes (JAMMALAMADAKA & SENGUPTA, 2001).

4.3 Pruebas estadísticas empleadas en los análisis

Dentro de los distintos tipos de distribuciones circulares (distribuciones de probabilidad en las que la probabilidad total está concentrada en la circunferencia de un círculo unitario), la llamada **distribución uniforme** representa el caso en que la probabilidad total queda repartida de forma igualitaria a lo largo de la circunferencia, con todas las direcciones igual de probables. También denominada distribución isotrópica o aleatoria, este tipo de distribución posee la siguiente función de densidad constante (para una variable circular θ):

$$f(\theta) = 1 / 2\pi \quad (0 \leq \theta < 2\pi)$$



Puesto que la distribución uniforme no posee media bien definida ni existencia de dirección preferente representa un papel principal en los análisis de estadística circular (JAMMALAMADAKA & SENGUPTA, 2001). Así, cuando una distribución circular no es uniforme se asume que existe una cierta concentración de los datos en torno a una o varias direcciones de preferencia (distribuciones *unimodales* y *polimodales*).

En caso de distribuciones no uniformes se asume en los análisis que los datos de orientación siguen una distribución de tipo **Circular Normal (CN)** o **distribución de von Mises** (LAHOZ-BELTRÁ *et al.*, 1994), con la siguiente función de densidad:

$$f(\theta; \mu, \kappa) = \frac{1}{2\pi I_0(\kappa)} e^{\kappa \cos(\theta - \mu)}, \quad 0 \leq \theta < 2\pi,$$

donde $0 \leq \mu < 2\pi$ y $k \geq 0$ son parámetros, siendo μ la dirección media poblacional y k el parámetro de concentración de la distribución en torno a la media, que mide la desviación de la distribución respecto a un círculo perfecto o una distribución uniforme. En los análisis efectuados, se calculó el estimador de máxima probabilidad para el parámetro poblacional de concentración k , que está relacionado con la longitud del vector medio (r) y que toma valores más altos cuanto más concentrados estén los datos (BATSCHLET, 1981). Para el caso de distribuciones bimodales, se asumió la correspondiente variación de la distribución circular normal con la variable circular restringida a un arco semicircular (*distribución axial*) (JAMMALAMADAKA & SENGUPTA, 2001).

En los análisis efectuados en el presente trabajo, se empleó el **Test de Uniformidad de Rayleigh** como prueba estadística fundamental para contrastar la existencia o no de una dirección preferente en la distribución de los rumbos de orientación. Este test para el parámetro de concentración k calcula la probabilidad de la hipótesis nula de que los datos estén distribuidos de manera uniforme mediante un estadígrafo de contraste $Z = n r^2$. Un vector resultante r grande implica un valor alto de Z , indicando una gran concentración de las observaciones alrededor de la media muestral y, por lo tanto, una menor probabilidad de que los datos tengan una distribución uniforme. Así, un p -valor asociado a este test menor que el nivel de significación escogido (en nuestro caso $p < 0.05$) indica que los datos no están distribuidos de manera uniforme, sino que muestran evidencias de una dirección preferida en la orientación. Sin embargo, el test de Rayleigh sólo indica esto (es decir, si se puede rechazar la h_0 de



distribución uniforme), pero sin especificar la dirección media preferida (BATSCHULET, 1981; JAMMALAMADAKA & SENGUPTA, 2001). En el caso de obtener distribuciones no uniformes en los análisis (test de Rayleigh con $p < 0.05$) se utilizaron como norma general los intervalos de confianza del 95% alrededor del vector medio para determinar si la dirección preferente de los rumbos se encontraba orientada o no hacia la dirección esperada (por ejemplo, rumbo de regreso al medio reproductor, considerando una respuesta de orientación de vuelta a casa si el rumbo de regreso al hogar quedaba incluido en los valores delimitados por el intervalo de confianza para el vector medio).

De forma adicional al test de Rayleigh, también se utilizó el **Test de Kuiper** con el objetivo de estudiar la bondad de ajuste del modelo, es decir si nuestros datos se ajustan bien o no a una determinada distribución de probabilidad. En nuestro caso, empleamos fundamentalmente este test no paramétrico para comparar directamente la distribución real de nuestros datos con una distribución uniforme. El estadígrafo V_n utilizado en esta prueba es independiente del origen y sentido de rotación elegido y se basa en el análisis de desviaciones, tomando valores altos cuando las desviaciones entre la distribución observada y la esperada son altas. Así, altos valores de V_n irían acompañados de p -valores pequeños y conducirían a rechazar la hipótesis nula de distribución uniforme (y en caso contrario a aceptarla). (JAMMALAMADAKA & SENGUPTA, 2001).

Por otra parte, para estimar la proximidad del vector medio de una distribución a una dirección de orientación concreta se empleó el **Test de la V**, variante del test de Rayleigh que contrasta la hipótesis alternativa de que la distribución de los datos tiene una dirección media específica. Así, esta prueba, en vez de contrastar la hipótesis nula de uniformidad ($H_0: \mu = 0$, siendo μ la dirección media poblacional) frente a una hipótesis alternativa sin especificar (como es el caso del test de Rayleigh), permite utilizar una hipótesis alternativa concreta de distribución no uniforme, comparando la distribución de los datos con una distribución de dirección media hipotética elegida de antemano. Es decir: $H_a: \mu = \mu' > 0$, siendo, por ejemplo, la media hipotética elegida para el contraste la dirección esperada en el movimiento de orientación (dirección de regreso al medio de reproducción en el presente caso). Para efectuar el análisis, el test de la V se basa en cálculos relacionados con la longitud proyectada del vector resultante hacia la dirección



hipotética de la media poblacional: $V = \sum_{i=1}^n \cos (\alpha_i - \mu)$. (JAMMALAMADAKA & SENGUPTA, 2001).

Por último, en los casos en los que se hizo necesario comparar estadísticamente grupos experimentales se empleó el **Test de Watson-U²** para dos muestras, el cual nos indica si dos muestras dadas de datos circulares proceden de la misma población o si por el contrario corresponden a dos distribuciones circulares diferentes. Esta prueba, en lugar de comparar un grupo de datos con una distribución teórica, compara dos grupos de datos usando desviaciones de medias cuadradas y parte de la hipótesis nula de que las dos muestras tienen la misma distribución. En el caso de rechazar la hipótesis nula ($p < 0.05$), por lo tanto, se considera que las muestras proceden de poblaciones que difieren en algún aspecto (distribución, dirección media o algún otro parámetro, BATSCHLET, 1981).

III

MECANISMOS DE ORIENTACIÓN DEL TRITÓN JASPEADO (*Triturus marmoratus*) DURANTE SU MIGRACIÓN REPRODUCTORA





III. MECANISMOS DE ORIENTACIÓN DEL TRITÓN JASPEADO (*Triturus marmoratus*) DURANTE SU MIGRACIÓN REPRODUCTORA

Se ha demostrado que los tritones jaspeados poseen la capacidad de orientarse de regreso a su medio acuático durante sus migraciones reproductoras (DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2002; MARTY *et al.*, 2005); sin embargo, el conocimiento acerca de las señales direccionales empleadas en este tipo de orientación de regreso al hogar es todavía escaso (DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2002; 2004b). Por lo tanto, dentro de la presente investigación se planteó como objetivo básico el estudio de los estímulos ambientales utilizados por estos tritones en sus migraciones, contrastando de forma específica la existencia o no de orientación mediante el vector de campo geomagnético (capacidad aún no investigada en esta especie pero que sin embargo se ha probado en otras especies de anfibios; DIEGO-RASILLA & RODRÍGUEZ-GARCÍA, 2007). Asimismo, se estudió el papel de las señales celestes en el comportamiento de orientación, analizando las respuestas de los tritones jaspeados bajo distintas condiciones de visibilidad de estímulos celestes y estudiando la capacidad de orientación magnética bajo oscuridad total y en distintas condiciones de iluminación. Finalmente, se realizaron experimentos con la intención de comprobar la existencia de un sentido de mapa de navegación en esta especie.

1. Migración reproductora del tritón jaspeado mediante compás magnético dependiente de la luz

1.1 Metodología

Para investigar el posible uso de un compás magnético en la conducta de orientación de regreso al hogar de *T. marmoratus* se realizaron una serie de experimentos durante los meses de mayo de 2006 y 2007, coincidiendo con la temporada reproductora de la especie en el área de estudio. El análisis experimental de la orientación de regreso al hogar requiere siempre llevar a cabo un transporte de los



animales estudiados, que deben ser trasladados desde su “hogar” (punto acuático de reproducción en este caso) a una localidad alejada, preferentemente fuera del territorio o área de campeo de los sujetos experimentales, y desde la que no puedan establecer un contacto sensorial directo con el hogar o punto de captura (PHILLIPS *et al.*, 2005b). En el presente estudio fueron utilizados tritones jaspeados adultos capturados en sus medios acuáticos y transportados al lugar de experimentación, donde su orientación de regreso al hogar fue estudiada bajo cuatro condiciones distintas de alineamiento del campo magnético y siguiendo los protocolos generales descritos con anterioridad (ver sección II-3). Los experimentos fueron realizados al aire libre y se emplearon dos lugares de experimentación diferentes, siendo en ambos casos jardines privados situados en la periferia de la localidad de Linares de Riofrío (Salamanca). A continuación y en la tabla 3.1 se describen los aspectos metodológicos específicos para cada experimento realizado

| Experimento | Condición ensayos | Fecha ensayos | Medio de origen | <i>n</i> | Hora captura | Hora ensayos | Km al hogar | Rumbo regreso |
|--|------------------------|---------------------------|-----------------|----------|------------------------|-------------------------|-------------|---------------|
| Orientación nocturna / 1 | Cielo con luna visible | Noche del 16 al 17-5-2006 | 1 | 15 | 17:30 - 21:15 | 0:40- 2:40 | 2.6 | 110° |
| Orientación nocturna / 2 | Cielo sin luna | Noche del 26 al 27-5-2006 | 5 | 22 | 16:30 - 18:00 | 21:30- 1:20 | 9.6 | 292° |
| Dependencia de la luz | Oscuridad total | Noche del 30 al 31-5-2007 | 5 | 19 | 16:00 - 18:00 | 21:30- 0:00 | 9.6 | 291° |
| Influencia λ | $\lambda \leq 450$ nm | 10-5-2007 | 5 | 15 | 9 mayo (16:00 - 17:30) | 10 mayo (12:05 - 15:35) | 9.6 | 291° |
| | $\lambda \geq 500$ nm | | | 15 | | | | |

Tabla 3.1 Resumen de datos metodológicos correspondientes a los experimentos de orientación magnética de regreso al hogar con *T. marmoratus*

Se incluyen las fechas de realización de los ensayos de orientación y otros aspectos, tales como el número de tritones capturados y empleados en los ensayos (*n*), la población o medio de origen de los mismos (numeración de acuerdo a los códigos empleados en la sección II-2.5) o la distancia y rumbo de regreso al hogar desde el lugar de experimentación. En todos los casos se realizó un transporte directo hasta el lugar de ensayos. Los tritones fueron capturados unas horas antes de los ensayos, salvo en el caso del estudio de la influencia de la λ de la luz, en el que la captura se produjo el día anterior y los tritones pasaron una noche completa en el lugar de experimentación. Las horas aquí y en adelante son GMT.



- Orientación nocturna de regreso al hogar

Durante el mes de mayo de 2006 se realizaron dos experimentos de orientación magnética simétricos, cada uno con tritones jaspeados procedentes de una población distinta, situadas a diferentes orientaciones respecto al lugar de experimentación. De esta forma se hizo posible averiguar si las respuestas de orientación obtenidas en los ensayos experimentales eran efectivamente respuestas de regreso al medio reproductor donde habían sido capturados los tritones. Los ensayos de orientación correspondientes a ambos experimentos fueron llevados a cabo durante la noche, ya que *T. marmoratus* presenta una actividad preferentemente nocturna (GARCÍA-PARÍS *et al.*, 2004) y debido a que investigaciones recientes han demostrado que otras especies de tritones toman preferentemente sus lecturas del campo magnético durante la noche, cuando el campo geomagnético es relativamente estable, amortiguando así potenciales errores derivados de la variación temporal en los parámetros magnéticos debida a la influencia solar (PHILLIPS *et al.*, 2005a). Puesto que trabajos anteriores sugirieron una orientación nocturna mediante señales celestes (DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2002), también se buscó contrastar una posible influencia de la luna en la orientación de los tritones jaspeados realizando cada experimento bajo diferentes condiciones de visibilidad de la luna. Es decir, por un lado se realizó un experimento de orientación magnética durante una noche de luna llena visible (16 al 17 de mayo de 2006) con tritones procedentes de una charca ganadera (población nº 1), situada a una orientación de 110°, y a 2.6 km de distancia desde el lugar de experimentación. Mientras, en un experimento posterior, realizado en condiciones de luna no visible (luna casi nueva y oculta tras el horizonte durante la realización del experimento), se ensayó la conducta de orientación de tritones capturados en una población distinta (población nº 5), con un rumbo de regreso de 292° y a 9.6 km del lugar de experimentación. Ambos experimentos se realizaron en un mismo lugar de experimentación (40° 34' 32 " N, 5° 55' 7" O, 995 m de altitud), suficientemente alejado de los lugares de captura de los tritones como para impedir el acceso a señales emanadas de los mismos (por ejemplo, olores procedentes del medio acuático).

Los tritones empleados en estos experimentos de orientación magnética nocturna fueron capturados en su medio acuático unas horas antes del comienzo de los ensayos (tabla 3.1) y el transporte se realizó en condiciones especiales que impidieran a los tritones el acceso a cualquier tipo de información direccional. Así, los ejemplares



capturados fueron introducidos, con agua procedente de su medio, en varios recipientes circulares de plástico (5-6 individuos por recipiente) cerrados herméticamente. A su vez, estos recipientes se introdujeron en un tanque rectangular de paredes totalmente opacas, cuya tapa superior se cerró debidamente. Por último, dicho tanque cerrado, conteniendo los recipientes con los tritones, se metió en el interior de una bolsa de transporte de poliamida, también convenientemente cerrada para que ningún atisbo de luz pudiera alcanzar a los animales. De este modo se consiguió que el transporte hasta el lugar de experimentación se realizara en oscuridad total, privando a los tritones de la recepción de cualquier tipo de información visual, así como del acceso a señales químicas debido al cierre hermético de los recipientes. Asimismo, un transporte en oscuridad total como el realizado podría impedir el uso de información derivada del campo geomagnético para estimar la dirección del desplazamiento, ya que el compás magnético de los anfibios ha demostrado ser dependiente de la luz (PHILLIPS & BORLAND, 1992a; DIEGO-RASILLA, 2003; DIEGO-RASILLA *et al.*, 2005). Para intentar evitar un hipotético mecanismo de integración de trayectorias basado en información de tipo inercial, el transporte de los tritones se realizó tomando un rumbo inicial de alejamiento a pie no coincidente con la dirección en la que se encontraba el lugar de experimentación (durante aproximadamente 50 m, a 3 km/h), para posteriormente realizar el resto del transporte en coche (velocidad 20-40 km/h), siguiendo caminos de montaña sinuosos hasta el lugar de experimentación.”

Tras el transporte, los tritones permanecieron en el lugar de experimentación entre dos horas y media y tres horas antes del comienzo de los ensayos, tiempo durante el cual los tritones tuvieron visión libre del cielo y acceso al resto de estímulos ambientales propios del lugar de experimentación, tales como las señales del campo magnético ambiental. Tras este tiempo, los ensayos de orientación se llevaron a cabo de acuerdo a los protocolos descritos (ver sección II-3), siendo ensayado cada tritón de manera individual bajo una de las cuatro condiciones de alineamiento magnético establecidas (Norte magnético en el Norte o girado a posición Este, Oeste y Sur). La arena de experimentación fue situada al aire libre a unos 10 m de los tanques donde permanecían los tritones sin ensayar y al menos a 5 m de distancia de materiales ferromagnéticos o estructuras que pudieran alterar el campo magnético. Los dos experimentos se realizaron bajo cielo nocturno estrellado (la puesta de sol tuvo lugar a las 19:32 y 19:41 GMT para los experimentos con la población nº 1 y nº 5,



respectivamente) y condiciones de brisa ligera o viento en calma, siendo la visibilidad de la luna el único factor netamente diferente en uno y otro experimento (visible en el experimento con la población n° 1 pero no con la población n° 5). En ambos casos, la situación y configuración de la arena y aparato de ensayos permitieron a los tritones acceder en todo momento a una visión libre del cielo sobre sus cabezas. En el experimento realizado con la población n° 1 la luna llena permaneció visible por los tritones durante la totalidad de los ensayos de orientación. De acuerdo al protocolo de ensayos general, una vez liberado cada tritón en el centro de la arena circular, el experimentador abandonaba las proximidades de ésta para no influir en la respuesta direccional, regresando una vez transcurrido el tiempo máximo de respuesta estipulado (5 minutos) y determinando el rumbo de orientación tomado por el tritón gracias a las marcas de humedad dejadas por el animal en el suelo de la arena al moverse. Una vez medida la respuesta de un tritón, y antes de proceder a ensayar el siguiente, el suelo y las paredes de la arena eran limpiadas concienzudamente con paños de papel, con el objetivo de eliminar posibles señales químicas dejadas por el individuo ensayado.

- Influencia de la luz sobre la orientación magnética

Una vez analizada la orientación de regreso al hogar de los tritones jaspeados bajo luna llena visible y luna no visible, se procedió a estudiar la respuesta de los animales en condiciones de oscuridad total o iluminación monocromática, con el objetivo principal de analizar una posible influencia de la luz sobre el mecanismo de magnetorrecepción (tal como se ha encontrado en otras especies: PHILLIPS & BORLAND, 1992a, b; DEUTSCHLANDER *et tal.*, 1999a, FREAKE & PHILLIPS, 2005). Para ello se llevaron a cabo otros dos experimentos de orientación, en un lugar próximo al utilizado en los experimentos anteriores (situado en este caso en 40° 34' 48'' N 5° 54' 57'' O, 960 m de altitud).

Los ensayos de orientación magnética bajo condiciones de oscuridad total fueron realizados durante la noche del 30 al 31 de mayo de 2007 (tabla 3.1), siguiendo el mismo protocolo básico utilizado en los experimentos realizados el año anterior y descritos previamente, con la salvedad de que se limitó completamente el acceso de los tritones a señales visuales durante los ensayos en la arena circular. Para ello, tan pronto como un tritón era introducido en el centro de la arena para analizar su respuesta de orientación la



cara superior de ésta era cubierta por completo con una lona de plástico negro, de 3 mm de grosor y completamente opaca. De este modo se consiguieron condiciones de oscuridad total en el interior de la arena durante el tiempo de respuesta establecido (5 minutos), tras el cual era retirada la cubierta y registrado el rumbo tomado por el individuo. De forma previa a los ensayos de orientación en oscuridad (llevados a cabo bajo cuatro alineamientos magnéticos, según el protocolo general), los tritones, capturados la tarde previa al inicio del experimento, permanecieron al aire libre en el lugar de experimentación durante tres horas con acceso libre a estímulos ambientales, al igual que lo ocurrido en otros experimentos. Igualmente, el transporte desde el lugar de captura hasta el lugar de experimentación se realizó siguiendo el método descrito, en oscuridad y sin acceso a estímulos direccionales. Aunque el lugar de experimentación fue diferente al utilizado para los experimentos realizados en el año 2006, presentaba características similares, encontrándose igualmente a una distancia de la localidad de captura (9.6 km) suficiente como para impedir el acceso a señales emanadas del lugar de origen de los tritones, pero no excesiva como para impedir el uso teórico de los gradientes magnéticos locales (PHILLIPS *et al.*, 2005b).

Por último, se realizó un experimento adicional analizándose las respuestas de los tritones bajo condiciones de iluminación de longitudes de onda largas ($\lambda \geq 500$ nm) y longitudes de onda cortas ($\lambda \leq 450$ nm). Para ello, fueron capturados 30 tritones jaspeados adultos en el medio acuático nº 5 durante la tarde del 9 de mayo de 2007, siendo posteriormente transportados al lugar de experimentación en condiciones de oscuridad total de acuerdo al protocolo descrito. Una vez en el lugar de experimentación, los tritones permanecieron durante toda la noche del 9 al 10 de mayo en los habituales recipientes de contención, con su longitud mayor alineada a lo largo del eje N-S y con agua procedente de la fuente de origen de los animales, de forma que tuvieron acceso libre a señales celestes nocturnas y al campo magnético ambiental durante las horas de mantenimiento previas a los ensayos de orientación, que no dieron comienzo hasta la tarde del día siguiente a la captura (10 de mayo). El hecho de permitir a los tritones permanecer una noche completa en el lugar de experimentación antes de analizar su conducta de regreso al hogar radica en que experimentos anteriores demostraron que la toma de medidas nocturnas por parte de los tritones parece ser fundamental para lograr una correcta orientación (ver más adelante). La determinación de las respuestas de orientación fue, sin embargo, llevada a cabo durante las horas diurnas (tabla 3.1), con el



objetivo de aprovechar la luz solar natural, de cara a crear las condiciones deseadas de iluminación en el interior de la arena experimental. Para ello, la superficie superior del aparato de ensayos fue cubierta con filtros de iluminación específicos a longitudes de onda largas o cortas (ver sección II-3.2). Asimismo, los laterales del cubo de Rubens se cubrieron fuertemente hasta el suelo con varias capas de cortinas de color negro, gruesas y opacas, con lo que se consiguió que los tritones ensayados en la arena únicamente fueran iluminados con las longitudes de onda de la luz solar que conseguían atravesar el filtro colocado sobre el aparato experimental. Los ensayos de orientación se llevaron a cabo alternando alineamientos de campo magnético y las dos condiciones experimentales correspondientes a los filtros de iluminación (luz de $\lambda \leq 450$ nm o iluminación de $\lambda \geq 500$ nm). Así, se ensayaron de forma alterna grupos de cuatro tritones (uno en cada alineamiento magnético: $N_{mag} = N, E, O$ o S) bajo una y otra condición de iluminación (es decir, ensayos bajo luz de onda corta y los cuatro alineamientos de campo magnético posible, seguidos de otros cuatro ensayos bajo luz de onda larga, y así sucesivamente). Los ensayos se realizaron en una tarde de cielo despejado, viento suave del SE y temperatura ambiental entre 20 y 23 °C. La arena experimental se mantuvo en todo momento sombreada uniformemente (pero sin bloquear la visión libre del cielo desde la arena a través del filtro de iluminación), con el objetivo de impedir heterogeneidades en la distribución de sombras que pudieran influir en la orientación seguida por los individuos ensayados. Asimismo, los tanques conteniendo los tritones aún no ensayados también se mantuvieron a la sombra, evitando así el recalentamiento del agua (cuya temperatura se mantuvo en torno a los 20 °C).

1.2 Resultados

- Orientación nocturna de regreso al hogar

Los rumbos magnéticos seguidos por los tritones ensayados con visión del cielo nocturno se distribuyen siguiendo una dirección de orientación preferente. Así, en el experimento realizado con tritones procedentes de la población nº 1, la distribución de rumbos magnéticos sigue un vector medio de orientación de 120.933° ($n = 15$; $r = 0.528$, test de Rayleigh $p = 0.013$), cuyos intervalos de confianza del 95 % (83.336° -158.53°) incluyen el rumbo correspondiente de regreso al medio acuático desde el lugar de



experimentación (110°, figura 3.1A). Por su parte, los tritones procedentes de la población nº 5, ensayados la noche del 26 al 27 de mayo de 2006, siguieron rumbos de orientación con un vector medio magnético de 298.615° ($n = 20$; $r = 0.501$, $p = 0.005$), cuyos intervalos de confianza del 95% (266.547° - 331.683°) igualmente contienen el rumbo de regreso al hogar esperado (292°, figura 3.2A). Asimismo, el test de la V indica una orientación altamente significativa coincidente con la dirección de regreso al hogar esperada en cada caso ($p = 0.002$ para el experimento con la población nº 1 y $p = 6.37 \times 10^{-4}$ para la población nº 5). Las distribuciones de rumbos magnéticos correspondientes a los tritones procedentes de una y otra población son significativamente diferentes ($U^2 = 0.393$, test de Watson- U^2 $p < 0.001$; figura 3.3).

Al contrario de lo que ocurre con los rumbos magnéticos, los rumbos topográficos (respecto al Norte magnético ambiental o Norte topográfico) se distribuyen uniformemente en estos dos primeros experimentos (figuras 3.1B-3.2B). De esta forma, obtenemos resultados no significativos con el test de Rayleigh, tanto en el experimento con la población nº 1 ($n = 15$; 115.127°, $r = 0.208$, $p = 0.53$) como en el experimento con la población nº 5 ($n = 20$; 187.054°, $r = 0.335$, $p = 0.369$), por lo que no se detecta ninguna capacidad de orientación utilizando estímulos no magnéticos. Los rumbos topográficos de los tritones ensayados con visión de la luna tampoco resultan estadísticamente significativos al ser analizados como desviaciones del acimut lunar en el momento de los ensayos ($n = 15$; vector medio: 317.532°, $r = 0.212$, $p = 0.517$, de acuerdo al test de Rayleigh; figura 3.1C).

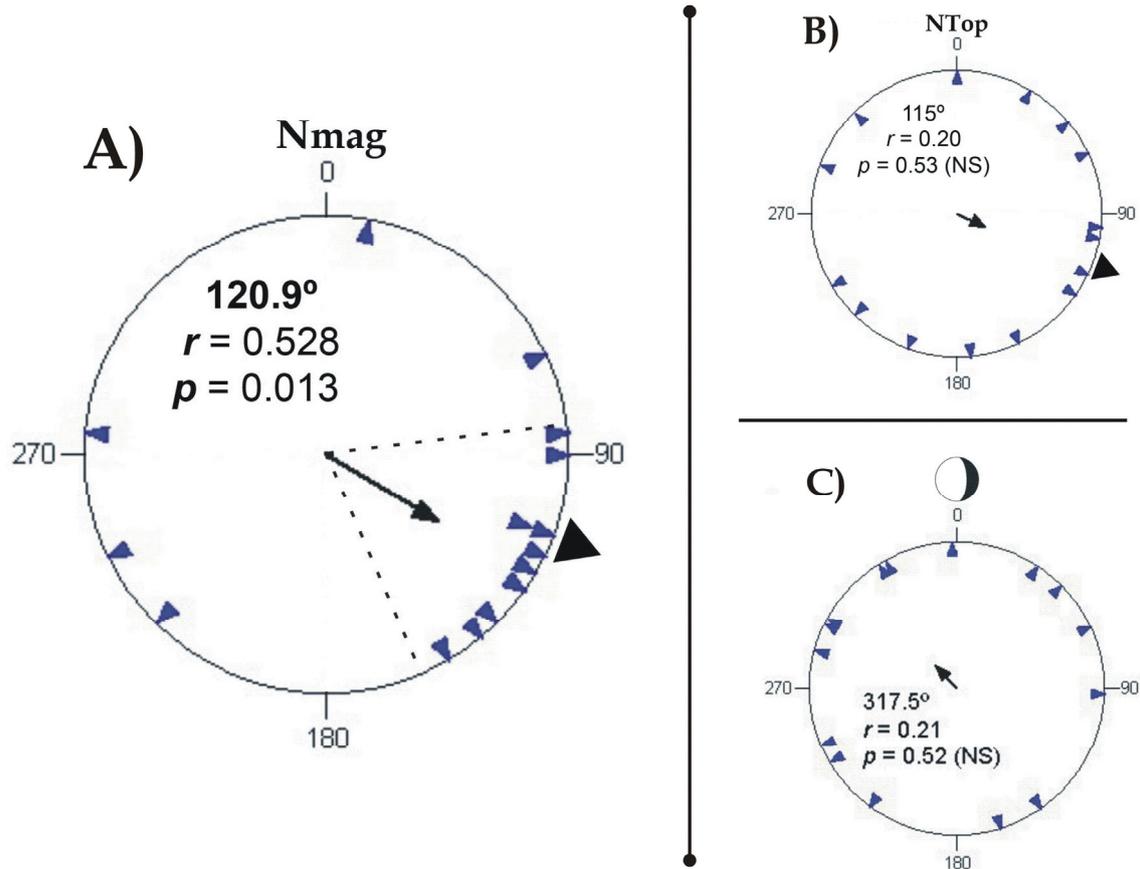


Figura 3.1 Distribuciones de rumbos de orientación de regreso al hogar de tritones jaspeados ensayados bajo distintos alineamientos magnéticos y cielo nocturno con luna llena visible (noche del 16 al 17 de mayo de 2006; tritones procedentes de la población nº 1)

A: Distribución de rumbos magnéticos (agrupando los rumbos medidos en cada alineamiento de campo magnético respecto a la dirección Norte magnético $-N_{mag}$). **B:** Distribución de rumbos topográficos (medidos respecto a la dirección Norte magnética ambiental o "topográfica" $-N_{top}$). **C:** Distribución de desviaciones respecto al acimut lunar de los rumbos topográficos (se representa la diferencia entre cada rumbo topográfico y la posición de la luna en el momento del ensayo). En todos los diagramas circulares, cada punta de flecha azul representa el rumbo de un único individuo. La flecha central en cada diagrama muestra la dirección del vector medio de orientación, con longitud proporcional a "r", correspondiendo el radio de cada círculo a $r=1$. Se representan igualmente los intervalos de confianza del 95% correspondientes (representados por líneas discontinuas). El triángulo negro en el exterior de los círculos indica el rumbo apropiado de regreso al hogar (charca de procedencia de los tritones).

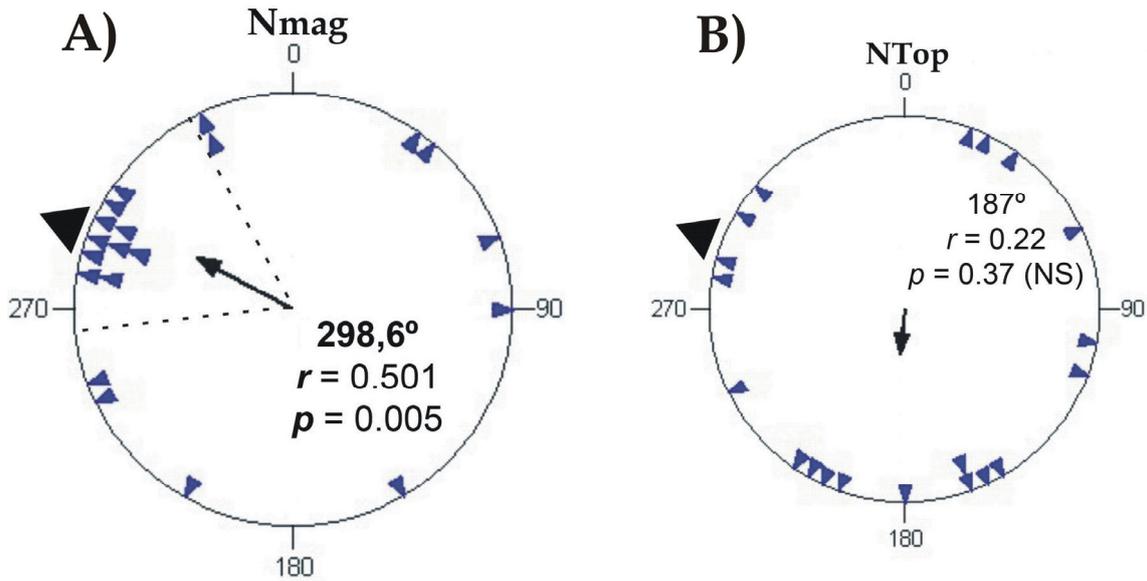


Figura 3.2 Distribuciones de rumbos de orientación de regreso al hogar de tritones jaspeados ensayados bajo distintos alineamientos magnéticos y cielo nocturno sin luna visible (noche del 26 al 27 de mayo de 2006; tritones procedentes de la población nº 5)

A: Distribución de rumbos magnéticos (rumbos agrupados respecto a la dirección Norte magnético -*Nmag*-). **B:** Distribución de rumbos topográficos (medidos respecto a la dirección Norte geográfica o "topográfica" -*Ntop*-). Se mantiene la simbología explicada con anterioridad.

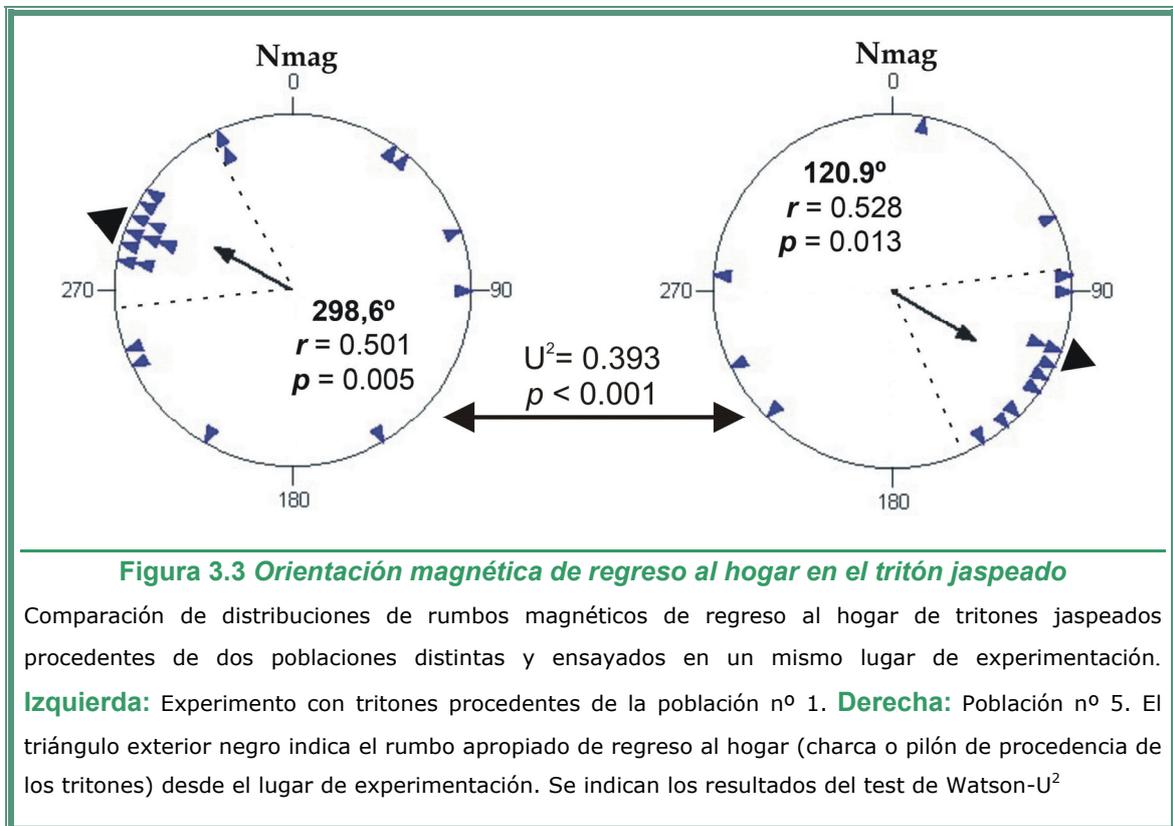


Figura 3.3 Orientación magnética de regreso al hogar en el tritón jaspeado

Comparación de distribuciones de rumbos magnéticos de regreso al hogar de tritones jaspeados procedentes de dos poblaciones distintas y ensayados en un mismo lugar de experimentación.

Izquierda: Experimento con tritones procedentes de la población nº 1. **Derecha:** Población nº 5. El triángulo exterior negro indica el rumbo apropiado de regreso al hogar (charca o pilón de procedencia de los tritones) desde el lugar de experimentación. Se indican los resultados del test de Watson-U²



Con el objetivo de investigar posibles diferencias en la habilidad de orientación debidas al sexo del individuo se realizaron también análisis estadísticos por separado para los tritones machos y hembras ensayados en cada experimento, observándose una mayor capacidad de orientación de regreso al hogar en machos que en hembras. Así, la distribución de rumbos magnéticos correspondiente a los tritones machos procedentes de la población n° 1 (experimento de 16-17 de marzo de 2006) resulta por sí misma estadísticamente significativa a pesar del bajo tamaño muestral ($n = 6$), con los tritones orientándose en torno a un rumbo medio de 102.055° ($r = 0.894$, test de Rayleigh $p = 0.003$), coherente con la dirección de regreso al hogar esperada (110° , incluida en los intervalos del 95% para la media: 76.25° - 130.86°). Sin embargo, la distribución de rumbos magnéticos de las hembras ensayadas resulta más dispersa y no llega a resultar significativa de acuerdo al test de Rayleigh ($n = 9$, vector medio: 152.424° , $r = 0.369$, $p = 0.301$). De forma análoga, en el experimento realizado con tritones procedentes de la población n° 5 (26-27 marzo de 2006), encontramos similares diferencias entre sexos, con la distribución de rumbos magnéticos de machos con orientación significativa correspondiente al rumbo de regreso al hogar de 292° ($n = 9$, vector medio: 309.434° , intervalos de confianza del 95% para la media: 277.124° - 329.743° ; $r = 0.841$, $p = 4.21 \times 10^{-4}$), mientras que las hembras siguen una distribución uniforme ($n = 11$, vector medio: 284.175° ; $r = 0.232$, $p = 0.565$). De manera adicional, de cara a la comparación de la conducta de orientación según el sexo, se analizaron las direcciones de arribamiento seguidas por los individuos como desviaciones respecto al rumbo de regreso al hogar esperado, pudiéndose elaborar de esta forma distribuciones combinadas de machos y hembras procedentes de las dos poblaciones de tritones jaspeados estudiadas (figura 3.4), en las que se observan más claramente las diferencias según el sexo en la habilidad de regreso al hogar. Así, los machos de tritón jaspeado siguen rumbos de orientación magnética mucho más concentrados en torno a la dirección de regreso al medio acuático ($n = 15$; $r = 0.85$, parámetro de concentración de la distribución ' k ' = 2.96; varianza circular = 0.15), mientras que el conjunto de las hembras presenta una distribución de rumbos magnéticos aleatoria de acuerdo al test de Rayleigh, con menores longitudes de vector medio ($r = 0.266$ para un tamaño muestral de 20), y datos más dispersos ($k = 0.553$; varianza de 0.734; ver figura 3.4).

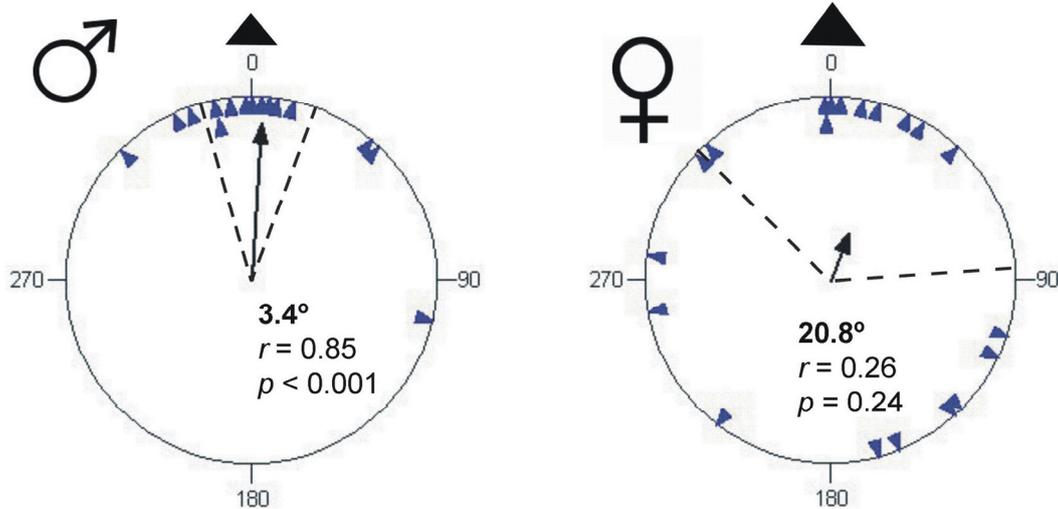


Figura 3.4 Orientación magnética nocturna de regreso al hogar en tritones machos y hembras

Se representan los rumbos magnéticos de los tritones como desviaciones respecto a la dirección de regreso al hogar (situada en posición 0° e indicada con un triángulo negro exterior a los diagramas circulares). **Izquierda:** Agrupación de rumbos magnéticos de tritones machos procedentes de la población nº 1 y la población nº 5 (experimentos de 16-17 y 26-27 de marzo de 2006). **Derecha:** Distribución agrupada de rumbos magnéticos de tritones hembras. Se muestran los resultados del test de Rayleigh (únicamente significativo para la distribución correspondiente a los machos), así como el vector medio e intervalos de confianza del 95%.

- Influencia de la luz sobre la orientación magnética

Los rumbos magnéticos de los tritones ensayados bajo condiciones de oscuridad total (experimento realizado la noche del 30 al 31 de mayo de 2007 con tritones procedentes de la población nº 5) se distribuyen al azar, a diferencia de los ensayados con visión del cielo nocturno. Así, encontramos resultados no significativos al aplicar el test de Rayleigh ($n = 19$, vector medio: 280.03° , $r = 0.202$, $p = 0.466$) o el test de la V frente a la dirección de regreso al hogar esperada (291° , $p = 0.113$). Tampoco se pudo detectar ningún tipo de orientación no magnética, puesto que la distribución de rumbos topográficos resulta también aleatoria (321.463° , $r = 0.104$, test de Rayleigh $p = 0.819$; V -test $p = 0.29$; figura 3.5).

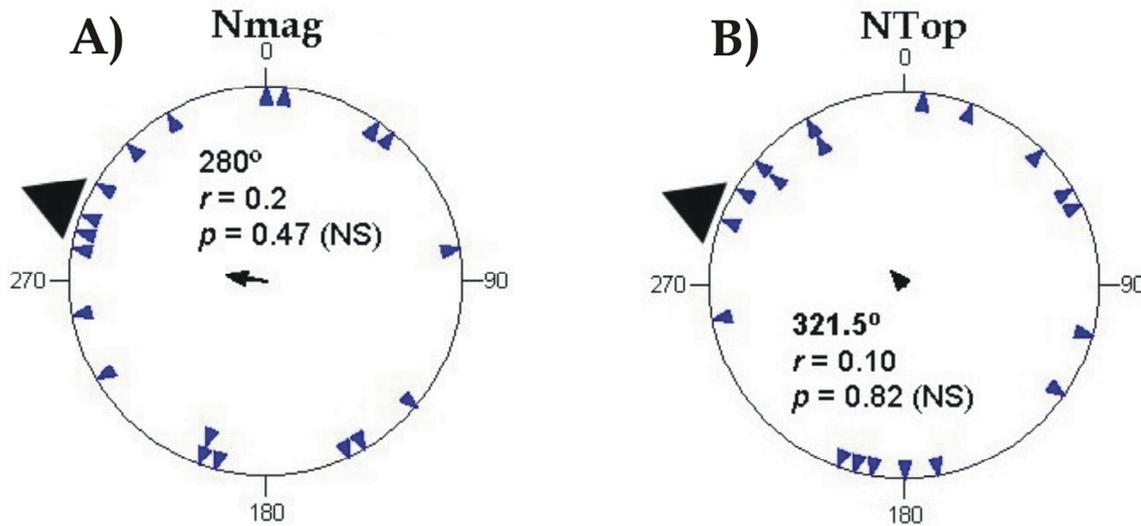


Figura 3.5 Distribuciones de rumbos de orientación de regreso al hogar de tritones jaspeados ensayados bajo distintos alineamientos magnéticos y condiciones de oscuridad total (noche del 30 al 31 de mayo de 2007; tritones procedentes de la población nº 5)

A: Distribución de rumbos magnéticos. **B:** Distribución de rumbos topográficos. Se mantiene la simbología explicada con anterioridad para otros diagramas circulares.

Los tritones jaspeados ensayados durante las horas diurnas (experimento realizado el 10 de mayo de 2007 con tritones procedentes de la población nº 5) tras haber pasado la noche en el lugar de experimentación mostraron un comportamiento de orientación dependiente de la condición de iluminación bajo la que fue estudiada su respuesta. De esta forma, los tritones ensayados bajo luz de onda corta ($\lambda \leq 450$ nm) siguieron una orientación magnética de regreso al hogar similar a la encontrada en los experimentos realizados de noche bajo iluminación natural del cielo nocturno (ver figura 3.6A-C), tal como demuestran los resultados del test de Watson- U^2 al aplicarlo a las distribuciones de rumbos magnéticos correspondientes a ambas condiciones ($U^2 = 0.057$, $p > 0.5$). Así, la distribución de rumbos magnéticos de los tritones ensayados bajo luz de onda corta resulta significativa de acuerdo al test de Rayleigh ($n = 15$, $r = 0.498$, $p = 0.021$), con un vector medio de orientación de 298.01° (con los intervalos de confianza del 95% incluyendo la dirección de regreso al hogar: 257.495 - 338.524°). Igualmente, el test de la V frente a la dirección esperada (291°) también da resultados significativos ($p = 0.003$). Sin embargo, los tritones ensayados bajo luz de onda larga ($\lambda \geq 500$ nm) mostraron una distribución aleatoria de sus rumbos magnéticos ($n = 15$, 311.216° , $r = 0.122$, test de Rayleigh $p = 0.804$, test de la V $p = 0.267$; figura 3.6B); esto sugiere una



incapacidad para el uso correcto del compás magnético bajo luz de onda larga, de forma similar a lo que sucede en condiciones de oscuridad total ($U^2 = 0.022$, $p > 0.5$; test de Watson- U^2 entre las distribuciones magnéticas obtenidas bajo onda larga y oscuridad total).

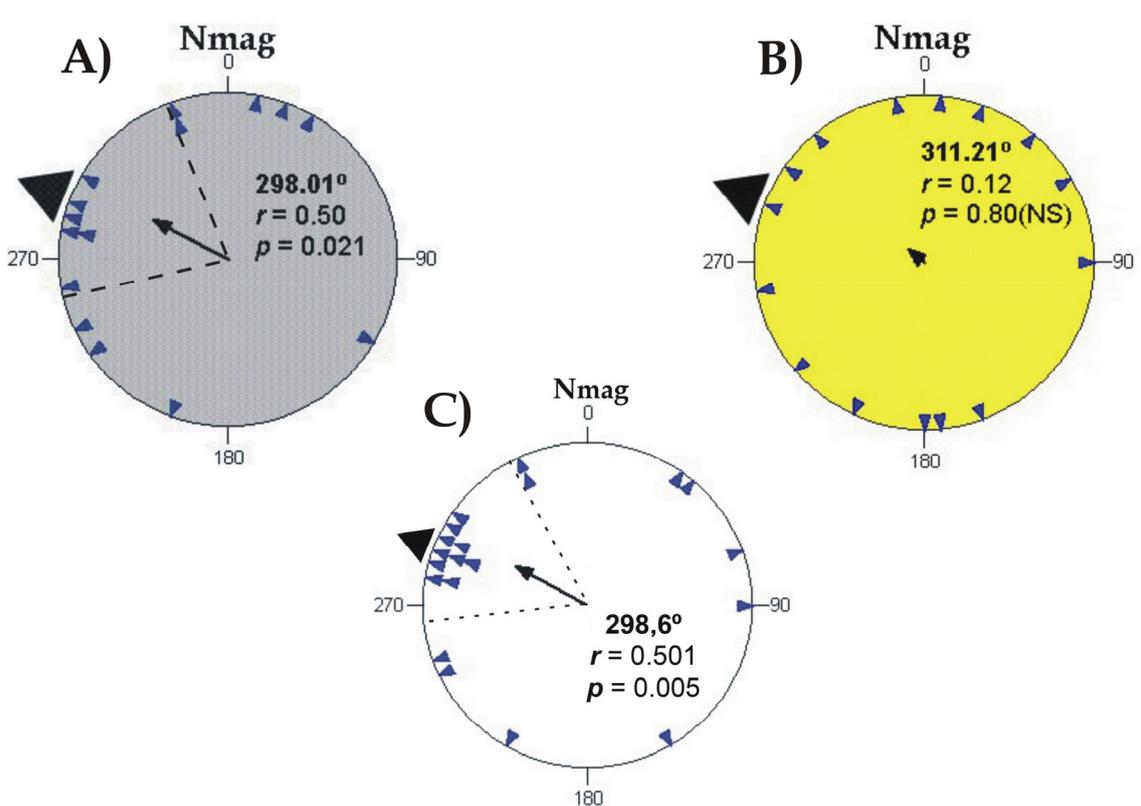


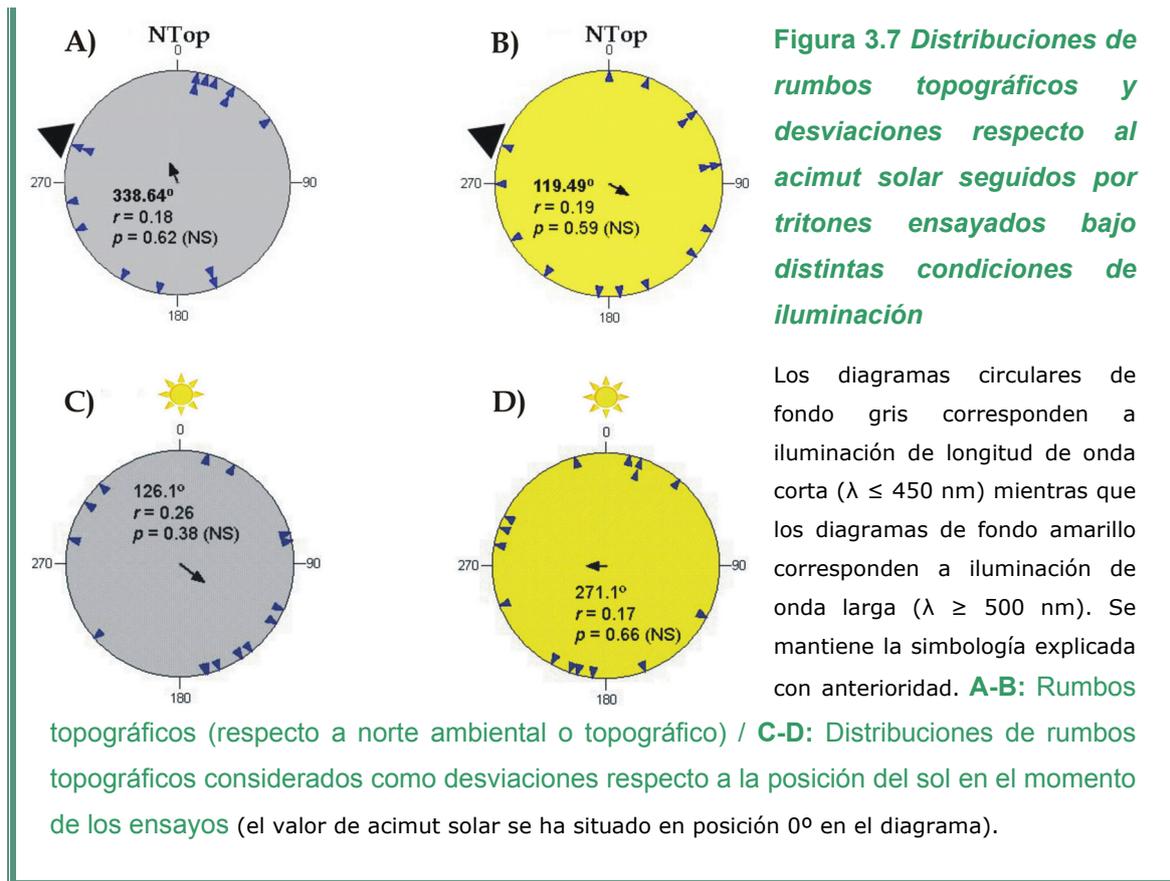
Figura 3.6 Distribuciones de rumbos magnéticos de orientación de regreso al hogar de tritones jaspeados ensayados bajo distintas condiciones de iluminación

En los diagramas circulares se representan los rumbos agrupados respecto a la dirección Norte magnética (Nmag) y se mantiene la simbología explicada con anterioridad. **A:** Distribución de rumbos magnéticos obtenidos bajo iluminación de onda corta ($\lambda \leq 450$ nm) (10 de mayo de 2007) **B:** Distribución de rumbos magnéticos obtenidos bajo iluminación de onda larga ($\lambda \geq 500$ nm) (10 de mayo de 2007) **C:** Distribución de rumbos magnéticos bajo iluminación natural nocturna (27 de mayo de 2006).

Por otra parte, las distribuciones de rumbos topográficos para los tritones ensayados bajo una y otra condición de iluminación (luz de onda corta y luz de onda larga) son aleatorias ($\lambda \leq 450$ nm: 338.639° , $r = 0.182$, $n = 15$, test de Rayleigh $p = 0.617$; test de la V $p = 0.254$; figura 3.7A; $\lambda \geq 500$ nm: 119.493° , $r = 0.19$, $n = 15$, test de Rayleigh $p = 0.59$; test de la V $p = 0.846$; figura 3.7B). Los análisis de estos rumbos



topográficos como desviaciones de los valores del acimut solar en el momento de los ensayos de orientación resultan igualmente no significativos, con distribuciones uniformes tanto para los tritones ensayados bajo luz de onda corta (126.248° , $r = 0.258$, $n = 15$, test de Rayleigh $p = 0.376$; figura 3.7C) como para los ensayados bajo iluminación de onda larga (271.094° , $r = 0.168$, $n = 15$, test de Rayleigh $p = 0.662$; figura 3.7D).



2. Análisis preliminar de la capacidad de navegación del tritón jaspeado

2.1 Metodología

Ante los resultados obtenidos en el estudio de la orientación de regreso al hogar del tritón jaspeado, que evidenciaron la existencia de un mecanismo de verdadera navegación, se optó por desarrollar una serie de experimentos de campo destinados a alcanzar un mayor conocimiento del sentido de mapa de navegación de esta especie.



Debido a la metodología empleada en experimentos anteriores, y a las características teóricas necesarias para un mapa de navegación (ver sección I-3.3), se consideró la posibilidad de que dicho sentido de mapa estuviera basado en el reconocimiento de gradientes geomagnéticos. Como se ha comentado previamente, el uso del campo magnético terrestre para determinar con precisión posiciones geográficas presenta dificultades derivadas de la continua variación de los parámetros magnéticos en el tiempo. Por lo tanto, los animales que utilicen un mapa magnético para los procesos de orientación de regreso al hogar en distancias cortas deben recurrir a estrategias que minimicen el impacto de esa variación temporal, en particular durante las horas diurnas, de máxima variación en los parámetros magnéticos debido a la influencia solar (PHILLIPS *et al.*, 2005b). Ante la imposibilidad, debido a impedimentos logísticos, de alterar experimentalmente de forma suficientemente controlada parámetros geomagnéticos como la inclinación o intensidad de campo, en la presente investigación se optó por realizar un estudio del sentido de navegación a un nivel básico, analizando la eficacia de la toma de medidas de mapa por parte de los tritones en relación con las oscilaciones naturales diarias del campo magnético terrestre. Para ello, se estudiaron las respuestas de orientación seguidas por diferentes grupos de tritones a lo largo de las horas centrales del día, tras haber pasado la noche en distintos lugares.

Durante la primavera del año 2007 se realizaron tres experimentos de campo, llevados a cabo al aire libre y bajo las condiciones ambientales reinantes en cada momento, en dos lugares de experimentación, situados a 2.7 y 6.16 kilómetros de distancia del lugar de captura de los tritones y con rumbos de regreso de 273° y 69° respectivamente (ver figura 3.8). Los distintos grupos de tritones utilizados en los experimentos procedieron siempre de una misma población, correspondiente a la fuente número 5 (ver sección II-2.5), y el transporte de los animales desde el lugar de captura y entre los distintos lugares de experimentación se realizó siempre en condiciones de oscuridad total y ausencia de estímulos direccionales. Asimismo, en todos los experimentos se utilizó un mismo rumbo inicial de alejamiento desde el lugar de captura. En la tabla 3.2 (página 134) se resumen algunos datos metodológicos correspondientes a estos experimentos de análisis de la capacidad de navegación de *T. marmoratus*.

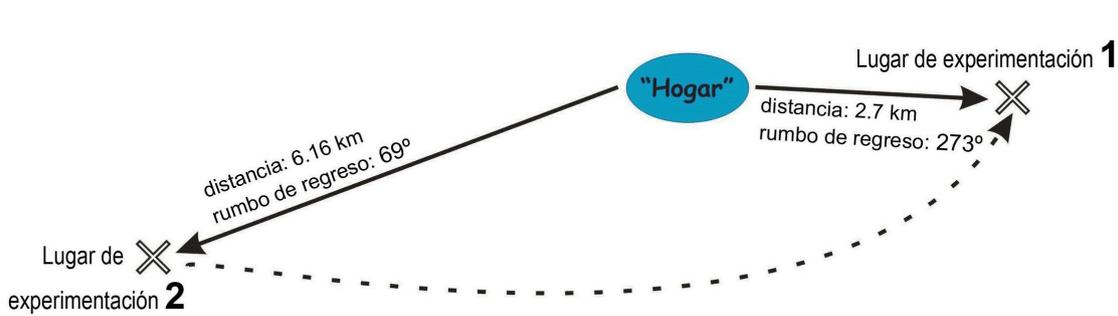


Figura 3.8 Diagrama esquemático de la situación de los lugares de experimentación utilizados en el estudio del sentido de mapa de navegación del tritón jaspeado

Se representa la orientación y distancia de los lugares nº 1 y nº 2 respecto al medio acuático ocupado por los tritones ("hogar"). En dos experimentos iniciales (8 y 18 de abril de 2007), realizados en sendos lugares de experimentación, se comparó la respuesta de orientación seguida por tritones capturados el mismo día de los ensayos y tritones que habían pasado la noche anterior en el lugar de experimentación. Por otra parte, en un tercer experimento (30 de abril), se ensayó de nuevo la conducta de orientación de los tritones en el lugar nº 1, comparando en este caso tritones que habían pasado la noche en ese mismo lugar y tritones que habían pasado la noche en el lugar nº 2 (siendo trasladados al lugar nº 1 hora y media antes del inicio de los ensayos, representado en el esquema por la línea punteada).

En dos experimentos se determinó la orientación de tritones jaspeados trasladados a dos lugares de experimentación (lugares de experimentación 1 y 2, véase la figura 3.8 y tabla 3.2), comparando en cada experimento las respuestas de dos grupos de animales: un grupo de tritones que habían pasado la noche en el mismo lugar de experimentación y otro grupo capturado y transportado al lugar de experimentación en la misma mañana en la que tuvo lugar el ensayo. Así, durante la tarde del 7 de abril fue capturado un primer grupo de tritones en el medio acuático, los cuales fueron trasladados al lugar de experimentación número 1 (encinar situado en $40^{\circ} 36' 37''$ N $5^{\circ} 59' 23''$ O, 1015 m de altitud), donde pasaron la noche del 7 al 8 de abril, mientras que a la mañana siguiente fue capturado un segundo grupo de tritones e igualmente trasladado al lugar de experimentación número 1, donde permanecieron durante hora y media antes del comienzo de los ensayos de orientación. De forma similar, el día 18 de abril se realizó un experimento idéntico en el lugar de experimentación número 2 (melojar situado en $40^{\circ} 35' 30''$ N $6^{\circ} 5' 23''$ O; 1100 m de altitud), donde fue ensayada la conducta de orientación de un grupo de tritones capturado el día anterior y que habían pasado la



noche en el lugar de experimentación y de otro grupo capturado esa misma mañana y que llegó al lugar de experimentación hora y media antes del inicio del experimento. En ambos experimentos, tanto los tritones pertenecientes al grupo que había pasado la noche en el lugar de experimentación como los capturados el mismo día de los ensayos tuvieron en todo momento acceso libre a los estímulos ambientales presentes en el lugar de experimentación, incluyendo visión del cielo (señales celestes nocturnas y/o diurnas) y acceso a las señales propias del campo magnético ambiental. Los ensayos de la conducta de orientación de los tritones se llevaron a cabo en las horas centrales del día bajo las condiciones reinantes, campo magnético ambiental y visión del cielo. Los ensayos siguieron una variación del protocolo estándar, de forma que cada tritón se introducía en la arena experimental a los 10 minutos de haber realizado el ensayo de orientación correspondiente al anterior ejemplar y se ensayó alternativamente un individuo de cada grupo experimental (es decir, alternando tritones que habían pasado la noche en el lugar y tritones capturados el mismo día de los ensayos). De forma similar a anteriores experimentos, antes de ser liberado en el centro de la arena, cada tritón permanecía durante 5 minutos en un tanque de aislamiento individual (alineado a lo largo del eje N-S, con 1 cm de agua y vista libre del cielo), para después pasar un minuto dentro del cilindro de liberación en el interior de la arena. La arena circular, convenientemente nivelada, se colocó a una distancia de entre 2 y 4 metros de los tanques conteniendo los tritones sin ensayar. La arena experimental y los tanques conteniendo los tritones permanecieron a la sombra durante el desarrollo de los experimentos, gracias al empleo de sombras naturales creadas por la vegetación del entorno y a la creación de sombras artificiales mediante cortinas (que no impidieron en ningún caso la visión del cielo y que no eran visibles por los tritones desde la arena circular). Los experimentos se realizaron bajo condiciones variables de nubosidad (cielo parcialmente nublado en el experimento del 8 de abril –lugar nº 1- y cielo despejado en el experimento del 18 de abril –lugar nº 2) y viento moderado de dirección Este-Sureste. La temperatura ambiental durante los ensayos varió entre 9 °C y 11 °C (ensayos del 8 de abril) y entre 15 °C y 20 °C (18 de abril).

Para complementar el análisis del mecanismo de verdadera navegación empleado por los tritones jaspeados se realizó un tercer experimento, utilizando en este caso dos grupos de tritones capturados el día anterior de los ensayos y que pasaron la noche en dos lugares diferentes. Así, durante la tarde del 29 de abril de 2007 se capturaron un total



de 29 tritones, los cuales fueron divididos en dos grupos. Un primer grupo de tritones ($n = 14$) fue transportado directamente al lugar de experimentación número 1 (rumbo de regreso a la fuente de procedencia de los tritones: 273°), donde se realizarían los ensayos de orientación al día siguiente y donde este grupo pasó la noche. Mientras, un segundo grupo de tritones fue transportado al lugar número 2 (rumbo de regreso de 69°), donde igualmente pasaron la noche. A la mañana siguiente (día 30 de abril), este segundo grupo de tritones fue recogido del lugar número 2 y llevado al lugar número 1 (figura 3.8), donde permanecieron durante hora y media antes del inicio de los ensayos de orientación. El protocolo de transporte fue idéntico al utilizado en los experimentos anteriores e, igualmente, los tritones tuvieron acceso libre al campo magnético ambiental y señales celestes en el lugar de experimentación y durante su permanencia en los lugares de paso de noche. El protocolo de toma de datos fue similar al descrito con anterioridad, ensayándose de forma alternativa tritones que habían pasado la noche en el mismo lugar de experimentación (número 1) y tritones que pasaron la noche en el lugar número 2. El experimento se llevó a cabo condiciones de bajo cielo parcialmente nublado, brisa suave de dirección Oeste y temperatura ambiental entre 15°C y 17°C .



| Fecha ensayos | | <i>n</i> | Hora captura | Paso noche | Lugar ensayos | Km al hogar | Rumbo regreso | Hora ensayos |
|---------------|--------------------------------|----------|---------------------------------|----------------|---------------|-------------|---------------|--------------|
| 8-4-2007 | Grupo capturado día anterior | 14 | 14:45 - 16:00* | lugar 1 | lugar 1 | 2.7 | 273° | 9:40 -14:10 |
| | Grupo capturado día de ensayos | 13 | 6:30 -7:50 | <i>hogar</i> | “ | | “ | |
| 18-4-2007 | Grupo capturado día anterior | 14 | 15:00 - 16:50* | lugar 2 | lugar 2 | 6.16 | 69° | 9:30 -14:20 |
| | Grupo capturado día de ensayos | 15 | 5:45 - 7:20 | <i>hogar</i> | “ | | “ | |
| 30-4-2007 | Grupo A | 14 | 14:15 -15:30* | lugar 1 | lugar 1 | 2.7 | 273° | 8:50 - 1:30 |
| | Grupo B | 15 | (captura conjunta día anterior) | <u>lugar 2</u> | “ | | | |

Tabla 3.2 Resumen de datos metodológicos correspondientes al estudio del sentido de mapa de navegación de *T. marmoratus*

Se incluyen las fechas de realización de los ensayos de orientación y otros aspectos, como el lugar en el que cada grupo experimental pasó la noche previa a los ensayos (“hogar” indica que los tritones no fueron capturados hasta el mismo día de ensayos y la numeración de los lugares de experimentación sigue los códigos empleados en la figura 3.8). La distancia y el rumbo de regreso al hogar mostrados corresponden al lugar de experimentación donde se realizaron los ensayos de orientación. Las horas son GMT y las horas de captura marcadas con asterisco (*) corresponden al día anterior a la fecha de ensayos.

2.2 Resultados

Los tritones jaspeados desplazados a los lugares de experimentación nº 1 y nº 2 y mantenidos en esos lugares durante toda una noche (15-16 horas antes del comienzo de los ensayos de orientación a la mañana siguiente) se orientaron siguiendo una distribución de rumbos coherente con la dirección de regreso al hogar esperada. Así, los tritones mantenidos durante la noche bajo el campo magnético ambiental en el lugar de experimentación nº 1 se orientaron siguiendo un rumbo medio de 255.76° ($n = 14$, $r = 0.667$, test de Rayleigh $p = 0.001$), cuyos intervalos de confianza del 95% (227.924°-283.601°) incluyen la dirección de regreso al hogar desde el lugar de experimentación (273°). Asimismo, los resultados del test de la V ($p = 2.04 \times 10^{-4}$) también confirman la respuesta de orientación de regreso al hogar (figura 3.9 1.B). De forma análoga, los tritones que pasaron la noche en el lugar nº 2 se orientaron al día siguiente a lo largo de



un rumbo medio de 77.056° ($n = 14$, $r = 0.562$, test de Rayleigh $p = 0.01$), coincidente con el rumbo de regreso al hogar desde ese lugar de ensayos (69° , intervalos de confianza para la media: 41.353° - 112.759° ; test de la V $p = 0.001$; figura 3.9 2.B). Ambas distribuciones de rumbos (tritones ensayados en el lugar n° 1 y tritones ensayados en el lugar n° 2 tras haber pasado la noche en dichos lugares) son significativamente diferentes de acuerdo al test de Watson- U^2 ($U^2 = 0.44$, $p < 0.001$). Al igual que lo encontrado en otros experimentos, los machos de tritón jaspeado presentan distribuciones de rumbos más concentradas que las seguidas por las hembras, tanto en los ensayos llevados a cabo en el lugar de experimentación n° 1 (machos: 250.812° , $r = 0.842$, $n = 5$, $p = 0.019$; hembras: 259.8° , $r = 0.573$, $n = 9$, $p = 0.047$), como en el lugar de experimentación n° 2 (machos: 69.887° , $r = 0.855$, $n = 7$, $p = 0.002$; hembras: 98.251° , $r = 0.295$, $n = 7$, $p = 0.56$).

Al contrario que los tritones que pasaron la noche previa a los ensayos en el lugar de experimentación, los animales capturados el mismo día de los ensayos no consiguieron orientarse de forma coherente con la dirección de regreso al hogar. Así, por un lado, los tritones capturados el día de experimentación y ensayados en el lugar n° 1 (ver figura 3.9 1.A) fallaron al establecer la dirección de regreso al hogar apropiada, ya que siguieron un rumbo medio de orientación de 182.034° ($r = 0.532$, $n = 13$, test de Rayleigh $p = 0.022$), diferente al vector medio seguido por los tritones que pasaron la noche en ese mismo lugar (figura 3.9 1.B) y no coincidente con la dirección en la que se encontraba el medio acuático de procedencia (273°). Esta dirección de regreso al hogar no queda incluida en los intervalos de confianza del 95% para la media (141.993 - 222.076°) ni encontramos resultados significativos al aplicar el test de la V frente a la dirección de regreso ($p = 0.518$). Por otro lado, los tritones ensayados en el lugar n° 2 y capturados el mismo día de los ensayos tampoco mostraron una conducta de regreso al hogar correcta y en este caso los rumbos seguidos fueron completamente aleatorios (figura 3.9. 2.A) de acuerdo a los resultados no significativos del test de Rayleigh (140.247° , $r = 0.398$, $n = 15$, $p = 0.092$). Asimismo, el test de la V frente a la dirección de regreso al hogar esperada (69°) es igualmente no significativo ($p = 0.244$).

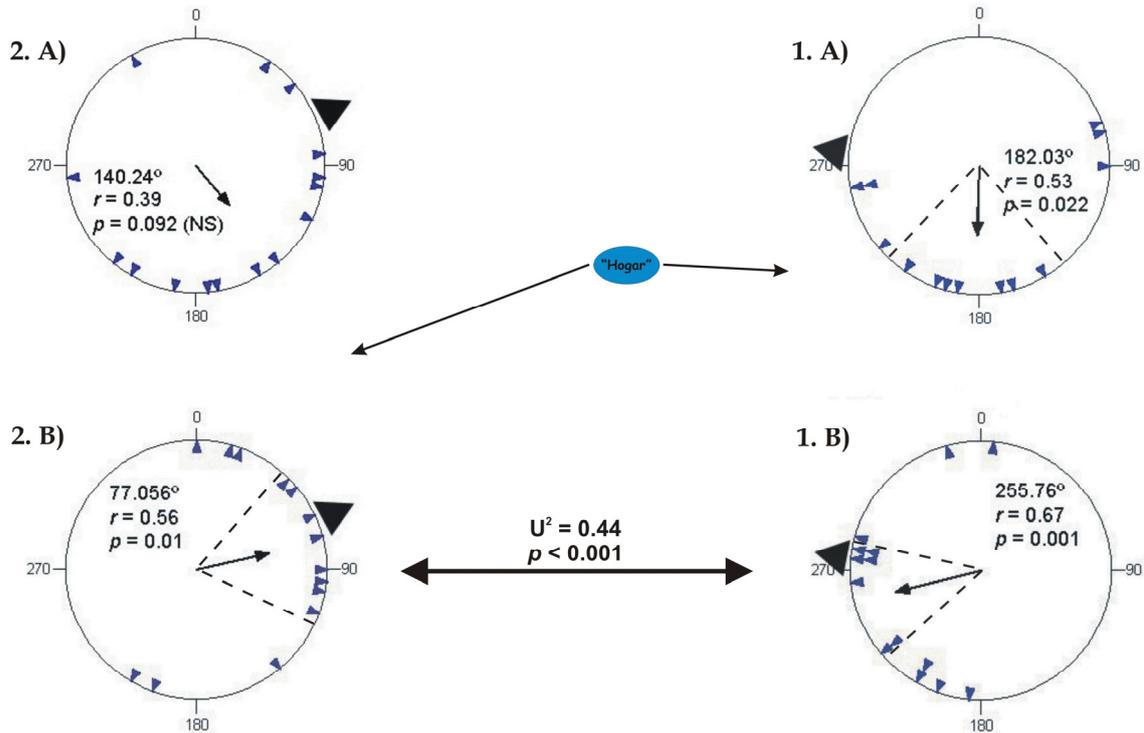


Figura 3.9 Respuestas de orientación de tritones jaspeados ensayados durante el día bajo campo magnético ambiental en dos lugares de experimentación

Se muestran las distribuciones de rumbos topográficos correspondientes a cada grupo experimental, utilizando la simbología descrita con anterioridad. En la columna de la derecha (1.A-1.B) se muestran las distribuciones correspondientes a los animales ensayados en el lugar de experimentación número 1, mientras que los diagramas de la izquierda (2.A-2.B) corresponden a los ensayos realizados en el lugar número 2 (ver figura 3.8). Por otra parte, para cada lugar de experimentación, los diagramas superiores (grupos "A") corresponden a los tritones capturados el mismo día de los ensayos, mientras que los diagramas en posición inferior (grupos "B") corresponden a los tritones capturados el día anterior y que pasaron la noche en el mismo lugar en el que fueron ensayados.

Los tritones jaspeados ensayados durante el día bajo campo magnético ambiental siguieron rumbos de orientación coincidentes con la dirección de regreso al hogar correspondiente al lugar donde pasaron la noche, tal como confirman los resultados obtenidos en los ensayos realizados el día 30 de abril de 2007 en el lugar de experimentación número 1 (figura 3.10). Así, los tritones que pasaron la noche (16 horas antes del comienzo de los ensayos) en el mismo lugar donde se realizaron los ensayos de orientación se orientaron de forma mayoritaria hacia la dirección de regreso al medio acuático (273°), al igual que había ocurrido en experimentos anteriores (ver figura 3.9 1.B), siguiendo en este caso un vector medio de 265.081° ($n = 14$, $r = 0.533$, test de Rayleigh $p = 0.016$). Los intervalos de confianza del 95% para la media incluyen la dirección de regreso esperada (226.736°-303.426°) y el test de la V también confirma la



respuesta de regreso al hogar desde el lugar de experimentación ($p = 0.002$) para este grupo de tritones (figura 3.10A). Sin embargo, aquellos tritones que pasaron la noche previa a los ensayos en el lugar número 2, siendo desplazados a la mañana siguiente al lugar número 1 y ensayados allí, no se orientaron siguiendo el rumbo de regreso al hogar desde el lugar de experimentación, sino que se orientaron siguiendo una distribución de rumbos similar a la que se esperaría si los ensayos de orientación se hubieran realizado en el lugar número 2 (figura 3.10B). Es decir, este grupo de tritones siguió una distribución de rumbos estadísticamente significativa, con un vector medio de 94.709° ($n = 15$, $r = 0.465$, test de Rayleigh $p = 0.036$) cuyos intervalos de confianza del 95% (50.459° - 138.958°) incluyen el rumbo de regreso al hogar desde el lugar n° 2, donde pasaron la noche (69°), pero no incluye el rumbo de orientación esperado desde el lugar n° 1 (273°). De igual manera, el test de la V aplicado a esta distribución de datos da resultados significativos al contrastar frente al rumbo de regreso correspondiente al lugar n° 2 ($p = 0.01$), pero resultados no significativos al contrastar frente al rumbo de regreso al hogar correspondiente al lugar de donde fueron ensayados ($p = 0.995$). Asimismo, el test de Watson- U^2 no encuentra diferencias significativas entre esta distribución de rumbos (tritones que pasaron la noche en el lugar n° 2 y ensayados en el lugar n° 1; figura 3.10B) y la distribución correspondiente a los tritones ensayados en el lugar n° 2 tras pasar allí la noche (figura 3.9 2.B; $U^2 = 0.045$, $p > 0.5$). Por último, el test de Watson- U^2 aplicado a la comparación de los dos grupos de tritones que fueron ensayados en el experimento del 30 de abril (tritones que pasaron la noche en el lugar n° 2 y tritones que pasaron la noche en el mismo lugar de experimentación) da resultados significativos ($U^2 = 0.28$, $p < 0.01$), indicando de nuevo que ambas distribuciones son diferentes (figura 3.10).

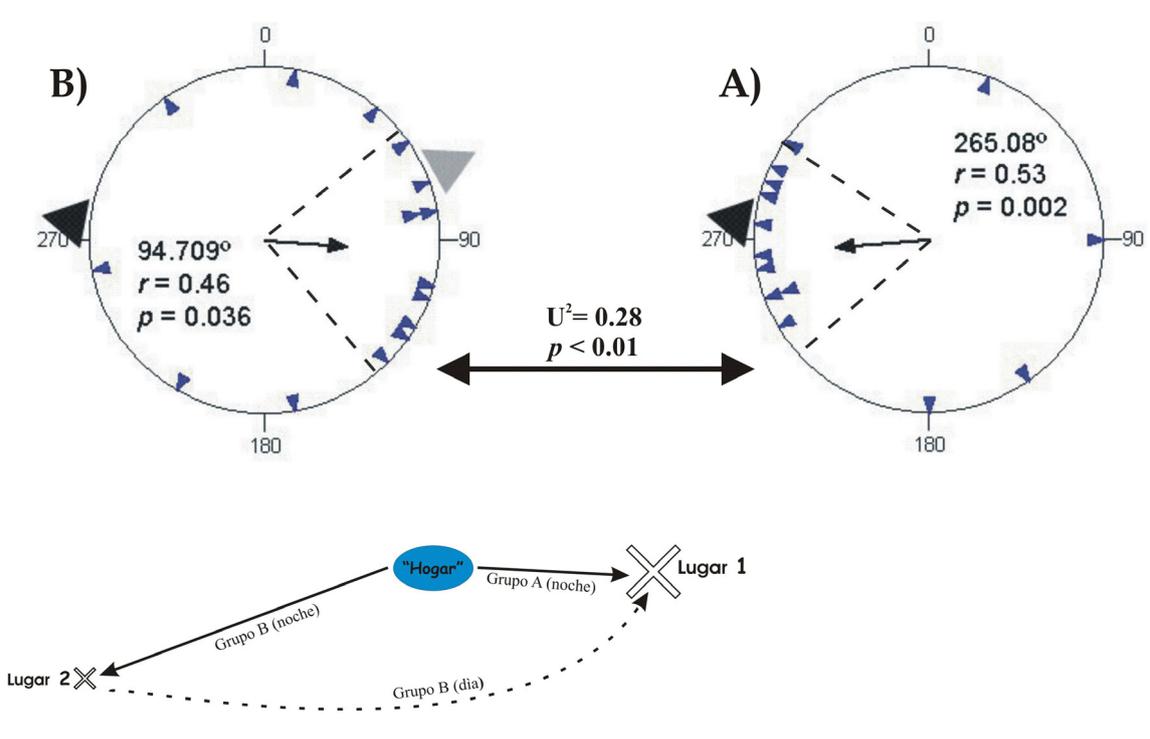


Figura 3.10 Variación de la respuesta de orientación de los tritones jaspeados en función del lugar de mantenimiento nocturno

Se muestran las distribuciones de rumbos topográficos obtenidas en el lugar de experimentación número 1 empleando dos grupos diferentes de tritones. El diagrama inferior representa de forma esquemática el protocolo de transporte empleado en el experimento. **A (derecha):** Tritones que pasaron la noche en el lugar de experimentación (nº 1; rumbo de regreso al hogar de 273°) y cuya conducta de orientación fue medida a la mañana siguiente. **B (izquierda):** Tritones que pasaron la noche previa a los ensayos en el lugar número 2 (rumbo de regreso al hogar de 69°), siendo transportados a la mañana siguiente al lugar nº 1. El triángulo negro exterior a los diagramas indica la dirección de regreso al hogar desde el lugar de experimentación (lugar nº 1), mientras que el triángulo de color gris indica el rumbo de regreso al hogar correspondiente al lugar nº 2.

3. Discusión acerca de la orientación de regreso al hogar del tritón jaspeado

De acuerdo a los resultados obtenidos, el tritón jaspeado (*Triturus marmoratus*) es capaz de orientarse de regreso a su medio acuático de reproducción utilizando para ello información direccional derivada del vector de campo magnético terrestre. Así, las distribuciones significativas de rumbos magnéticos orientados hacia la dirección de regreso al hogar, obtenidas en los experimentos de orientación nocturna bajo campo magnético alterado, demuestran que los tritones ensayados respondieron a los giros



experimentales realizados en la dirección del Norte magnético, efectuando los correspondientes cambios en sus rumbos de orientación. Este tipo de comportamiento es indicio inequívoco del uso de un compás magnético (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005), sentido que parece ser fundamental para la orientación de regreso al hogar en las poblaciones estudiadas, puesto que los experimentos realizados no detectaron ninguna orientación en base a señales topográficas. Si bien FONTANET (1991) ya sugirió que los tritones jaspeados podrían usar en sus conductas de orientación señales procedentes del campo geomagnético, esta es la primera ocasión en que dicha capacidad se demuestra en esta especie.

Los experimentos de orientación nocturna realizados empleando tritones jaspeados procedentes de dos poblaciones distintas, confirman asimismo la alta fidelidad mostrada por *Triturus marmoratus* hacia el medio acuático concreto utilizado para su reproducción (ya puesta de manifiesto en otros trabajos anteriores: DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2002; MARTY *et al.*, 2005). Así, en cada caso los tritones se orientaron de forma específica de vuelta a su charca (población n° 1) o a su fuente de origen (población n° 5). Ésta es la primera vez que se documenta en esta especie una respuesta de orientación de regreso al hogar orientada hacia un medio acuático artificial como es una fuente o abrevadero, lo que pone de relevancia la importancia de construcciones tradicionales de este tipo, que en algunas zonas constituyen el único punto de agua permanente disponible, de cara a la conservación de las poblaciones de tritones y otros anfibios (BARBADILLO *et al.*, 1999).

Los resultados aquí obtenidos sugieren una cierta diferencia en la habilidad de orientación de regreso al hogar en función del sexo de los tritones ensayados, mostrando los machos, como norma general en todos los experimentos realizados, una orientación más precisa que las hembras. Así, los análisis por separado de los rumbos de orientación seguidos por machos y hembras en cada experimento permiten observar que las hembras de tritón jaspeado siguen en conjunto rumbos más dispersos en torno a la dirección de regreso al hogar, originando en la mayoría de los casos distribuciones aleatorias a pesar de contar con mayores tamaños muestrales que los machos; por el contrario, la orientación del conjunto de los machos para cada experimento es siempre significativa en torno a la dirección de regreso. Si bien diversos estudios fenológicos han constatado diferencias en las fechas de migración de machos y hembras de tritón jaspeado (los



machos suelen llegar a los puntos de reproducción más temprano en la temporada y también los abandonan antes, GARCÍA-PARÍS *et al.*, 2004, tal como se ha observado en el área de estudio), investigaciones previas con vallado de charcas de cría no detectaron diferencias en las direcciones de migración en función del sexo de los individuos (MARTY *et al.*, 2005). Una posibilidad es que las diferencias aquí encontradas entre machos y hembras podrían no deberse realmente a una verdadera diferencia en la capacidad de orientación sino a una distinta motivación locomotora de los individuos en el momento de los ensayos de orientación. De hecho, en el momento de los ensayos, realizados en fechas centrales o avanzadas de la temporada de reproducción primaveral (abril-mayo-junio), la mayoría de las hembras de tritón jaspeado estudiadas se encontraban grávidas, por lo que la mayor dispersión en los rumbos (y mayores tiempos de respuesta detectados) podría explicarse como una consecuencia de las limitaciones al movimiento propias del estado de gravidez.

Los ensayos de orientación llevados a cabo bajo diferentes condiciones de iluminación pusieron de manifiesto una fuerte dependencia de la luz en el funcionamiento del sentido de compás magnético de *T. marmoratus*. Los tritones jaspeados parecen incapaces de usar su compás magnético para determinar correctamente el rumbo de regreso al hogar en condiciones de oscuridad total, tal como demuestran las distribuciones aleatorias de rumbos magnéticos. Este efecto no parece ser debido a una ausencia de motivación para orientarse, puesto que tritones ensayados en fechas similares y en el mismo lugar de experimentación pero con acceso a luz sí fueron capaces de orientarse de regreso a su medio acuático. De igual manera, los tritones también fallan al orientarse si son expuestos a iluminación de longitudes de onda superiores a 500 nm, originando distribuciones de rumbos aleatorias, similares a las obtenidas en ausencia de luz. Sin embargo, al ser estudiados bajo iluminación monocromática de $\lambda \leq 450$ nm sí mostraron una clara orientación magnética de regreso al hogar, lo cual sugiere que la presencia de una cierta cantidad de luz en la franja azul del espectro visible (longitudes de onda cortas) es necesaria para un correcto funcionamiento del sentido de compás magnético. Estos resultados, en conjunto, apoyan la implicación de fotorreceptores en algún momento del proceso de orientación magnética y por lo tanto se pueden considerar una evidencia más a favor de los modelos de magnetorrecepción química, como el modelo de par de radicales (RITZ *et al.*, 2000). En el caso de los tritones, la necesidad de la presencia de luz para una orientación



magnética correcta ha sido puesta de manifiesto en otras dos especies (*Mesotriton alpestris* -DIEGO-RASILLA, 2003; DIEGO-RASILLA *et al.*, 2005- y *Notophthalmus viridescens* -PHILLIPS & BORLAND, 1992a-), mostrando esta última especie en su orientación de regreso al hogar respuestas a las longitudes de onda de la luz idénticas a las encontradas en *T. marmoratus*. (desorientación bajo longitudes de onda larga y orientación correcta bajo onda corta -PHILLIPS & BORLAND, 1994-). Por otra parte, la cantidad de luz necesaria para una orientación mediante compás magnético apropiada no parece ser muy alta, puesto que en los experimentos de orientación nocturna realizados los tritones fueron capaces de orientarse hacia su charca a pesar de no contar con ningún tipo de iluminación artificial (únicamente la luz procedente del cielo estrellado y, en su caso, la luna). El sentido de compás magnético, por lo tanto, puede ser utilizado por los tritones jaspeados en sus conductas de orientación aún con bajas intensidades luminosas, lo cual tiene sentido si tenemos en cuenta que esta especie es de actividad mayoritariamente nocturna.

La orientación de regreso al hogar de los tritones jaspeados estudiados se mantiene de forma efectiva incluso tras desplazamientos a larga distancia, una vez transportados los tritones fuera de su territorio conocido y mucho más allá de su rango normal de movimiento (con transporte hasta 9.6 kilómetros de distancia del medio acuático en algunos casos). El modo de transporte llevado a cabo en los experimentos impidió además el acceso a cualquier información direccional durante el mismo, no existiendo tampoco en ningún momento contacto sensorial con el medio de origen de los tritones y encontrándose éstos, en el momento del inicio de los ensayos de orientación, en lugares desconocidos para ellos y sin conocimiento de la trayectoria seguida en su transporte. Así, el transporte en oscuridad y siguiendo un rumbo de alejamiento sinuoso dificultaría sobremanera, o impediría completamente, el empleo de cualquier posible sistema de integración de trayectorias, tal como la orientación mediante el procesado de las señales inerciales derivadas del propio movimiento de transporte. Igualmente, teniendo en cuenta la dependencia de la luz en el funcionamiento del compás magnético, el sistema de transporte en oscuridad impediría una orientación efectiva mediante la inversión del rumbo de alejamiento, puesto que éste no podría haber sido tomado por los tritones durante el desplazamiento. Por lo tanto, se puede asumir que los tritones jaspeados ensayados en todos los experimentos fueron capaces de orientarse correctamente de vuelta a su hogar únicamente recurriendo a información adquirida en el



propio lugar de experimentación. Esto sugiere la existencia de un mecanismo de verdadera navegación en la orientación de regreso al hogar de *T. marmoratus*. Es decir, los tritones no sólo estarían utilizando el sentido de brújula magnética para determinar el rumbo al medio acuático, sino que deberían servirse también de un sentido de mapa de navegación, configurado tras experiencia previa en sus áreas de campeo y extrapolable a lugares desconocidos, que les permitiría deducir su posición geográfica relativa con respecto a su hogar. Dicho mecanismo de verdadera navegación sólo ha sido descrito hasta la fecha en dos especies de urodelos (*Notophthalmus viridescens* -PHILLIPS *et al.*, 1995- y *Mesotriton alpestris* -DIEGO RASILLA *et al.*, 2005-).

Los resultados de los experimentos llevados a cabo bajo campo magnético ambiental sugieren que los tritones jaspeados toman la información de mapa (es decir, información acerca de su posición geográfica que utilizarán en la navegación de regreso al hogar) preferentemente durante las horas nocturnas. Los tritones expuestos al campo magnético ambiental nocturno en una localidad y desplazados a la mañana siguiente a otro lugar distinto se orientan siguiendo rumbos correspondientes a la dirección de regreso al hogar desde el lugar en el que pasaron la noche, y no desde el lugar de experimentación. De manera adicional, únicamente los tritones que tuvieron acceso a los estímulos ambientales presentes en el lugar de experimentación durante las horas nocturnas fueron capaces de lograr una orientación de regreso al hogar correcta, mientras que los tritones capturados el mismo día de los ensayos de orientación no consiguieron establecer la dirección de regreso a su medio de cría. Estos resultados son similares a los obtenidos en otra especie de urodelo (*M. alpestris*, DIEGO-RASILLA & PHILLIPS, 2004) y son asimismo coherentes con la hipótesis de la implicación de parámetros geomagnéticos en el sentido de mapa de navegación de urodelos y otros animales (FREAKE *et al.*, 2006), puesto que la toma de medidas de coordenadas magnéticas durante la noche ha sido propuesta como método para evitar posibles errores en la estimación de la posición causados por las fluctuaciones del campo geomagnético propias de las horas diurnas y debidas a la influencia solar (PHILLIPS *et al.*, 2005b). Así, los tritones jaspeados a los que no se les permitió la obtención de información nocturna tras su captura presentaron una mayor dispersión en los rumbos de orientación, con distribuciones aleatorias (caso de los tritones ensayados en el lugar nº 2 unas horas después de su captura), o bien tomaron rumbos medios orientados hacia una dirección localizada a 90° del rumbo de regreso al hogar correcto (ver figura 3.9 1.A). En este



último caso, la distribución estadísticamente significativa de los rumbos no coincidente con la dirección de regreso no es explicable por ningún tipo de sesgo topográfico existente en la arena o lugar de experimentación, sino que podría ser resultado de la propia variación natural en los parámetros magnéticos ocurrida durante el periodo de realización de los ensayos. Ya que los tritones capturados unas horas antes del comienzo de los ensayos no pueden recurrir a información nocturna, una determinada variación del parámetro o los parámetros supuestamente utilizados en el mapa de navegación a lo largo de las horas centrales del día respecto a los gradientes aprendidos podría originar cambios en la percepción de la dirección relativa en la que se encuentran los tritones respecto a su hogar (PHILLIPS *et al.*, 2005b). De esta forma, los tritones podrían haber malinterpretado su verdadera posición con un error de cerca de 90°, resultando así el correspondiente giro de los rumbos tomados respecto a la dirección prevista. Por otro lado, una mayor oscilación magnética durante el periodo de los ensayos podría haber imposibilitado la toma de medidas de mapa fiables o haber conducido a que cada tritón ensayado interpretara de forma distinta su posición geográfica, resultando así una distribución de rumbos aleatoria como la encontrada para los tritones capturados durante el día y ensayados en el lugar n° 2. En todo caso, si bien no se puede concluir la implicación de parámetros geomagnéticos en el sentido de mapa de *T. marmoratus* a partir de los resultados aquí obtenidos, el uso de un parámetro magnético concreto como es el ángulo de inclinación ha sido ya probado como coordenada de mapa de navegación en una especie de urodelo (*N. viridescens*, PHILLIPS *et al.*, 2002b), y otras posibles fuentes de información geográfica, como un mapa basado en olores o en la posición de las estrellas, resultan poco plausibles.

De acuerdo al conjunto de los resultados obtenidos el campo geomagnético parece ser el estímulo direccional principal usado en la orientación de regreso al hogar por el tritón jaspeado, habiéndose probado el uso del vector magnético como brújula y siendo asimismo el campo geomagnético el candidato más probable para constituir el mapa de navegación. En cambio, no se han encontrado indicios que sugieran el uso de señales topográficas u otro tipo de estímulos en la conducta de orientación. Así, por ejemplo, en los experimentos realizados no se ha detectado el empleo de ningún tipo de compás celeste, a pesar de que trabajos anteriores sugirieron la implicación de señales procedentes del cielo nocturno en la orientación de regreso al hogar de esta misma especie (DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2002). En nuestro caso, si bien no podemos



descartar completamente un hipotético papel del patrón de polarización de la luz nocturna, el uso de la posición de las estrellas por parte de animales como los tritones no parece probable y la presencia de luna no parece ser necesaria para una correcta orientación, puesto que los animales estudiados fueron capaces de orientarse correctamente en noches de luna nueva o luna no visible, y tampoco se ha podido constatar ninguna influencia de la posición de la luna sobre los rumbos seguidos por los tritones (a diferencia de lo encontrado, por ejemplo, en *T. alpestris*, DIEGO-RASILLA *et al.*, 2005). Por otra parte, aunque el protocolo seguido en los experimentos aquí presentados imposibilitó a los tritones acceder a estímulos procedentes de su medio acuático, otras investigaciones han demostrado una capacidad de fonotaxis hacia cantos de especies simpátridas de anuros, que podría ser útil en la orientación de regreso a los medios acuáticos (DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2004). Asimismo, la importancia de señales químicas procedentes del medio acuático ha sido puesta de manifiesto en la orientación de otros urodelos (ej. HERSEY & FORESTER, 1980; JOLY & MIAUD, 1993). Sin embargo, un mecanismo de orientación mediante pilotaje dirigido por olores o sonidos procedentes del hogar únicamente sería útil en las últimas etapas de las migraciones, cuando los tritones se encuentren en las proximidades inmediatas de su charca (DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2004, 2007; PHILLIPS *et al.*, 2005b).

Frente a otros estímulos, tales como señales químicas o sonidos, el campo geomagnético resulta una señal direccional útil en un mayor número de circunstancias, al presentar la ventaja de que puede posibilitar una orientación efectiva en territorios alejados del hogar, en las primeras etapas de los movimientos migratorios y en condiciones de visibilidad limitada (por ejemplo, durante la noche, o bajo cielo encapotado, lluvia o cielo muy cubierto, siendo este tipo de situaciones ambientales las preferidas por la mayoría de los anfibios para moverse). Por lo tanto, no es de extrañar que el campo magnético constituya el sistema básico de orientación en esta especie, si bien la utilidad o posibilidad de su uso pueden verse limitadas en determinadas condiciones. Por ejemplo, una verdadera navegación basada en un mapa de gradientes magnéticos, como es probable que exista en *T. marmoratus*, podría ser teóricamente usada para movimientos de corta distancia (<5-10 km) en aquellos lugares en los que los gradientes locales sean lo suficientemente robustos como para ser leídos con confianza y a altas resoluciones. Sin embargo, este mapa de gradientes locales magnéticos no sería posible en otras zonas, donde los gradientes locales formados sean débiles o irregulares



(PHILLIPS, 1996; PHILLIPS *et al.*, 2005b). Así, irregularidades espaciales en la distribución de gradientes magnéticos podrían imposibilitar una orientación magnética efectiva para el caso de algunas poblaciones de tritón jaspeado, como la estudiada en DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2002 (DIEGO-RASILLA, comunicación personal).

El conjunto de los resultados obtenidos en esta investigación tiene que tomarse teniendo en cuenta la dificultad que plantea la interpretación de los datos negativos en esta clase de estudios. La aparente incapacidad para orientarse apropiadamente o utilizar una señal direccional concreta puede deberse en ocasiones a la imposibilidad de acceder a dicho estímulo debido a las condiciones ambientales o experimentales, de igual manera que el privar a un animal de cierto tipo de información de compás puede no tener ningún efecto discernible sobre su capacidad de orientación. Eso no implica, sin embargo, que dicho animal sea incapaz de utilizar una información direccional concreta cuando ésta esté disponible en condiciones adecuadas, sino que en su ausencia, el animal simplemente ha tenido que pasar a utilizar un sistema alternativo (ABLE, 1980). Por lo tanto, el demostrar la existencia de un mecanismo de verdadera navegación mediante el uso de un compás magnético dependiente de la luz en *T. marmoratus* no implica descartar el uso de otro tipo de mecanismos de orientación y estímulos, como pudieran ser la orientación mediante estímulos celestes o acústicos detectada en otras investigaciones (DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2002; DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2004), que podrían formar parte secundaria de un sistema de orientación multisensorial. El uso preferente de una modalidad sensorial o estrategia determinada dependerá del puesto que ésta ocupe en la jerarquía del sistema de navegación multisensorial y de las condiciones ambientales reinantes. (SINSCH, 2006). Asimismo, el uso de un tipo de estímulo ambiental determinado puede depender también de las necesidades que impone la tarea de orientación a realizar o de la distancia recorrida en el movimiento (BINGMAN & CHENG, 2005) y en algunas especies de anfibios se ha comprobado que la preferencia por un tipo u otro de señales direccionales puede llegar a variar no sólo entre poblaciones (RUSSELL *et al.*, 2005), sino también de un individuo a otro dentro una misma población (DALL'ANTONIA & SINSCH, 2001; ADLER, 1980). En conclusión, aunque el campo geomagnético se haya probado como el estímulo de orientación preferente para la navegación de regreso al hogar del tritón jaspeado, otro tipo de señales direccionales podrían ser utilizadas en determinadas condiciones. De hecho, el uso de múltiples mecanismos de orientación aumenta la fiabilidad y precisión en el



comportamiento de orientación de cualquier especie, puesto que cualquier sistema basado en diversos receptores y que contenga cierta redundancia resulta menos susceptible de fallar en condiciones adversas (DERBY & STEULLET, 2001; CHENG & NEWCOMBE, 2005). Ya que el medio ambiente en el que vive un animal no es siempre constante, los factores ambientales utilizados en la navegación pueden presentar ciertas fluctuaciones, que dificulten o incluso impidan su uso en momentos dados. Sin embargo, resulta poco probable que todos los factores de navegación sufran alteraciones al mismo tiempo, por lo que siempre habrá al menos una fuente de información direccional disponible, en la que el animal pueda confiar para lograr orientarse adecuadamente. Por lo tanto, es de esperar que la selección natural favorezca a aquellos individuos que procesen información derivada de varios sistemas de orientación, basados en múltiples estímulos direccionales (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1993). Esto ha dado lugar a la existencia, en muchas especies animales, de mecanismos redundantes y estrategias alternativas, integrados de manera jerárquica en un sistema de navegación flexible, en el que la utilización prioritaria de una fuente de información direccional u otra depende entre otras cosas de su disponibilidad y fiabilidad en cada momento dado (CHENG & NEWCOMBE, 2005).

IV

MECANISMOS DE ORIENTACIÓN DEL TRITÓN IBÉRICO (*Lissotriton boscai*) DURANTE SU MIGRACIÓN REPRODUCTORA





IV. MECANISMOS DE ORIENTACIÓN DEL TRITÓN IBÉRICO (*Lissotriton boscai*) DURANTE SU MIGRACIÓN REPRODUCTORA

Los mecanismos y estímulos sensoriales implicados en las migraciones reproductoras del tritón ibérico no han sido analizados hasta la fecha de realización del presente estudio. Si bien uno de los objetivos principales de esta investigación fue averiguar si *L. boscai* es una especie capaz de detectar el campo geomagnético y usarlo para orientarse de vuelta a sus medios de cría (de modo similar a otras especies de tritones; DIEGO-RASILLA & RODRÍGUEZ-GARCÍA, 2007), también se llevaron a cabo experimentos en los que se analizó el papel de señales tales como los estímulos celestes o los olores procedentes del medio acuático. Asimismo, se estudió el tipo de mecanismo de orientación (pilotaje, uso de compás simple o verdadera navegación) implicado en esta conducta y se investigaron las bases de un posible sentido de mapa de navegación, de manera análoga a lo realizado en el estudio de la orientación de regreso al hogar de *Triturus marmoratus*.

1. Migración reproductora del tritón ibérico mediante el uso de un compás magnético dependiente de la luz

1.1 Metodología

La existencia de una orientación mediante brújula magnética en *L. boscai* fue contrastada en una serie de experimentos bajo condiciones de campo magnético alterado, llevados a cabo en los años 2006 y 2007 durante la temporada de reproducción primaveral en la zona de estudio (meses de marzo, abril y mayo). La metodología seguida fue idéntica a la utilizada en el caso de la orientación de regreso al hogar de *T. marmoratus* (ver sección III); los tritones fueron transportados en condiciones de oscuridad total al lugar de experimentación, donde fue ensayada su orientación bajo cuatro alineamientos de campo magnético distintos ($N_{mag} = N, E, O \text{ y } S$; ver sección II-3).



| Experimento | Condición ensayos | Fecha ensayos | Medio origen | n | Hora captura | Hora ensayos | Km al hogar | Rumbo regreso |
|--|------------------------|---------------------------|--------------|---------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------|---------------|
| Orientación nocturna/ 1 | Cielo sin luna | Noche del 18 al 19-4-2006 | 2 | 31 (16/15) | 15:30 – 17:00 | 20:45 - 1:30 | 11.8 | 213° |
| Orientación nocturna / 2 | '' | Noche del 24 al 25-4-2006 | 1 | 32 (14/18) | 15:00 – 17:15 | 20:45 – 0:55 | 2.6 | 110° |
| Orientación con luna | Cielo con luna visible | Noche del 24 al 25-3-2007 | 2 | 24 (13/11) | 14:00 – 16:00 | 19:35 – 22:20 | 12.3 | 212° |
| Orientación bajo techo | Sin visión del cielo | 21-4-2006 | 1 | 30 (12/18) | 20 abril (14:15 – 17:15) | 21 abril (11:00 – 15:15) | 2.6 | 110° |
| Dependencia de la luz | Oscuridad total | Noche del 12 al 13-5-2007 | 2 | 23 (13/10) | 16:30 - 17:30 | 21:30 - 0:30 | 12.3 | 212° |
| Influencia λ | $\lambda \leq 450$ nm | 5-5-2007 | 2 | 18 (12/6) | 4 mayo (14:45 - 16:30) | 5 mayo (12:50 - 17:20) | 12.3 | 212° |
| | $\lambda \geq 500$ nm | | | 18 (12/6) | | | | |

Tabla 4.1 Resumen de datos metodológicos correspondientes a los experimentos de orientación magnética de regreso al hogar con *L. boscai*

Tras el número de tritones capturados y empleados en cada ensayo (n) se indica entre paréntesis el número de machos y hembras (machos/hembras). Al igual que en otras ocasiones, la numeración del medio de origen sigue los códigos empleados en la sección II-2.5. Los tritones fueron capturados unas horas antes de los ensayos, salvo en el caso del estudio de la influencia de la λ de la luz y la orientación bajo techo, realizados durante las horas de luz solar tras haber pasado los tritones una noche completa en el lugar de experimentación.

- Orientación nocturna de regreso al hogar

Para determinar el uso de un compás magnético en la orientación de regreso al hogar se llevaron a cabo dos experimentos de orientación nocturna complementarios, cada uno con tritones ibéricos procedentes de una población distinta (medios acuáticos número 1 y 2), estando estos medios acuáticos situados en diferentes orientaciones respecto al lugar de experimentación (ver tabla 4.1). Los ensayos de orientación correspondientes a ambos experimentos se realizaron durante la noche en un mismo lugar de experimentación, situado en un jardín privado en la periferia de la localidad de Linares de Riofrío (40° 34' 32" N, 5° 55' 7" O, 995 m altitud). Los tritones empleados en los experimentos fueron capturados en su medio acuático horas antes del comienzo de los ensayos de orientación y una vez en el lugar de experimentación permanecieron durante tres horas antes del inicio de la toma de datos en tanques que permitieron el



acceso libre a los estímulos ambientales reinantes. Los protocolos de ensayo de la conducta de orientación se ajustaron igualmente a lo descrito anteriormente, permitiendo a los animales la visión del cielo nocturno durante los ensayos. El aparato de ensayos con la arena de experimentación fue situado a unos 10 m de los tanques donde permanecían los tritones sin ensayar y al menos a 5 m de distancia de materiales ferromagnéticos o estructuras que pudieran alterar el campo magnético. Los ensayos de orientación se llevaron a cabo en noches de condiciones similares de cielo estrellado, ausencia de luna, brisa ligera o viento en calma y luna nueva o no visible.

Tras analizar la respuesta de orientación nocturna de regreso al hogar en los dos experimentos descritos, se realizó un experimento adicional en una noche con luna visible, con el objetivo de contrastar posibles orientaciones topográficas basadas en la percepción de la luna, o cualquier otra influencia de la luna sobre la orientación seguida por los tritones. En este experimento (ver detalles metodológicos en tabla 4.1) los tritones estudiados tuvieron acceso al cielo nocturno con luna creciente visible tanto desde la arena circular de ensayos como durante el periodo de mantenimiento previo en el lugar de experimentación. El lugar de experimentación utilizado, si bien distinto al empleado en los experimentos de orientación nocturna sin luna visible, presentaba características parecidas al anterior lugar de ensayos (jardín privado en la periferia de Linares de Riofrío, con escasa contaminación lumínica o acústica) y se encontraba muy próximo a éste (en este caso 40° 34' 48'' N 5° 54' 57'' O, 960 m de altitud), por lo que la distancia y rumbo de regreso al hogar de procedencia de los tritones (medio acuático nº 2) fueron similares (212° y 12.3 km de distancia). Los ensayos de orientación se realizaron igualmente al aire libre y siguiendo el protocolo general, tras haber permanecido los tritones durante dos horas y media en el lugar de experimentación.

- Influencia de la luz y visión del cielo sobre la orientación magnética

De forma adicional a los experimentos de orientación de regreso al hogar con posibilidad de acceso a las señales del cielo nocturno, y al igual que lo llevado a cabo para la otra especie de tritón estudiada en esta investigación, se realizó un experimento en el que los tritones ibéricos fueron ensayados en condiciones de oscuridad total. Este experimento se llevó a cabo también con tritones procedentes de la población nº 2 y en el mismo lugar de experimentación utilizado en los ensayos de orientación magnética



con luna visible descritos (tabla 4.1). Asimismo, los ensayos de orientación fueron realizados durante las horas nocturnas y siguiendo el protocolo general, si bien en este caso se impidió que los tritones accedieran a cualquier tipo de señal visual durante los ensayos colocando una lona opaca de plástico negro cubriendo la totalidad de la arena circular. Estos ensayos bajo condiciones de oscuridad total se efectuaron durante la noche tras haber sido mantenidos los tritones durante 3 horas en el lugar de experimentación antes del comienzo de los mismos. Si bien los ensayos se realizaron en condiciones de oscuridad, durante el periodo previo al inicio de éstos los tritones pudieron acceder a las señales celestes (cielo parcialmente nublado y luna no visible) y al campo magnético, al igual que en otros experimentos.

Paralelamente a los experimentos efectuados bajo cielo estrellado sin luna visible, cielo con luna visible y ausencia de señales visuales, se realizó un experimento adicional para acabar de contrastar la importancia de la visión de señales celestes en la correcta orientación de regreso al hogar, ensayando la conducta de los tritones en este caso en el interior de un edificio (garaje situado en 0° 34' 32" N, 5° 55' 7" O). De esta forma, se impidió la visión del cielo durante el momento de los ensayos, y por lo tanto el uso de estímulos celestes por los tritones, al realizarse estos bajo techo. Sin embargo, los ensayos se llevaron a cabo bajo condiciones de iluminación homogénea y difusa (luz natural filtrada a través de ventanas laterales), permitiendo así un potencial uso de un compás magnético dependiente de la luz (PHILLIPS & BORLAND, 1992a). En este experimento los tritones utilizados fueron capturados el día anterior a los ensayos en el medio acuático n° 1 (tabla 4.1) permanecieron durante una noche completa en el exterior del lugar de experimentación (jardín situado a 10 metros del edificio de ensayos), dentro de los tanques utilizados en otras ocasiones, que permitieron la toma nocturna de parámetros ambientales potencialmente útiles en la navegación de regreso al hogar (ej. campo geomagnético; PHILLIPS *et al.*, 2005b). Cada tritón permaneció en los tanques de mantenimiento hasta el mismo momento del estudio de su conducta de orientación, en el que era trasladado al interior del edificio de experimentación e introducido en el centro de la arena circular. Si bien los ensayos se realizaron en el interior, se consiguió situar el aparato de ensayos conteniendo la arena circular a una distancia de al menos cuatro metros de posibles fuentes de interferencias electromagnéticas.



Por último, tras estudiar las respuestas de orientación bajo diferentes condiciones de visibilidad de señales celestes y en oscuridad, se completó el estudio de la orientación de regreso al hogar del tritón ibérico analizando la posible influencia de la longitud de onda de la luz sobre el compás magnético. Para ello, se analizó la respuesta de orientación de varios tritones ibéricos adultos bajo dos condiciones de iluminación durante las horas de luz solar, tras haber permanecido éstos en el lugar de experimentación la noche anterior a la realización de los ensayos (permitiéndose así la toma de medidas nocturnas potencialmente útiles en la navegación de regreso al hogar). Los ensayos de orientación se efectuaron alternando alineamientos de campo magnético y dos condiciones de iluminación en el interior de la arena (luz de longitud de onda corta, $\lambda \leq 450$ nm, o iluminación de longitud de onda larga, $\lambda \geq 500$ nm), obtenidas mediante el empleo de filtros específicos tal como se ha descrito en apartados anteriores. Los ensayos de orientación se llevaron a cabo en un día soleado con nubes dispersas, brisa suave del SSO y una temperatura ambiental entre 14 y 16 °C.

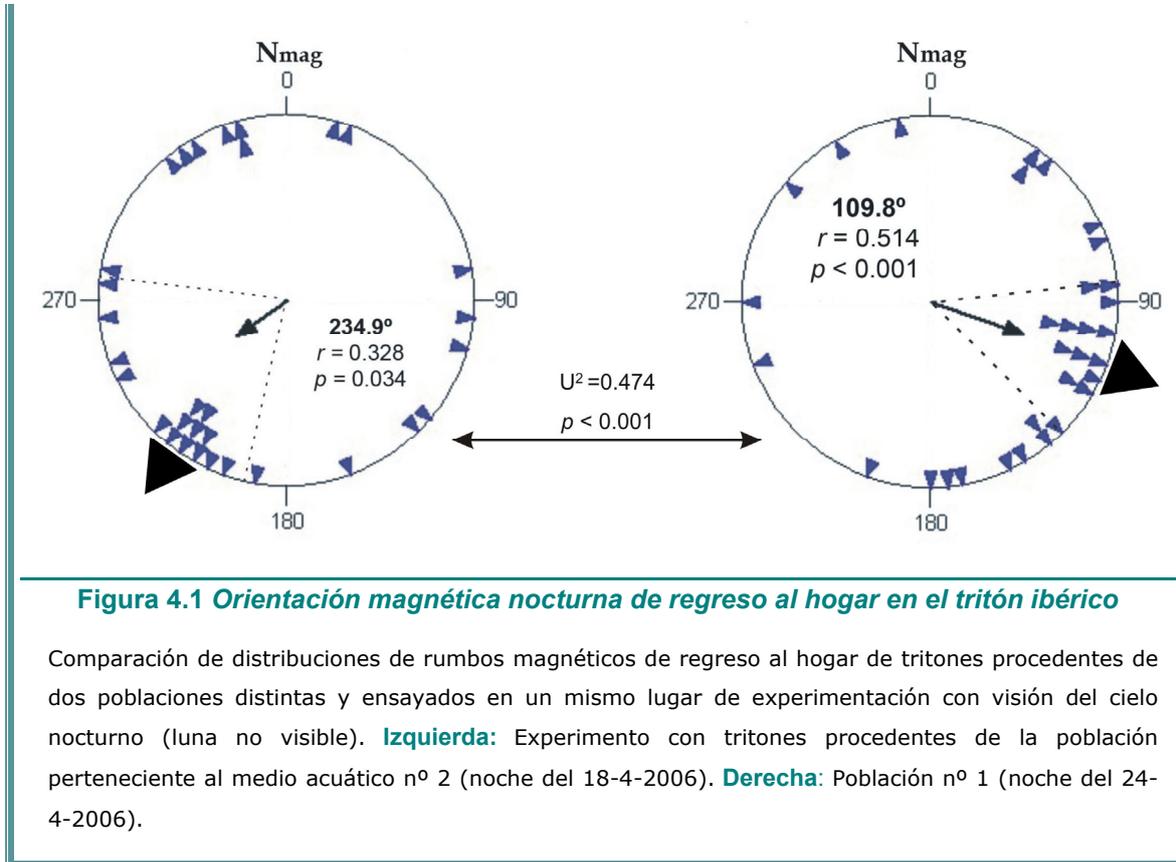
1.2 Resultados

- Orientación nocturna de regreso al hogar

Los rumbos magnéticos seguidos por los tritones ibéricos ensayados con visión del cielo en noches sin luna se distribuyen siguiendo una dirección de orientación preferente, tanto en el experimento realizado con tritones procedentes del medio acuático nº 1 como en el experimento realizado con tritones de la población nº 2. Así, en el experimento con la población nº 1 ($n = 32$) obtenemos un vector medio de orientación de 109.825° ($r = 0.514$, test de Rayleigh $p = 1.28 \times 10^{-4}$), mientras que en el experimento con la población nº 2 ($n = 31$) el vector medio resultante es de 234.923° ($r = 0.328$, test de Rayleigh $p = 0.034$). En ambos casos, los intervalos de confianza del 95% para el vector medio (84.488° - 135.162° , para la población nº 1, y 192.704° - 277.191° , para la población nº 2) incluyen el rumbo correspondiente de regreso al medio acuático desde el lugar de experimentación (110° y 213° , respectivamente), lo que sugiere una respuesta específica de orientación de regreso al hogar (figura 4.1). Asimismo, los resultados del test de la V indican una orientación altamente significativa coincidente con la dirección de regreso al hogar esperada ($p = 1.10 \times 10^{-5}$ y $p = 0.008$, para los experimentos con la



población nº 1 y nº 2, respectivamente). Por último, las distribuciones de rumbos magnéticos correspondientes a los tritones procedentes de una y otra población son estadísticamente diferentes (test de Watson- U^2 ; $U^2 = 0.474$, $p < 0.001$).



Al contrario que lo que ocurre con los rumbos magnéticos, las distribuciones de rumbos topográficos para los experimentos de orientación de regreso al hogar bajo cielo nocturno sin luna no presentan una dirección de orientación preferente, sino que los datos se distribuyen de manera uniforme (figura 4.2). Así, obtenemos resultados no significativos en el test de Rayleigh, tanto para el experimento con la población nº 1 ($n = 32$; 32.93° , $r = 0.12$, $p = 0.659$) como para el realizado con la población nº 2 ($n = 31$; 209.81° , $r = 0.3$, $p = 0.06$).

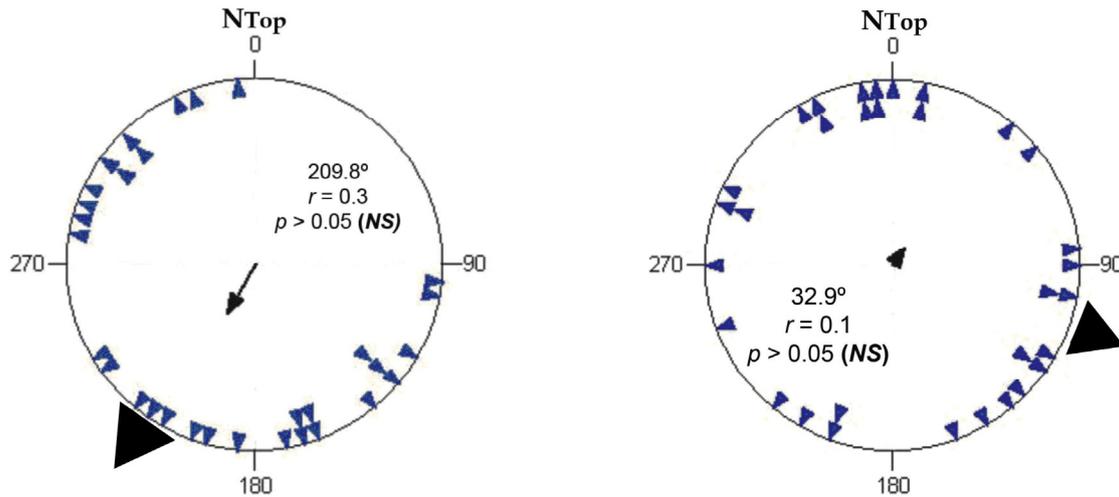


Figura 4.2 Distribuciones de rumbos topográficos obtenidos en experimentos de orientación magnética de regreso al hogar nocturna con luna no visible

(izquierda: experimento con tritones ibéricos procedentes de la población n° 2 / derecha: población n° 1)

Los tritones ibéricos procedentes del medio acuático n° 2 y cuya conducta de orientación de regreso al hogar fue ensayada en noches con luna visible tomaron rumbos magnéticos similares a los seguidos en los ensayos nocturnos sin luna visible, distribuidos en torno a un rumbo medio de 192.92° ($n = 24$; $r = 0.354$, test de Rayleigh $p = 0.047$), coherente con la dirección de regreso al hogar esperada (212° , incluida en los intervalos del 95% para la media: 148.694° - 237.146° ; figura 4.3A). Igualmente, el test de la V indica una orientación altamente significativa coincidente con la dirección de regreso al medio acuático esperada ($p = 0.01$). Por otro lado, los rumbos topográficos de orientación se distribuyen de nuevo de forma aleatoria (rumbo medio: 16.413° , $r = 0.064$, test de Rayleigh $p = 0.907$; figura 4.3B). Asimismo, los análisis de estos rumbos topográficos tomados como desviaciones respecto a la posición del acimut lunar tampoco muestran resultados significativos (vector medio: 85.598° , $r = 0.056$, test de Rayleigh $p = 0.928$; figura 4.3C), y lo mismo ocurre al aplicar el test de Watson- U^2 para comparar las distribuciones de rumbos magnéticos seguidas por tritones ibéricos de la misma población (n° 2), pero obtenidas bajo cielo sin luna o con luna visible ($U^2 = 0.055$, $p > 0.05$; ver figura 4.3).

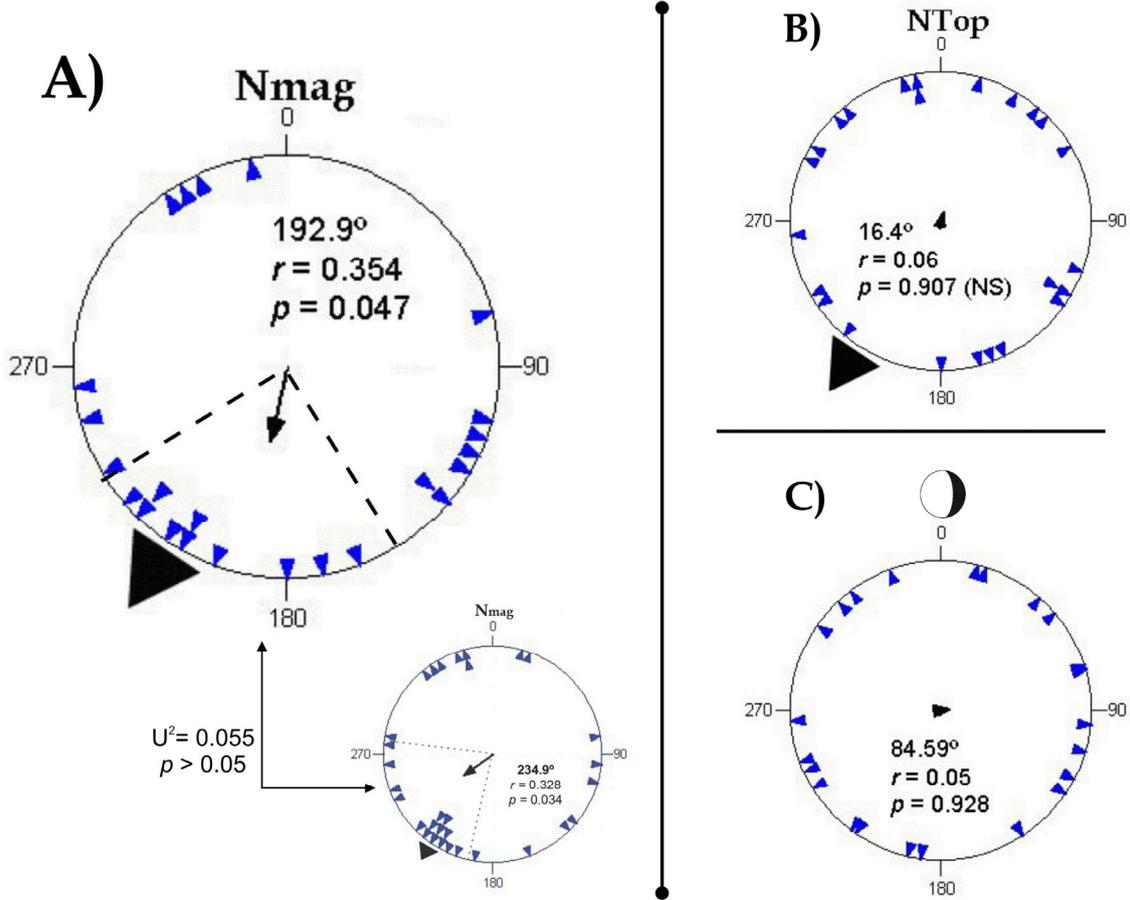


Figura 4.3 Distribuciones de rumbos de orientación de regreso al hogar de tritones ibéricos ensayados bajo distintos alineamientos magnéticos y luna visible

(noche del 24 al 25 de marzo de 2007; tritones procedentes de la población nº 2) **A:** Distribución de rumbos magnéticos bajo luna visible. Se muestra también la comparación con la distribución de rumbos magnéticos obtenidos en condiciones de luna no visible (diagrama circular inferior, de tamaño más pequeño) y los resultados del test de Watson-U². **B:** Distribución de rumbos topográficos. **C:** Distribución de desviaciones respecto al acimut lunar de los rumbos topográficos (se representa la diferencia entre cada rumbo topográfico y la posición de la luna en el momento del ensayo).

Los análisis de los experimentos de orientación magnética nocturna realizados en función del sexo de los tritones ensayados no muestran grandes diferencias en la orientación de regreso al hogar de machos y hembras, si bien los machos parecen orientarse globalmente de forma ligeramente más precisa que las hembras. Así, machos y hembras se orientan de forma similar como norma general, aunque en algunos casos aislados obtenemos distribuciones de rumbos magnéticos muy concentrados para el caso de los machos, como en el experimento realizado la noche del 24 de abril de 2006 con la



población nº 1 y luna no visible, en el que los machos ($n = 14$) siguieron una distribución de datos con vector medio de 110.943° , coincidente con la dirección de regreso de 110° (intervalos de confianza del 95% para la media: 83.063° - 138.824°) y rumbos altamente concentrados en torno a la media ($r = 0.708$, test de Rayleigh $p = 3.64 \times 10^{-4}$). Mientras, en ese mismo experimento, las hembras ($n = 18$) tomaron rumbos magnéticos mucho más dispersos (108.132° , $r = 0.364$, $p = 0.091$). Sin embargo, salvo este caso puntual, en el resto de experimentos de orientación nocturna, la diferencia entre machos y hembras no fue significativa. A nivel global, las distribuciones combinadas de rumbos magnéticos obtenidos en los diferentes experimentos de orientación nocturna al aire libre incluidos aquí, tomados como desviaciones respecto a la dirección de regreso al hogar, son parecidas tanto en el caso de los machos como para el caso de la totalidad de hembras de tritón ensayadas (figura 4.4). En el conjunto de estos experimentos, los machos de tritón ibérico ensayados ($n = 43$) presentan una concentración en torno a la dirección del hogar ($r = 0.491$, $k = 1.124$; varianza circular = 0.509) ligeramente mayor a la de las hembras ($n = 44$, $r = 0.296$, $k = 0.62$; varianza circular = 0.704) y no difieren de estas de forma estadísticamente significativa.

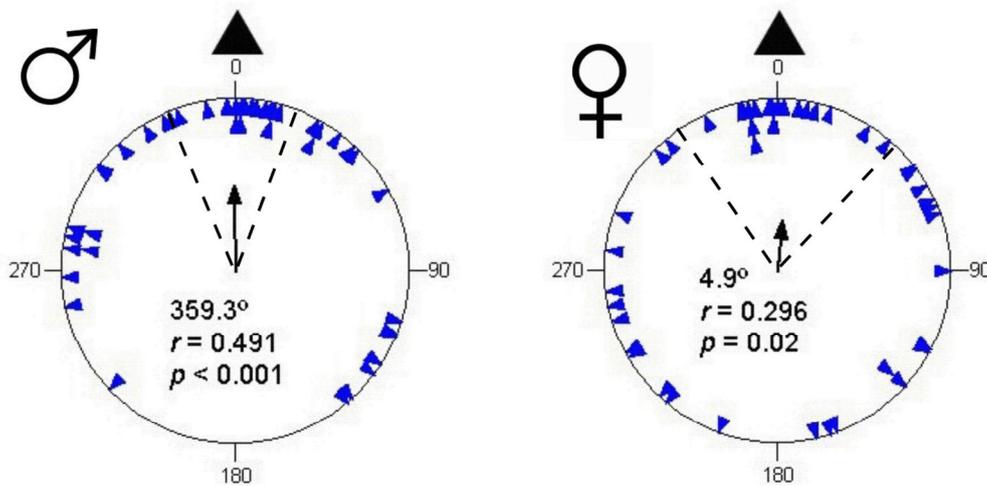


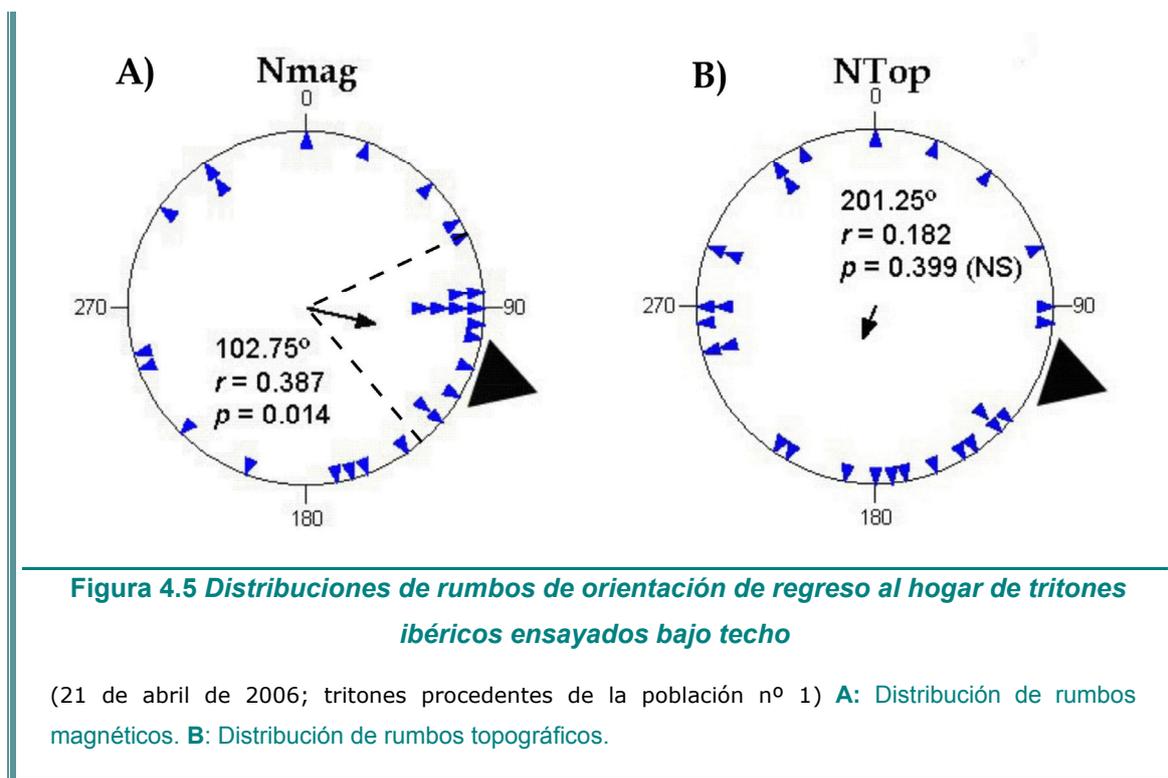
Figura 4.4 Orientación magnética nocturna de regreso al hogar en tritones machos y hembras ensayados bajo cielo nocturno

Se representan los rumbos magnéticos de los tritones como desviaciones respecto a la dirección de regreso al hogar (situada en posición 0° e indicada con un triángulo negro exterior a los diagramas circulares). **Izquierda:** Agrupación de rumbos magnéticos de tritones machos procedentes de la población nº 1 y la población nº 2 (experimentos de 18-19 y 24-25 de abril de 2006 y 24-25 de marzo de 2007). **Derecha:** Distribución agrupada de rumbos magnéticos de tritones hembras.



- Influencia de la luz y visión del cielo sobre la orientación magnética

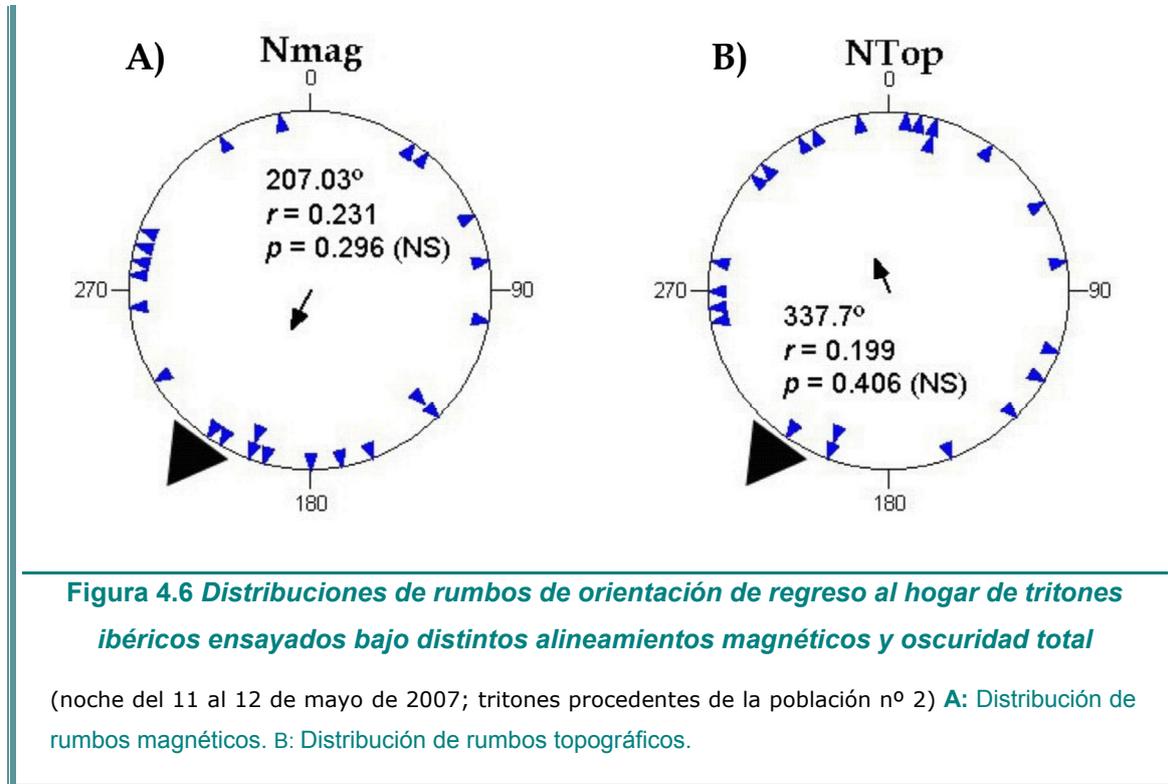
Los tritones ibéricos mantenidos durante una noche completa en el lugar de experimentación y cuya conducta de orientación fue ensayada bajo techo, sin posibilidad de visión del cielo durante el momento de la determinación de la respuesta direccional, mostraron sin embargo un comportamiento idéntico a los tritones ensayados bajo cielo nocturno, con rumbos de orientación magnética distribuidos de forma estadísticamente significativa ($n = 28$, rumbo medio de 102.753° ; $r = 0.387$, test de Rayleigh $p = 0.014$; figura 4.5). Asimismo, el vector medio de orientación magnética es coherente con la dirección de regreso al hogar esperada (110° ; intervalos del 95% para la media: 65.471° - 140.035° , test de la V : $p = 0.002$) y, en cambio, los rumbos topográficos siguen una distribución aleatoria o uniforme (vector medio: 201.255° , $r = 0.182$, test de Rayleigh $p = 0.399$).



A diferencia de otros experimentos (con visión del cielo nocturno o ensayos bajo techo pero con iluminación difusa y homogénea), los rumbos magnéticos de los tritones ibéricos ensayados bajo condiciones de oscuridad total se distribuyen de manera uniforme. Así, encontramos resultados no significativos en el test de Rayleigh ($n = 23$, vector medio: 207.035° , $r = 0.231$, $p = 0.2966$) y en el test de la V frente a la dirección de regreso al medio acuático esperada (291° ; $p = 0.113$). Igualmente, tampoco se pudo



detectar ningún tipo de orientación no magnética en los análisis realizados con la distribución de rumbos topográficos (vector medio: 337.735° , $r = 0.199$, test de Rayleigh $p = 0.406$; test de la V: $p = 0.7839$; figura 4.6).



Los tritones ibéricos ensayados bajo iluminación de longitudes de onda corta y larga mostraron un comportamiento de orientación diferente dependiendo de la longitud de onda de la luz incidente sobre la arena circular. De esta forma, los tritones ensayados bajo luz de onda corta ($\lambda \leq 450$ nm) siguieron una orientación magnética de regreso al hogar adecuada y similar a la encontrada en los experimentos realizados de noche bajo iluminación natural del cielo nocturno (ver figura 4.7A-C), con distribución de rumbos magnéticos significativa ($n = 18$, $r = 0.488$, test de Rayleigh $p = 0.012$) y un vector medio de orientación de 199.607° , coherente con la dirección de regreso al hogar esperada de 212° (intervalos de confianza del 95% para la media: 163.738° - 235.476° ; test de la V: $p = 0.002$). En cambio, los tritones ensayados bajo luz de onda larga ($\lambda \geq 500$ nm) fueron incapaces de orientarse correctamente de regreso al hogar, mostrando un comportamiento similar al obtenido en condiciones de oscuridad total, con rumbos magnéticos distribuidos de forma aleatoria ($n = 18$, vector medio: 191.183° ; $r = 0.149$, test de Rayleigh $p = 0.676$, figura 4.7B) y sin que se observe ninguna tendencia de regreso al hogar al aplicar el test de la V frente a la dirección esperada ($p = 0.203$).

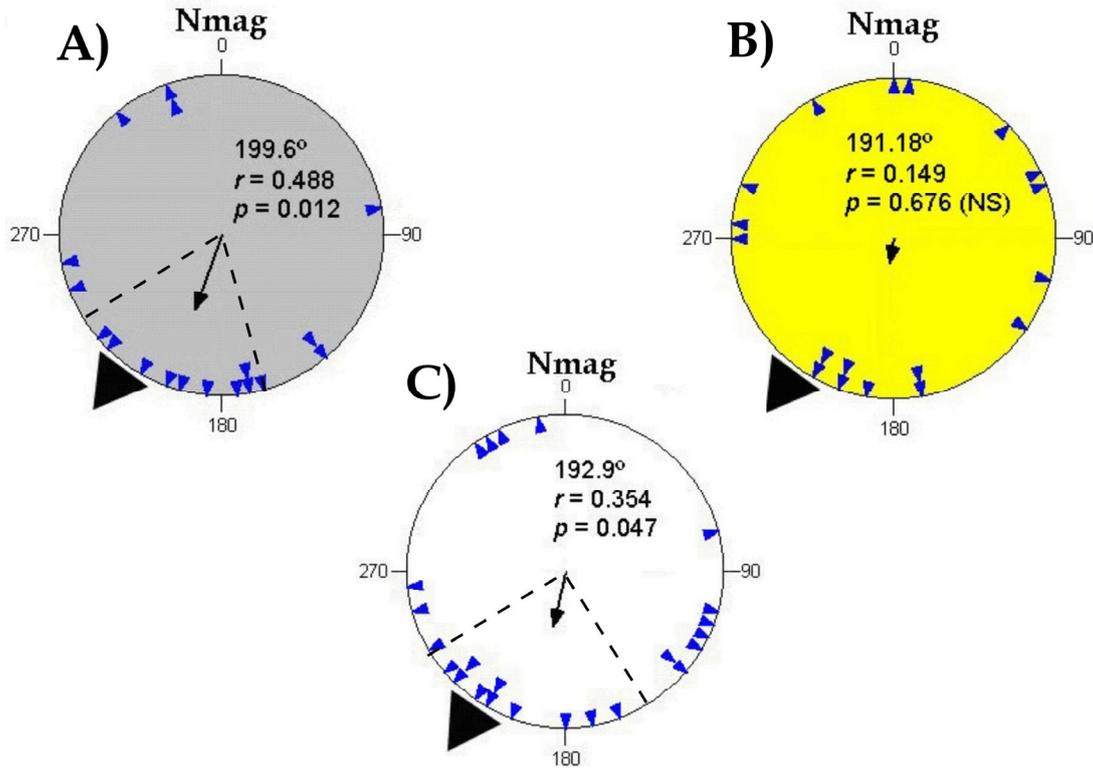


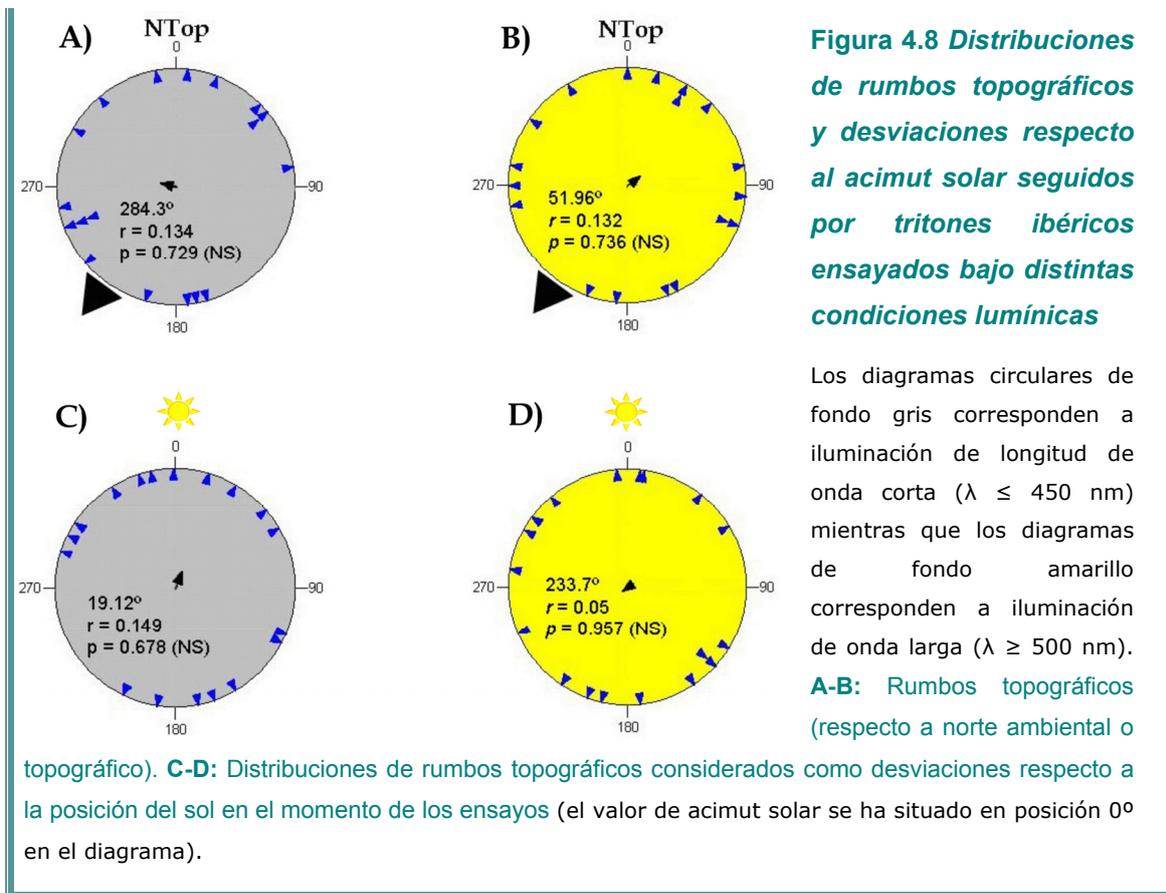
Figura 4.7 Distribuciones de rumbos magnéticos de orientación de regreso al hogar de tritones ibéricos ensayados bajo distintas condiciones de iluminación

(población procedente del medio acuático nº 2). **A:** Distribución de rumbos magnéticos obtenidos bajo iluminación de onda corta ($\lambda \leq 450$ nm) (5 de mayo de 2007) **B:** Distribución de rumbos magnéticos obtenidos bajo iluminación de onda larga ($\lambda \geq 500$ nm) (5 de mayo de 2007) **C:** Distribución de rumbos magnéticos bajo iluminación natural nocturna (experimento del 24 al 25 de marzo de 2007).

Las distribuciones de rumbos topográficos correspondientes a los tritones ensayados bajo condiciones de iluminación de longitud de onda corta y larga no presentan ninguna orientación preferente, al igual que lo obtenido en otros experimentos. Así, los rumbos topográficos bajo luz de $\lambda \leq 450$ nm presentan resultados no significativos al aplicar el test de Rayleigh ($n = 18$; vector medio: 284.338° , $r = 0.134$, $0.9 < p > 0.5$; figura 4.8A) o el test de la V frente a la dirección de regreso al hogar esperada ($p = 0.405$), y lo mismo ocurre para los rumbos topográficos de los tritones ensayados bajo luz de de onda larga ($n = 18$; vector medio: 51.964° , $r = 0.132$, test de Rayleigh $p = 0.736$; test de la V: $p = 0.77$; figura 4.8B). Asimismo, los análisis de estos rumbos topográficos como desviaciones de los valores de acimut solar en el momento de los ensayos de orientación resultan igualmente no significativos, tanto para los tritones ensayados bajo luz de longitud de onda corta (vector medio: 19.124° , $r = 0.149$, test de



Rayleigh $p = 0.678$, figura 4.8C) como para los ensayos bajo iluminación de onda larga (vector medio: 233.721° , $r = 0.055$, test de Rayleigh $p = 0.957$, figura 4.8D).



2. Análisis preliminar de la capacidad de navegación del tritón ibérico

2.1 Metodología

Al igual que lo realizado previamente para el caso de *Triturus marmoratus* (ver sección III-2), dentro del estudio de la orientación de regreso al hogar de *Lissotriton boscai* también se llevó a cabo una investigación a nivel básico sobre el funcionamiento del mecanismo de verdadera navegación utilizado por los tritones para orientarse de vuelta a su medio acuático. Se efectuaron dos experimentos bajo condiciones de campo magnético ambiental con ensayos de la respuesta direccional durante las horas centrales del día. En estos experimentos se comparó la respuesta de orientación de tritones



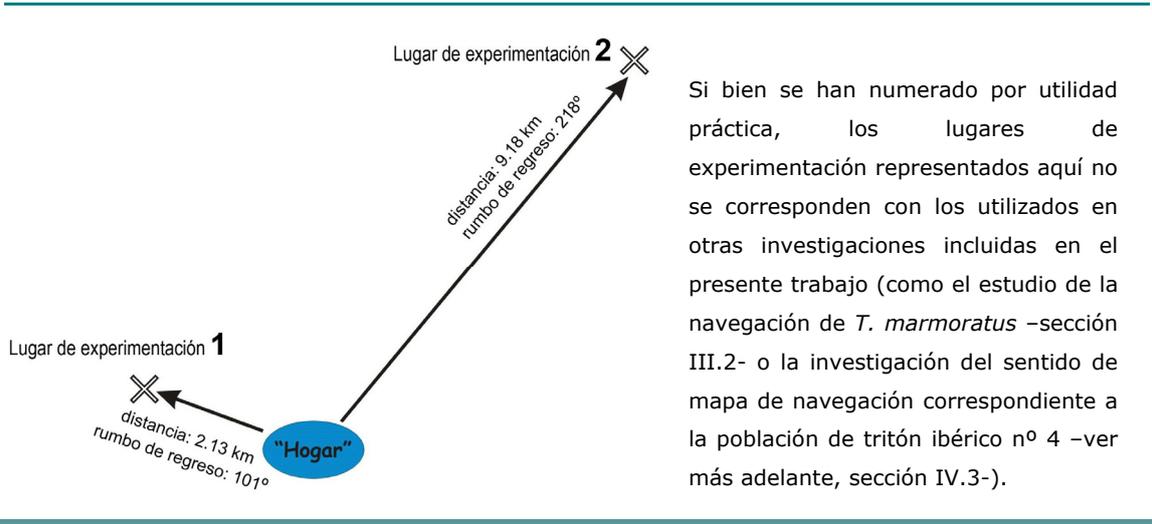
capturados el mismo día, horas antes del inicio de los ensayos, y de tritones capturados el día anterior y que pasaron la noche previa a los ensayos en el lugar de experimentación, con el objetivo principal de contrastar la importancia de la información nocturna en el sentido de mapa de navegación de esta especie. En ambos experimentos se utilizaron tritones ibéricos adultos procedentes de una misma población (correspondiente al medio acuático nº 2), que fueron transportados a dos lugares de experimentación diferentes, situados a distintas orientaciones respecto al lugar de captura (figura 4.9; ver detalles metodológicos en tabla 4.2). En un primer experimento, realizado el 16 de abril de 2007 se utilizó un lugar situado a 2.13 km del lugar de procedencia de los tritones y con un rumbo de regreso de 101° (robleal situado en $40^\circ 29' 31''$ N $6^\circ 01' 48''$ O, 575 m altitud), mientras que en un segundo experimento se realizaron los ensayos (24 de abril de 2007) en un pinar (coordenadas $40^\circ 33' 04''$ N $5^\circ 55' 36''$ O, 980 m altitud), situado a 9.18 km del medio acuático y con un rumbo de regreso al hogar de 218° . En ambos experimentos, tanto el grupo de tritones capturado el mismo día de los ensayos como el grupo capturado el día anterior fueron transportados al lugar de experimentación en idénticas condiciones de oscuridad total y fueron mantenidos en el lugar siguiendo el protocolo habitual (tanques que permitieron visión del cielo y acceso a señales ambientales). De este modo, el grupo capturado la tarde anterior al día de ensayos pudo obtener información de estímulos nocturnos, mientras que al grupo capturado la mañana de ensayos sólo se le permitió el acceso a las señales presentes en el lugar de experimentación durante hora y media antes del inicio de los ensayos de orientación.

Tras hora y media siguiente a la captura y transporte del grupo de tritones que no pasaron la noche en el lugar, se dio comienzo a los ensayos de orientación, realizados al aire libre y bajo campo magnético ambiental, en una arena circular situada a dos metros de los tanques conteniendo los tritones y a la sombra (sombreado homogéneo, conseguido gracias a sombras naturales o artificiales que en ningún caso imposibilitaban la visión libre del cielo desde la arena). Los ensayos se llevaron a cabo alternando tritones pertenecientes a uno y otro grupo experimental (capturados el mismo día o el día anterior), cuya respuesta direccional fue determinada con una periodicidad de 10 minutos entre ejemplar y ejemplar (aunque se mantuvieron los 5 minutos como límite máximo de respuesta de otros experimentos, cada tritón era introducido en la arena exactamente 10 minutos después de haber sido iniciado el ensayo del anterior



individuo). En ambos experimentos, los ensayos se realizaron días de cielo despejado y sin viento o brisa ligera de dirección variable, con temperatura ambiental entre 18 y 21 °C (experimento del 16 de abril) y entre 19-23°C (experimento del 24 de abril).

Figura 4.9 Diagrama esquemático de la situación de los lugares de experimentación utilizados en el estudio del sentido de mapa de navegación del tritón ibérico (población perteneciente al medio acuático nº 2)



| Fecha ensayos | | <i>n</i> | Hora captura | Paso noche | Lugar ensayos | Km al hogar | Rumbo regreso | Hora ensayos |
|---------------|--------------------------------|------------|----------------|------------|---------------|-------------|---------------|--------------|
| 16-4-2007 | Grupo capturado día anterior | 20 (12/8) | 15:00 - 16:10* | lugar 1 | lugar 1 | 2.13 | 101° | 8:40 -15:20 |
| | Grupo capturado día de ensayos | 19 (10/9) | 6:00 -6:40 | hogar | “ | “ | “ | |
| 24-4-2007 | Grupo capturado día anterior | 20 (10/10) | 16:00 - 16:50* | lugar 2 | lugar 2 | 9.18 | 218° | 9:00 -15:40 |
| | Grupo capturado día de ensayos | 20 (13/7) | 6:00 - 6:50 | hogar | “ | “ | “ | |

Tabla 4.2 Resumen de datos metodológicos correspondientes al estudio del sentido de mapa de navegación de *L. boscai* (población del medio acuático nº 2)

La numeración de los lugares de experimentación sigue los códigos empleados en la figura 4.9). La distancia y el rumbo de regreso al hogar mostrados corresponden al lugar de experimentación donde se realizaron los ensayos de orientación. Las horas (GMT) de captura marcadas con asterisco (*) corresponden al día anterior a la fecha de ensayos.



De forma paralela a este estudio acerca de la toma de medidas de mapa de navegación en *L. boscai*, realizado con tritones procedentes del medio acuático nº 2, también se realizó un análisis más detallado del sentido de mapa de navegación y su influencia en la orientación de regreso al hogar para el caso de otra población de tritones ibéricos distinta, que ocupa el medio acuático nº 4 (ver sección II-2.5). Debido al comportamiento peculiar observado en la orientación de regreso al hogar de esa población de tritones, y a la extensión de los resultados obtenidos en la investigación, se ha optado por incluir dichos resultados en un apartado diferente (ver más adelante, sección IV-3).

2.2 Resultados

Los tritones ibéricos desplazados al lugar de experimentación durante la tarde anterior al día de ensayos siguieron rumbos medios de orientación coherentes con la dirección de regreso a su hogar, tanto en el lugar de experimentación número 1 como en el número 2. Mientras, los tritones que no pasaron la noche en los lugares de experimentación (capturados la misma mañana de ensayos) se orientaron de forma aleatoria. De este modo, en el caso del experimento realizado en el lugar nº 1 los rumbos correspondientes al grupo de tritones que pasó la noche en ese lugar siguieron una media de 75.888° ($n = 20$, $r = 0.47$, test de Rayleigh $p = 0.01$), cuyos intervalos de confianza del 95% (40.313° - 111.463°) incluyen la dirección de regreso al hogar desde el lugar de experimentación (101°). Asimismo, los resultados del test de la V frente a la dirección de regreso ($p = 0.003$) también confirman la respuesta de orientación de regreso al hogar (figura 4.10 1.B). De igual manera, los tritones que pasaron la noche en el lugar nº 2 y fueron ensayados allí a la mañana siguiente tomaron rumbos de orientación en torno a un vector medio de 235.01° ($n = 20$, $r = 0.501$, $p = 0.005$), también coincidente con la dirección de regreso al hogar correspondiente, de 218° (intervalos de confianza del 95% para la media = 201.956° - 268.064° ; test de la V frente a la dirección de regreso con $p = 9.87 \times 10^{-4}$; figura 4.10 2.B). Las distribuciones de rumbos correspondientes a tritones ensayados en uno y otro lugar de experimentación tras pasar allí la noche previa son asimismo significativamente diferentes entre sí según el test de Watson- U^2 ($U^2 = 0.464$, $p < 0.001$).



Tanto los tritones ibéricos machos como las hembras ensayadas en estos experimentos siguieron comportamientos similares y no se encuentran diferencias globales en las distribuciones de rumbos correspondientes a uno y otro sexo. Así, en el lugar de experimentación nº 1 la distribución de rumbos de tritones machos (vector medio = 81.602° , $r = 0.538$, $n = 12$, $p = 0.028$) parece más concentrada en torno a la dirección de regreso que la seguida por las hembras (63.693° , $r = 0.38$, $n = 8$, $p = 0.325$), pero los resultados obtenidos en el lugar nº 2 son completamente opuestos, en este caso con las hembras siguiendo rumbos ligeramente más concentrados (209.988° , $r = 0.634$, $n = 10$, $p = 0.014$) que los machos (267.176° , $r = 0.504$, $n = 10$, $p = 0.076$).

Por otra parte, los tritones capturados el mismo día de los ensayos y cuya conducta de orientación fue estudiada en el lugar de experimentación nº 1 siguieron una distribución de rumbos uniforme o aleatoria, de acuerdo al test de Rayleigh ($n = 19$, vector medio = 102.434° , $r = 0.238$, $p = 0.345$; figura 4.10 1.A), y lo mismo ocurre con aquellos tritones capturados durante la mañana y ensayados unas horas más tarde en el lugar nº 2 ($n = 20$, vector medio = 192.548° , $r = 0.157$; $p = 0.617$; figura 4.10 2.A). Asimismo, tampoco se obtienen resultados significativos al aplicar el test de la V frente a la dirección de regreso al hogar esperada en cada caso ($p = 0.072$, para los tritones ensayados en el lugar nº 1 sin haber pasado la noche previa allí, y $p = 0.187$, para los ensayados en el lugar nº 2).

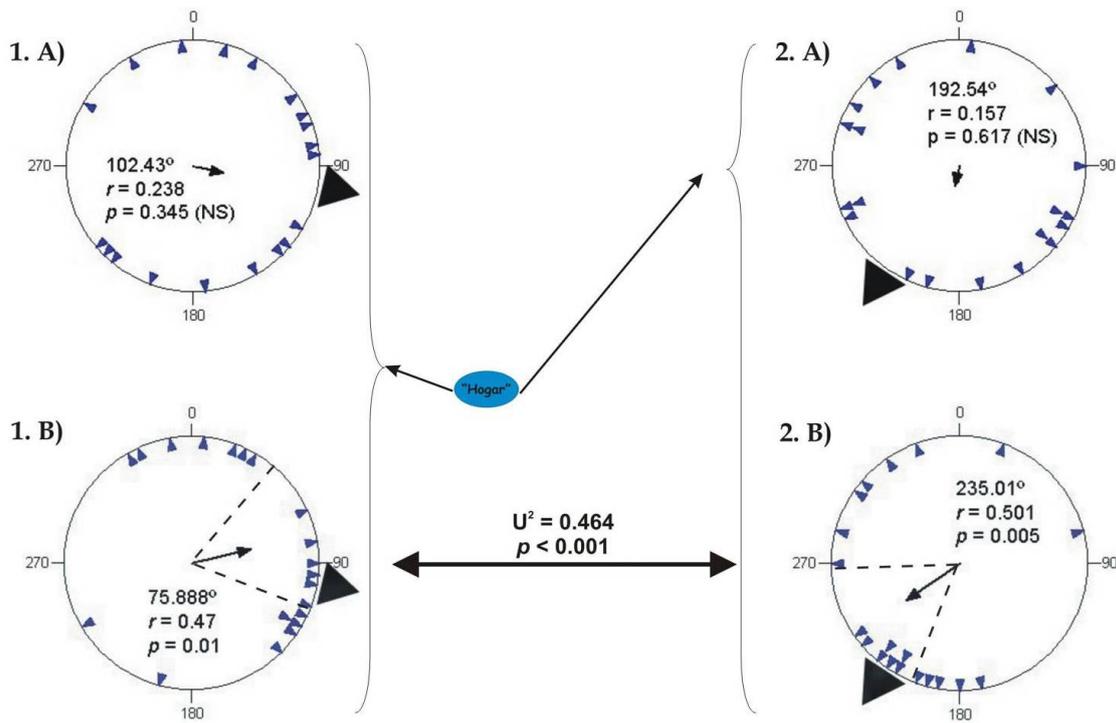


Figura 4.10 Respuestas de orientación de tritones ibéricos ensayados durante el día bajo campo magnético ambiental en dos lugares de experimentación

Se muestran las distribuciones de rumbos topográficos correspondientes a cada grupo experimental. En la columna de la izquierda (1.A-1.B) se muestran las distribuciones correspondientes a los animales ensayados en el lugar de experimentación número 1 (16 de abril de 2007), mientras que los diagramas de la derecha (2.A-2.B) corresponden a los ensayos realizados en el lugar número 2 (24 de abril de 2007, ver figura 4.9). Por otra parte, para cada lugar de experimentación, los diagramas superiores (grupos "A") corresponden a los tritones capturados el mismo día de los ensayos, mientras que los diagramas en posición inferior (grupos "B") corresponden a los tritones capturados el día anterior y que pasaron la noche en el mismo lugar en el que fueron ensayados.

3. Capacidad de navegación en una población de tritón ibérico en función de la localización geográfica

Como se ha indicado previamente, la conducta de orientación de regreso al hogar de *Lissotriton boscai* fue estudiada en diversas poblaciones presentes en el área de estudio, obteniéndose resultados similares en casi todas ellas. Sin embargo, los experimentos iniciales evidenciaron un comportamiento de navegación peculiar para el caso de una población concreta de *L. boscai*. Los tritones ibéricos de esta población, que



ocupa el medio acuático nº 4 (pilón o abrevadero para ganado situado en un entorno montañoso de bosque mixto, ver sección II-2.5), presentaron una conducta de orientación de regreso al hogar variable en función de la localización geográfica del lugar de experimentación y el protocolo de desplazamiento experimental empleado, por lo que se consideró realizar un estudio en profundidad de su comportamiento. A continuación se presenta la metodología seguida y los resultados obtenidos en los experimentos realizados con esta población de tritones.



Medio acuático nº 4, ocupado por la población de tritón ibérico analizada en este capítulo

3.1 Metodología

Se estudió la respuesta de orientación de tritones ibéricos procedentes del medio acuático número 4 en varios lugares de experimentación, situados a distintas orientaciones y distancias del pilón. En la figura 4.11 se muestra la localización espacial relativa al medio acuático de los ocho lugares empleados en la investigación. La elección de estos lugares de ensayos se realizó con el objetivo de determinar posibles efectos en la orientación debidos a variaciones espaciales o irregularidades en la distribución de gradientes que pudieran ser usados como coordenadas de mapa de navegación. Asimismo, se llevaron a cabo experimentos empleando diferentes protocolos de transporte de los animales desde su medio acuático, para contrastar así la importancia



relativa de la información direccional recolectada en la ruta (por ejemplo, rumbo de compás o integración de trayectorias). Por otro lado, también se utilizaron protocolos experimentales para investigar la variación temporal y espacial en la toma de medidas de mapa de navegación por parte de los tritones. Los ensayos de la conducta de orientación se realizaron en su mayor parte bajo condiciones ambientales, tanto durante el día como durante la noche (y en algunos casos tras haber sido mantenidos los animales el día o la noche anterior a los ensayos en un lugar distinto), si bien también se llevaron a cabo experimentos con campo magnético alterado con el objetivo de confirmar el uso del campo geomagnético en esta población concreta de tritones. En todos los casos se emplearon variaciones del protocolo de ensayo general y los datos fueron analizados con la metodología descrita en secciones anteriores.

Para permitir un análisis individual de las respuestas de orientación seguidas por cada tritón de la población estudiada, se realizó un marcaje fotográfico de los individuos ensayados. Así, de forma inmediatamente posterior al ensayo de su conducta de orientación, cada tritón fue fotografiado dorsal y ventralmente, empleándose para ello una cámara digital (Sony Cybershot[®], modelo DSC-P12). El fotografiado del diseño ventral de los tritones se realizó colocando cada ejemplar en el interior de un sistema consistente en una plancha transparente de metacrilato y una esponja flexible. En este mecanismo los tritones quedaban momentáneamente aprisionados entre el metacrilato (cara ventral del tritón) y la esponja (cara dorsal) y ligeramente comprimidos, lo que permitió fotografiar de forma precisa la totalidad de la superficie ventral sin que los animales sufrieran tampoco ningún daño (la esponja situada dorsalmente impedía el aplastamiento). El reconocimiento individual, que permitió la comparación de rumbos tomados en cada experimento por un mismo tritón, se realizó gracias a la variabilidad existente en el diseño ventral de esta especie (número y distribución de manchas o puntos negros ventrales, sistema utilizado previamente por otros autores; DÍAZ-PANIAGUA, 1986).

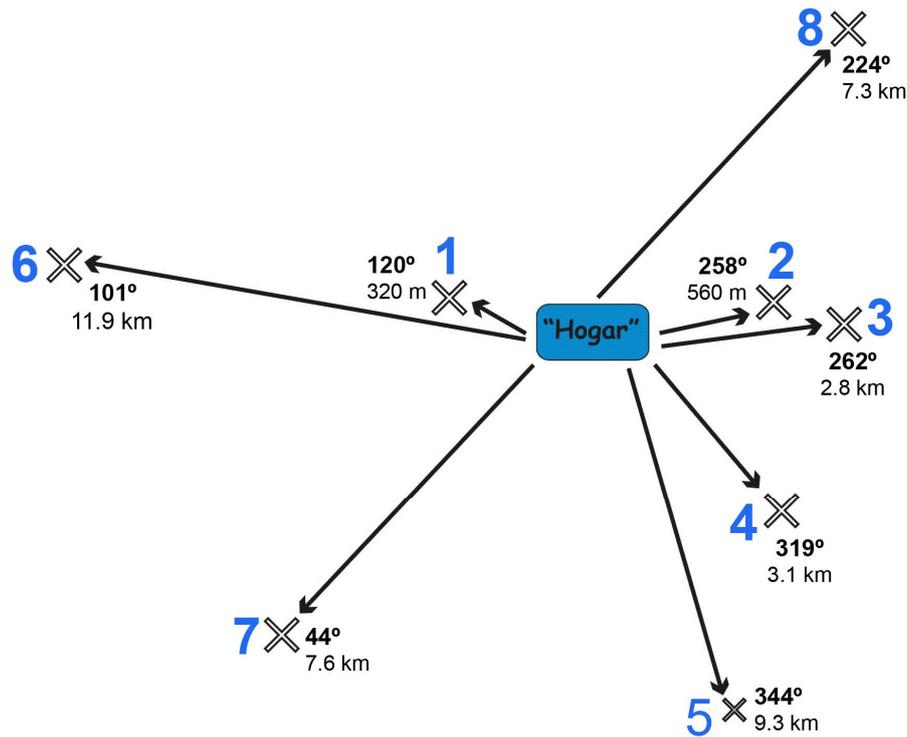


Figura 4.11 Esquema general de localización de los lugares de experimentación utilizados en el estudio de la orientación de regreso al hogar de los tritones ibéricos pertenecientes al medio acuático número 4

Se muestra la distribución espacial de cada lugar de experimentación (representados con una "x") relativa al medio acuático (rectángulo central), indicándose la distancia y el rumbo de regreso al hogar correspondiente. Los números utilizados para identificar cada lugar (en color azul) se emplean a lo largo del presente capítulo, pero no se corresponden con lugares de experimentación utilizados en otras investigaciones incluidas en este proyecto de tesis. Los lugares 1 y 2 se encontraban en el mismo entorno del medio acuático (bosque mixto), mientras que el resto de sitios de experimentación estaban situados a mayor distancia, en diferentes medios (ej. lugares 6 y 8: dehesa de robles melojos; lugar 7: brezal; lugar 4: pinar). El lugar nº 3 corresponde a un jardín privado en la periferia de la localidad de Linares de Riofrío (40° 34' 32" N, 5° 55' 7" O), donde se realizaron todos aquellos ensayos que implicaban varios alineamientos de campo magnético. A diferencia de los restantes, el lugar número 5 (bosque mixto con predominio de robledal) no se utilizó como lugar de ensayos en ningún experimento, sino únicamente como lugar de mantenimiento de los ejemplares estudiados (posteriormente trasladados y ensayados en un lugar diferente; ver detalles en la descripción de los protocolos experimentales).



A) Orientación nocturna bajo campo magnético ambiental

La orientación de regreso al hogar de los tritones ibéricos que ocupan el medio acuático número 4 fue analizada en primer lugar en ensayos realizados durante la noche del mismo día de captura de los ejemplares y bajo las condiciones ambientales reinantes en el lugar de ensayos. Estos experimentos de orientación nocturna se realizaron empleando distintas condiciones de transporte de los animales hasta el lugar de ensayos correspondiente, tal como se detalla a continuación. En la tabla 4.3 se resumen detalles metodológicos correspondientes a estos experimentos.

| Orientación nocturna bajo campo magnético ambiental por tritones del medio acuático nº 4 | | | | | | | |
|--|---------------|---------------|-------------|---------------|---------------------------|---------------|---------------|
| Condición experimento | Lugar ensayos | Rumbo regreso | Km al hogar | <i>n</i> | Fecha ensayos | Hora captura | Hora ensayos |
| - Transporte con acceso libre a señales | 1 | 120° | 0.320 | 34 (20/14) | Noche del 13 al 14-5-2004 | 18:15 - 20:15 | 23:30 - 4:10 |
| | 2 | 258° | 0.560 | 33 (24/9) | Noche del 24 al 25-3-2005 | 17:30 - 19:30 | 23:00 - 4:30 |
| - Transporte en oscuridad total | 1 | 120° | 0.320 | 35 (22/13) | Noche del 18 al 19-5-2004 | 18:30 - 20:10 | 23:30 - 3:50 |
| | 2 | 258° | 0.560 | 35 (21/14) | Noche del 12 al 13-4-2005 | 19:30 - 21:15 | 23:00 - 4:20 |
| | 7 | 44° | 7.6 | 28 (18/10) | Noche del 11-3-2007 | 14:20 - 16:00 | 20:30 - 23:50 |
| | 8 | 224° | 7.3 | 28 (17/11) | Noche del 18-3-2007 | 14:00 - 16:15 | 20:30 - 23:35 |
| - Transporte con visión del cielo y c. magnético alterado | 1 | 120° | 0.320 | 22 (12/10) | Noche del 2 al 3-6-2006 | 16:30 - 18:50 | 22:20 - 0:30 |

Tabla 4.3 Resumen de datos metodológicos correspondientes a los experimentos con tritones del medio acuático 4 (ensayos nocturnos y bajo campo magnético ambiental)

Tras el número de tritones capturados y empleados en cada ensayo (*n*) se indica entre paréntesis el número de machos y hembras (machos/hembras).



- Transporte con acceso libre a señales direccionales [lugares 1, 2]

Como paso inicial, con el objetivo de confirmar la existencia de capacidad de orientación de regreso al hogar en la población concreta de tritón ibérico estudiada, se realizaron dos ensayos de orientación en sendos lugares de experimentación (lugares 1 y 2, con rumbos de regreso al hogar desde ellos de 120° y 258°, respectivamente), situados en el mismo entorno boscoso de las proximidades del pilón (a 320 m y 560 m de distancia; ver figura 4.11). Ambos experimentos simétricos, además de realizarse al aire libre y en un entorno similar al utilizado por los tritones como medio terrestre (o incluso dentro del territorio potencialmente conocido por ellos), se llevaron a cabo bajo condiciones naturales (campo magnético ambiental y visión del cielo durante todo momento) y tras realizar un transporte desde el medio acuático en unas condiciones que igualmente permitieron el acceso libre de los animales a información direccional. Este desplazamiento de los tritones capturados hasta el lugar de ensayos se realizó de forma directa, a pie y a velocidad moderada (3 km/h aprox.), acarreado el tanque conteniendo los ejemplares sobre la cabeza y manteniendo la tapa superior del tanque abierta. De esta forma, los tritones tuvieron libre acceso visual al cielo nocturno durante el transporte, por lo que potencialmente podrían recurrir a un mecanismo de orientación basada en la ruta mediante un hipotético compás celeste o un compás magnético. Asimismo, el transporte en línea recta podría permitir un mecanismo idiotético de integración de trayectorias (MACNAGUTHON *et al.*, 2006). Sin embargo, a pesar de permitir el acceso a varios tipos de información en ruta, el protocolo de transporte seguido sí imposibilitó a los tritones captar olores procedentes del entorno, puesto que los ejemplares fueron introducidos en recipientes de plástico transparentes cerrados herméticamente (16-17 individuos por recipiente), con agua del pilón en su interior. Estos recipientes fueron a su vez introducidos en un tanque rectangular de paredes opacas para su transporte. Por lo tanto, si bien, como se ha mencionado, la cara superior de dicho tanque permaneció descubierta durante el transporte, las paredes laterales del mismo impidieron a los tritones acceder a pistas visuales que no estuvieran por encima de sus cabezas, dificultándose así el uso de estructuras del terreno como referencias en un mecanismo de inversión de la ruta (ver sección I-3.2). Una vez en el lugar de experimentación, los tritones se pasaron al habitual tanque de mantenimiento (rectangular, alineado con su longitud mayor siguiendo el eje Norte-Sur, nivelado y con 1 cm de profundidad de agua procedente del pilón), donde permanecieron con acceso libre a señales celestes y magnéticas ambientales durante un mínimo de 2 horas antes del comienzo de los



ensayos de orientación. Los ensayos de orientación se llevaron a cabo según el protocolo general, utilizando una arena circular simétrica, nivelada y situada a 5 metros de los tanques conteniendo los tritones sin ensayar. El experimento en el lugar número 1 se realizó bajo condiciones de cielo estrellado, luna decreciente no visible hasta los momentos finales de los ensayos de orientación (oculta tras el horizonte hasta las 3:00 GMT), aire en calma y temperatura ambiental entre 3 y 5 °C. Por su parte, el experimento con ensayos en el lugar 2 se llevó a cabo en una noche con luna llena visible en todo momento (tanto durante el transporte como durante los ensayos), cielo parcialmente nublado, brisa leve de dirección Este y temperatura ambiental entre 4 y 6°C durante los ensayos.

- Transporte en oscuridad total [lugares 1, 2, 7, 8]

De forma paralela a los experimentos realizados con transporte en línea recta y con acceso a estímulos celestes y magnéticos descritos anteriormente, se llevaron a cabo otros ensayos de orientación (en los lugares 1, 2, 7 y 8; figura 4.12) tras un desplazamiento de los animales que evitara cualquier posibilidad de recolección de información en ruta. En los cuatro experimentos se siguió por tanto un método de transporte de los ejemplares similar al descrito en otras secciones, en recipientes herméticos, evitando el acceso a señales químicas, en oscuridad total (impidiendo tanto la recepción de estímulos visuales como el uso de un compás magnético dependiente de la luz como el descubierto en el propio tritón ibérico, ver sección IV-1) y empleando protocolos de desorientación que dificultaran una posible integración de trayectorias basada en información de tipo propioceptiva. En todos los casos se tomó un rumbo inicial de alejamiento a pie (3 km/h aprox.) desde el pilón durante unos 200 metros en sentido opuesto a la dirección del lugar de experimentación. Tras haber recorrido esa distancia, la bolsa de transporte de los tritones fue girada rápidamente sobre su eje con ayuda de unas cuerdas elásticas (20 vueltas en el sentido de las agujas del reloj seguidas de 20 vueltas en sentido contrario), con el objetivo de eliminar cualquier información inercial acerca del rumbo seguido registrada por los tritones. Tras estos giros de desorientación se desandaba el camino seguido, regresando al pilón y tomando ya una dirección de desplazamiento hasta el lugar de ensayos. Este desplazamiento final se realizó igualmente a pie en el caso de los experimentos realizados en los lugares 1 y 2 y en coche (debido a la mayor distancia de los lugares de ensayos) para los experimentos en los lugares 7 y 8. Finalmente, una vez en el lugar de ensayos, se efectuaron otros



giros de desorientación (20 vueltas rápidas de la bolsa de transporte en un sentido, seguidas de 20 vueltas rápidas en el sentido contrario) antes de depositar a los tritones en el tanque rectangular de mantenimiento. Los tritones permanecieron en ese tanque, con acceso libre a los estímulos ambientales del lugar, un mínimo de 2 horas antes del comienzo de los ensayos de orientación, y el resto de protocolo de ensayos fue idéntico al llevado a cabo en otros experimentos. Las condiciones ambientales durante los ensayos fueron de cielo estrellado sin luna visible para los experimentos realizados en los lugares 1, 7 y 8. El experimento realizado en el lugar número 2, por su parte, se llevó a cabo en una noche con luna creciente, que fue visible desde el tanque conteniendo los tritones durante hora y media, hasta media hora antes del comienzo de los ensayos de orientación, momento en el cual se ocultó tras el horizonte. Los ensayos en el lugar nº 1 se realizaron bajo viento moderado del SSO, mientras que durante las noches de ensayos en el lugar nº 2 y nº 8 soplaron rachas de viento moderado de dirección N. Los ensayos en el lugar nº 7 se efectuaron en una noche sin viento. La temperatura ambiental durante los ensayos fue aproximadamente similar en todos los casos (temperaturas bajas, oscilando entre 1 °C y 6 °C).

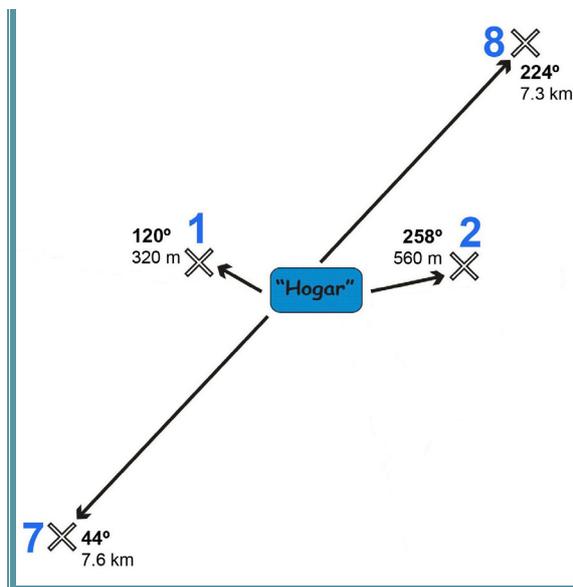


Figura 4.12

Localización, indicando rumbos de regreso al hogar y distancias, de los lugares de ensayos utilizados para analizar la conducta de regreso al hogar de los tritones ibéricos del medio acuático nº 4, tras un desplazamiento de éstos sin posibilidad de acceso a información direccional.

- Transporte con visión del cielo y campo magnético alterado [lugar 1]

Como último experimento con ensayos de orientación nocturnos y bajo campo magnético ambiental se estudió la conducta de orientación de los tritones tras un transporte en línea recta y con posibilidad de acceso a señales celestes, pero en este caso con la alteración del campo magnético percibido por los animales durante el



desplazamiento. Los tritones capturados fueron introducidos en dos recipientes de plástico transparentes (11 individuos por recipiente) llenos con agua del pilón (hasta aproximadamente una cuarta parte del volumen total de 5 litros del recipiente), los cuales a su vez se dispusieron, tumbados sobre su longitud mayor, en el interior de un tanque rectangular de transporte de paredes laterales opacas. La cara superior de este tanque permaneció destapada en todo momento durante el transporte, realizado a pie a velocidad moderada, para permitir la visión del cielo nocturno. Para conseguir condiciones de campo magnético alterado durante el desplazamiento, se utilizaron tres imanes de neodimio (discos de 22 mm de diámetro y 10 mm de grosor; densidad = 7.4 g/cm³; inducción residual = 11000 gauss; fuerza coercida = 10000 oersted). Dos de estos imanes se colocaron adheridos a la cara inferior de los recipientes conteniendo los tritones, mientras que un tercero se dispuso flotando en el centro del tanque de transporte, sujeto con una cuerda que lo mantenía a una distancia similar de cada recipiente y con cierta capacidad de giro sobre sí mismo durante el transporte del tanque (figura 4.13). De esta forma se buscó imposibilitar el uso efectivo del mecanismo de compás magnético, alterando el campo magnético percibido por los animales de manera no uniforme durante el desplazamiento, sin tener que recurrir a condiciones de oscuridad total y permitiendo, por tanto, el acceso a estímulos celestes que pudieran servir como señales direccionales potenciales.

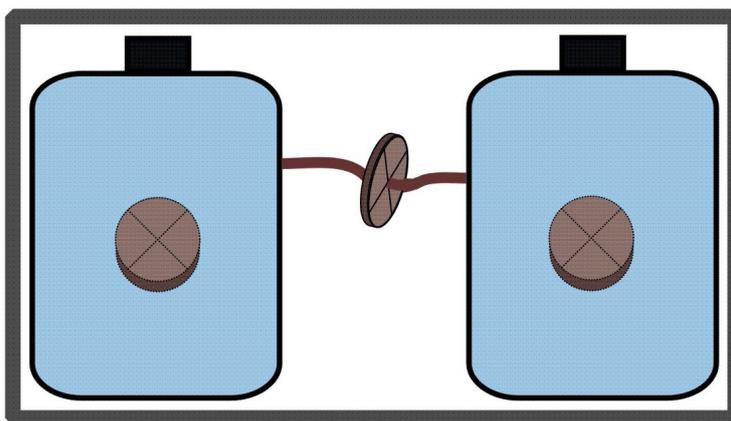


Figura 4.13 Esquema del tanque de transporte utilizado para el desplazamiento de tritones en condiciones de campo magnético alterado (vista cenital)

El rectángulo exterior representa el tanque rectangular de transporte, en cuyo interior se colocaron tumbados los dos recipientes transparentes con agua conteniendo los tritones (color azul). Se muestra la disposición de los imanes de neodimio empleados para alterar el campo (discos de color marrón: uno bajo cada recipiente y un tercero unido a una cuerda y situado entre ambos recipientes).



Los ensayos de orientación se realizaron en el lugar n° 1 tras hora y media durante la cual los tritones transportados permanecieron bajo el campo magnético ambiental y con acceso al resto de estímulos presentes en el lugar, de igual forma que en otros experimentos (ver tabla 4.3 para otros detalles metodológicos). El experimento se realizó en una noche de luna creciente (40% de disco lunar), visible por los tritones durante todo el transporte y durante el mantenimiento en el lugar de experimentación y los primeros momentos de los ensayos (la luna se ocultó tras el horizonte a partir de las 22:50). El cielo se mantuvo estrellado en todo momento y los ensayos se llevaron a cabo con brisa suave de dirección suroeste.

B) Orientación diurna bajo campo magnético ambiental

De forma idéntica a lo llevado a cabo para otras poblaciones de *L. boscai*, se realizaron una serie de ensayos de orientación bajo condiciones ambientales durante las horas centrales del día (ver detalles metodológicos en la tabla 4.4), con el objetivo de analizar la importancia relativa del registro de información nocturna o diurna sobre el mecanismo de mapa de navegación empleado por los tritones. Se efectuaron cuatro experimentos en otros tantos lugares de experimentación (lugares n° 3, 4, 7 y 8, ver figura 4.14) en los que se compararon las respuestas de tritones capturados el mismo día de ensayos y tritones que pasaron la noche previa a los ensayos en el lugar de experimentación. De forma adicional, en un quinto experimento se contrastó la orientación de dos grupos de tritones, capturados el día anterior a los ensayos pero que pasaron la noche previa en dos lugares distintos: por un lado, un grupo mantenido en el mismo lugar donde se realizaron los ensayos (lugar n° 6) y, por otro lado, un grupo que pasó la noche en el lugar n° 4 y fue trasladado a la mañana siguiente al lugar n° 6 (figura 4.14). En todos los casos, el transporte de los tritones, desde el medio acuático o entre lugares de experimentación, se realizó en condiciones de oscuridad total y ausencia de estímulos direccionales, empleando un protocolo de desplazamiento similar al descrito en secciones anteriores. El transporte se hizo en coche siguiendo caminos sinuosos y a una velocidad moderada (30 km/h).

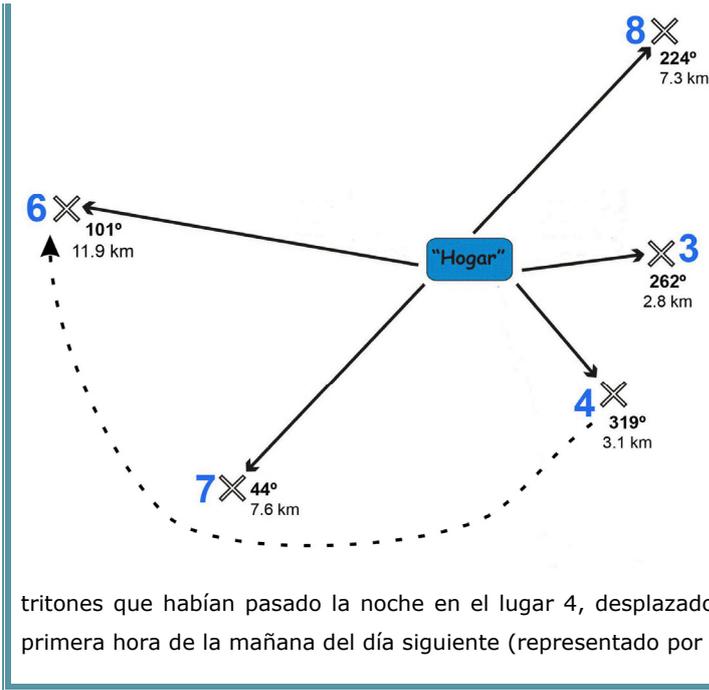


Figura 4.14 Localización de los lugares utilizados en ensayos de la conducta de navegación de los tritones ibéricos del medio acuático nº 4 realizados durante el día y bajo campo magnético ambiental

Se muestra la orientación y distancia de los lugares de experimentación respecto al medio acuático. En el lugar 6 se ensayaron tritones que habían pasado allí la noche previa y tritones que habían pasado la noche en el lugar 4, desplazados estos últimos al lugar de ensayos a primera hora de la mañana del día siguiente (representado por la línea punteada).



Medio acuático nº 4



| Orientación diurna bajo campo magnético ambiental por tritones del medio acuático n° 4 | | | | | | | | |
|--|--------------------------------|------------|---------------------------------|------------|---------------|-------------|---------------|----------------|
| Fecha ensayos | | n | Hora captura | Paso noche | Lugar ensayos | Km al hogar | Rumbo regreso | Hora ensayos |
| 16-5-2005 | Grupo capturado día anterior | 22 (13/9) | 16:30 - 18:20* | lugar 3 | lugar 3 | 2.8 | 262° | 8:50 - 18:20** |
| | Grupo capturado día de ensayos | 22 (12/10) | 4:50 - 6:15 | hogar | “ | | “ | |
| 18-5-2005 | Grupo capturado día anterior | 22 (13/9) | 17:00 - 19:00* | lugar 4 | lugar 4 | 3.1 | 319° | 9:00 - 16:00 |
| | Grupo capturado día de ensayos | 22 (11/11) | 4:20 - 6:00 | hogar | “ | | “ | |
| 4-4-2007 | Grupo capturado día anterior | 15 (7/8) | 15:50 - 18:00* | lugar 7 | lugar 7 | 7.6 | 44° | 10:30 - 12:30 |
| | Grupo capturado día de ensayos | 14 (13/1) | 6:15- 8:00 | hogar | “ | | “ | |
| 14-4-2007 | Grupo capturado día anterior | 15 (8/7) | 15:00 - 16:10* | lugar 8 | lugar 8 | 7.3 | 224° | 11:00 - 13:40 |
| | Grupo capturado día de ensayos | 15 (8/7) | 6:40 - 9:00 | hogar | “ | | “ | |
| 25-5-2005 | Grupo A | 20 (13/7) | 16:00 – 18:40* | lugar 6 | lugar 6 | 11.9 | 101° | 9:30 - 17:50 |
| | Grupo B | 19 (9/10) | (captura conjunta día anterior) | lugar 4 | “ | | | |

Tabla 4.4 Resumen de datos metodológicos correspondientes a los experimentos con tritones del medio acuático 4 (ensayos diurnos y bajo campo magnético ambiental)

La distancia y el rumbo de regreso al hogar mostrados corresponden al lugar de experimentación donde se realizaron los ensayos de orientación. Las horas (GMT) de captura marcadas con asterisco (*) corresponden al día anterior a la fecha de ensayos. ** Los ensayos del 16 de mayo de 2005 se realizaron en un día de condiciones ambientales variables, con cielo encapotado la mayor parte del tiempo y momentos puntuales de lluvia que obligaron a interrumpir los ensayos en varios momentos (de 11:30 a 12:30, 14:20 a 15:20 y 16:50 a 17:30 GMT, coincidiendo con los periodos de lluvia), prosiguiéndose el experimento cuando la lluvia había cesado por completo.

- Lugares 3, 4, 7 y 8

Los ensayos de orientación diurna de regreso al hogar en estos lugares de experimentación se realizaron en fechas diferentes durante las horas centrales del día (ver tabla 4.4). Tal como se ha mencionado, en cada experimento se comparó la orientación de un grupo de tritones capturado el día anterior con otros tritones



capturados la misma mañana de ensayos y que sólo permanecieron en el lugar de experimentación durante dos horas antes de los ensayos. El protocolo de experimentación seguido fue el general descrito con anterioridad y los tritones tuvieron acceso a las señales ambientales presentes en el lugar de ensayos durante el tiempo que pasaron allí. Los ensayos se realizaron registrándose las respuestas direccionales de cada grupo experimental de forma alterna (es decir, primero era ensayado un individuo que había pasado la noche en el lugar, luego otro capturado el mismo día, etc.). En todos los experimentos la arena circular de ensayos permaneció completamente a la sombra durante todo momento, evitándose así posibles asimetrías en la distribución de luz sobre su superficie. Por otra parte, en días de alta temperatura ambiental los tanques de mantenimiento de los tritones fueron asimismo sombreados durante las horas centrales del día con el objetivo de evitar un calentamiento excesivo del agua. El experimento en el lugar n° 3 se llevó a cabo en un día nublado con momentos puntuales de lluvia (ver tabla 4.4) y viento variable, con rachas de dirección Este mayoritarias. Las condiciones ambientales durante el experimento en el lugar n° 4 fueron de cielo despejado y aire en calma y de cielo nublado y brisa suave de dirección suroeste para el caso del realizado en el lugar n° 7. Por último, el experimento llevado a cabo en el lugar n° 8 se realizó en un día soleado con brisa suave del sur.

- Lugar 6

En el caso de los ensayos de orientación diurna bajo campo magnético ambiental llevados a cabo en el lugar n° 6 los dos grupos experimentales empleados estuvieron constituidos por tritones capturados durante el día anterior a la realización de los ensayos. La diferencia entre grupos experimentales, en este caso, radicó en el lugar en el que cada grupo de tritones pasó la noche previa al comienzo de los ensayos de orientación. Así, inmediatamente tras la captura, un primer grupo de tritones (grupo “A”, tabla 4.4) fue transportado, siguiendo el protocolo habitual de desplazamiento en oscuridad, directamente al lugar de experimentación n° 6 (a 11.9 km de distancia y con un rumbo de regreso al pilón de 101°; ver figura 4.14), donde pasó la noche y donde se realizaron los ensayos de orientación al día siguiente. Por otra parte, un segundo grupo de tritones (“B”) fue transportado (también en condiciones de oscuridad total) al lugar de experimentación n° 4 (3.1 km de distancia y un rumbo de regreso al pilón de 319°), donde pasó la noche. Ambos grupos fueron mantenidos durante la noche en tanques que



permitieron el acceso a las señales celestes (noche de luna llena) y al campo magnético ambiental. A la mañana siguiente, antes del comienzo de los ensayos de orientación, el grupo de tritones “B” fue recogido del lugar nº 4 y trasladado al lugar nº 3 (ver figura 4.14), donde los animales permanecieron durante dos horas, tiempo tras el cual se estudió la conducta de orientación de los tritones pertenecientes a ambos grupos experimentales siguiendo el protocolo habitual. Los ensayos de orientación se realizaron alternando tritones pertenecientes a uno y otro grupo experimental, bajo condiciones ambientales de cielo despejado y viento en calma.

C) Orientación bajo campo magnético alterado [lugar 3]

Para contrastar el uso del vector geomagnético, probado en otras poblaciones de tritones ibéricos, en la conducta de navegación de la población del medio acuático nº 4, se realizaron una serie de experimentos con ensayos bajo condiciones de campo magnético alterado empleando cuatro alineamientos magnéticos (ver sección II-3). La orientación magnética de los tritones fue estudiada durante ensayos nocturnos y diurnos, en algunos casos tras mantenimiento previo de los animales en una localización distinta al lugar de ensayos (en la tabla 4.5 se resumen algunos datos metodológicos). Los ensayos se realizaron todos al aire libre y en un mismo lugar de experimentación (lugar nº 3, jardín privado situado en 40° 34' 32" N, 5° 55' 7" O, a 2.8 km del pilón de origen de los tritones y con un rumbo de regreso al hogar de 262°; ver figura 4.11).



| Orientación bajo campo magnético alterado por tritones del medio acuático n° 4 | | | | | | | |
|--|---------------------------|------------|----------------|-------------------|---------------|-------------|---------------|
| Condición experimento | Fecha ensayos | <i>n</i> | Hora captura | Paso noche | Rumbo regreso | Km al hogar | Hora ensayos |
| - Ensayos nocturnos tras transporte directo en oscuridad | Noche del 9 al 10-5-2005 | 30 (19/11) | 18:45 - 19:50 | x | 262° | 2.8 | 22:30 – 3:10 |
| - Ensayos diurnos tras paso de noche en el mismo lugar | 28-4-2006 | 24 (14/10) | 16:00 – 18:00* | lugar 3 (ensayos) | ‘‘ | ‘‘ | 15:30 – 18:10 |
| - Ensayos diurnos tras paso de noche en otro lugar | 8-5-2006 | 21 (12/9) | 15:00 – 17:30* | lugar 5 (344°) | ‘‘ | ‘‘ | 14:10 – 16:10 |
| - Ensayos nocturnos tras paso de 24 horas en otro lugar | Noche del 24 al 25-5-2006 | 22 (14/8) | 16:30 – 18:45* | Lugar 5** (344°) | ‘‘ | ‘‘ | 21:30 – 0:20 |

Tabla 4.5 Resumen de datos metodológicos correspondientes a los experimentos de orientación magnética realizados con tritones del medio acuático 4

Todos los ensayos se realizaron en el lugar n° 3 y la distancia y el rumbo de regreso al hogar mostrados en la correspondiente columna son los de ese lugar de ensayos. Si los tritones fueron previamente mantenidos en otro lugar se indica también el rumbo de regreso al hogar correspondiente al lugar de mantenimiento nocturno en la columna "paso noche". Las horas (GMT) de captura marcadas con asterisco (*) corresponden al día anterior a la fecha de ensayos. **: mantenimiento en el lugar 5 durante aproximadamente 24 horas (noche del día 23 de mayo y día siguiente hasta el anochecer)

- Orientación nocturna tras transporte directo en oscuridad

Durante la noche del 9 al 10 de mayo de 2005 se llevó a cabo un primer estudio de la respuesta de orientación magnética, tras un transporte directo desde el pilón hasta el lugar de ensayos, donde los tritones permanecieron durante las habituales dos horas. El experimento se realizó durante una noche de cielo parcialmente nublado y luna no visible en ningún momento, rachas de viento de dirección variable y temperatura ambiental entre 14 y 10 °C.

- Orientación diurna tras paso de noche en el lugar de ensayos

Como complemento al experimento con ensayos diurnos bajo campo magnético ambiental en el lugar n° 3 (ver anteriormente), se realizaron unos ensayos de orientación también durante las horas de luz solar pero utilizando cuatro alineamientos de campo magnético. Este experimento se llevó a cabo en un día de cielo despejado, rachas de viento moderado de dirección Este y una temperatura ambiental entre 16 y 14 °C, con tritones que habían pasado la noche previa en el lugar de ensayos (tabla 4.5).





- Orientación diurna tras paso de noche en otro lugar

Con el objetivo de determinar la influencia de las medidas de mapa de navegación tomadas durante la noche sobre la orientación magnética seguida por los tritones, se llevó a cabo un experimento en el que los ejemplares estudiados fueron mantenidos durante la noche previa a los ensayos en una localización diferente al lugar de experimentación (ver figura 4.15). A la mañana siguiente los tritones fueron recogidos y transportados al lugar nº 3, donde se ensayó su conducta de orientación magnética tras tres horas y media de permanencia en ese lugar. El cielo permaneció altamente nublado durante los ensayos y la temperatura ambiental osciló entre 19 y 20 °C, existiendo viento moderado de dirección oeste.

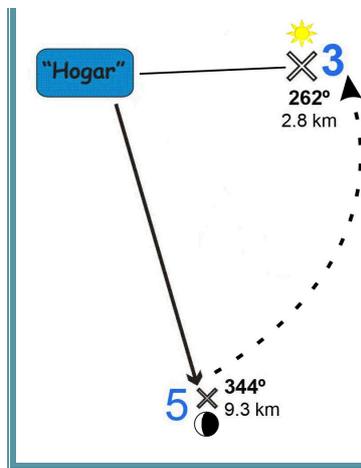


Figura 4.15 Esquema de la localización de los lugares empleados y protocolo de transporte seguido en el experimento realizado el día 8 de mayo de 2006

Los tritones estudiados pasaron la noche previa a los ensayos de orientación en el lugar nº 5, para posteriormente ser trasladados a la mañana siguiente al lugar nº 3 (representado por la línea punteada), donde su respuesta de orientación magnética fue estudiada durante horas de luz solar.

- Orientación nocturna tras paso de 24 horas en otro lugar

En un último experimento, se estudió la orientación de regreso al medio acuático de un grupo de tritones ibéricos capturado 24 horas antes del inicio de los ensayos de orientación. En este caso los tritones fueron ensayados durante la noche en el lugar de experimentación nº 3, tras haber pasado el día y la noche anterior en una localización distinta (lugar nº 5, ver figura 4.16). Los ensayos de orientación magnética se realizaron tras 2 horas de permanencia en el lugar nº 3, bajo condiciones ambientales de cielo estrellado y luna novisible, viento en calma con puntuales rachas ligeras de dirección variable y una temperatura ambiental entre 12 y 11 °C.

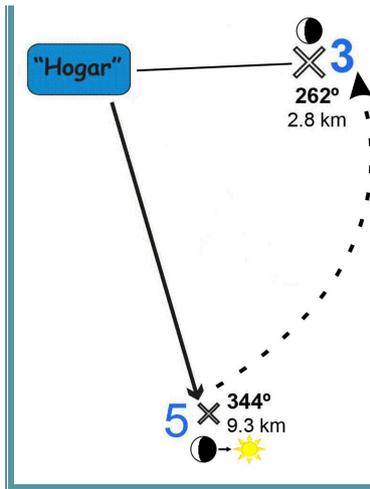


Figura 4.16 Esquema de la localización de los lugares empleados y protocolo de transporte seguido en el experimento realizado la noche del 24 de mayo de 2006

En este caso, los tritones estudiados pasaron un día completo en el lugar nº 5 (noche del 23 de mayo y horas de luz solar del día siguiente) antes de ser trasladados al lugar nº 3 (línea punteada), donde se estudió su respuesta de orientación magnética durante las horas nocturnas.

3.2 Resultados

A) Orientación nocturna bajo campo magnético ambiental

- Transporte con acceso libre a señales direccionales [lugares 1, 2]

Los rumbos tomados por los tritones ensayados en las cercanías del medio acuático (lugares de experimentación 1 y 2), tras un transporte en línea recta con acceso a señales ambientales magnéticas y celestes se distribuyen siguiendo una dirección de orientación preferente. Los tritones ensayados en el lugar 1 siguieron un rumbo medio de 92.296° (tabla 4.6), coherente con la respuesta esperada de regreso al hogar (dirección de regreso incluida en los intervalos de confianza del 95% para la media y test de la V con resultados significativos; ver tabla 4.6, página 188). Desde el lugar de ensayos nº 2, los tritones tomaron una distribución de rumbos con un vector medio de 266.83° , igualmente coherente con el rumbo de regreso al hogar desde ese lugar (tabla 4.6). La comparación de las distribuciones de rumbos de orientación obtenidas en ambos lugares de ensayos, 1 y 2, utilizando el test de Watson- U^2 confirma que ambas distribuciones son significativamente diferentes ($U^2=0.525$, $p < 0.001$, figura 4.17). En ambos experimentos los machos ensayados mostraron una orientación de regreso al hogar de concentración similar a la observada en las hembras pero estadísticamente más significativa, posiblemente debido a diferencias en los tamaños muestrales, tanto en el lugar nº 1 (distribución de rumbos de tritones machos con vector medio de 77.741° , $r = 0.535$, $n = 20$, test de Rayleigh: $p = 0.002$; distribución de rumbos de tritones hembras



con vector medio de 128.81° , $r = 0.411$, $n = 11$, $p = 0.157$) como en el lugar nº 2 (distribución de rumbos de tritones machos con vector medio de 285.407° , $r = 0.506$, $n = 16$, $p = 0.014$; distribución de rumbos de tritones hembras con vector medio de 266.377° , $r = 0.524$, $n = 9$, $p = 0.081$).

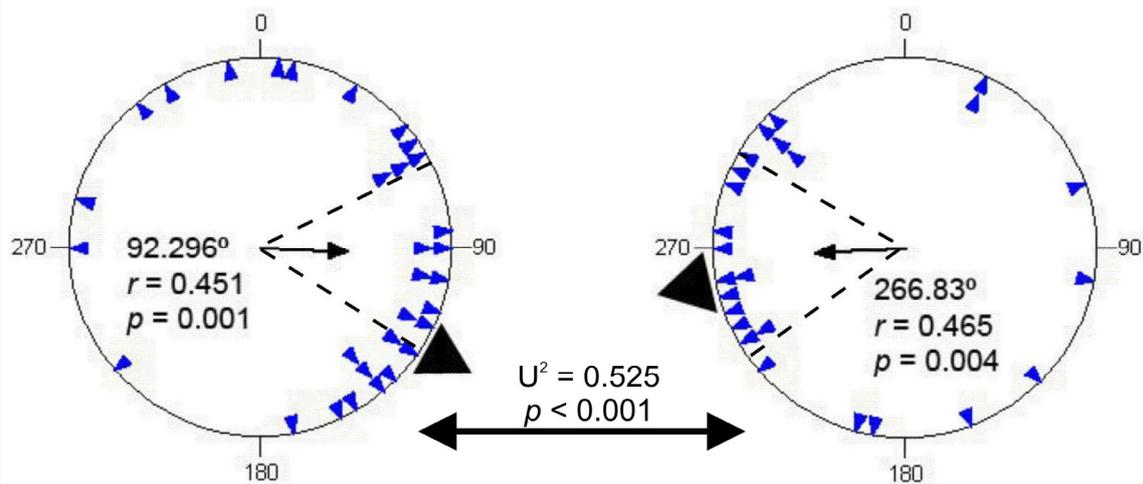


Figura 4.17 Orientación nocturna bajo campo magnético ambiental tras desplazamiento con acceso a señales celestes y magnéticas en tritones del medio acuático nº 4

Comparación de distribuciones de rumbos de regreso al hogar de tritones ensayados en dos lugares de experimentación distintos. Izquierda: Rumbos de orientación obtenidos en el lugar de ensayos nº 1 (experimento realizado la noche del 14 de mayo de 2004). **Derecha:** Orientación desde el lugar de ensayos nº 2 (25 de marzo de 2005). / Se sigue la simbología habitual y se muestran los resultados del test de Watson-U²

- Transporte en oscuridad total [lugares 1, 2, 7, 8]

Los rumbos de los tritones transportados hacia los lugares de experimentación en condiciones de oscuridad total y sin acceso a ningún tipo de estímulo direccional siguen mostrando distribuciones que se alejan de la uniformidad de acuerdo a los análisis estadísticos empleados. Sin embargo, la respuesta de orientación de regreso al hogar obtenida tras estas condiciones de desplazamiento resulta netamente diferente dependiendo del lugar de realización de los ensayos. Así, a diferencia de lo encontrado tras un transporte con acceso a señales ambientales, en los lugares de experimentación 1 y 2 (con rumbos de regreso al hogar de 120° y 258°) se obtuvieron en este caso distribuciones de rumbos de orientación de tipo bimodal, con los tritones ensayados orientándose a lo largo de un eje medio que incluye el rumbo de regreso al pión correspondiente pero también el sentido opuesto. En cambio, los mismos tritones



mantuvieron la orientación unimodal de regreso al hogar habitual al ser ensayados en los lugares 7 y 8 (con rumbos de regreso de 44° y 224°; figura 4.18).

Los tritones transportados en oscuridad hacia el lugar n° 1 tomaron rumbos de orientación de distribución no uniforme, con cierta tendencia hacia el rumbo de regreso al hogar, pero estadísticamente no significativa si consideramos los datos como rumbos angulares de distribución unimodal ($p = 0.052$, test de Rayleigh). Sin embargo, la repetición de los análisis considerando los datos como axiales da como resultado una alta significación estadística (ver resultados estadísticos en la tabla 4.6, página 188), indicando que los tritones se orientan a lo largo de un eje medio de 120.836°-300.836° que incluye en sus intervalos de confianza tanto el rumbo de regreso al hogar (120°) como el rumbo exactamente opuesto. El test de la V frente a la dirección de regreso esperada aplicado a esta distribución bimodal también arroja resultados significativos ($p = 2.67 \times 10^{-4}$). Por otra parte, los resultados obtenidos en el experimento realizado en el lugar n° 2 son análogos a los registrados en el lugar n° 1, con una distribución de datos angulares cercana a la significación estadística ($p = 0.053$, test de Rayleigh para distribución unimodal) pero los rumbos se ajustan mejor a una distribución de tipo bimodal de eje medio 76.008°-256.008°, de nuevo con intervalos de confianza del 95% que incluyen el rumbo de regreso de 257° y la dirección opuesta y con resultados estadísticamente significativos tanto en el test de Rayleigh para datos axiales como al aplicar el test de la V frente a la dirección de regreso al hogar esperada (tabla 4.6).

Los rumbos de los tritones ensayados en el lugar n° 7 tras transporte en oscuridad siguen en su caso una distribución claramente unimodal con rumbos de orientación concentrados en torno a la dirección de regreso al hogar de 44° (tabla 4.6). Los intervalos de confianza del 95% para la media y los resultados del test de la V confirman asimismo la respuesta de regreso al medio acuático. De manera similar, los tritones ensayados en el lugar n° 8 tras transporte en oscuridad siguen también una distribución de rumbos unimodal hacia la dirección de regreso al pilón (224° en este caso; tabla 4.6).

Los análisis de los resultados en función del sexo de los tritones ensayados no muestran ninguna tendencia global común a todos los experimentos realizados. Así, en el experimento realizado en el lugar 1 tanto machos como hembras siguieron rumbos de orientación bimodal, siendo la distribución correspondiente a las hembras ensayadas más



concentrada que la de los machos (distribución de rumbos de tritones machos con eje medio de 125.07° - 205.07° , $r = 0.293$, $n = 22$, test de Rayleigh: $p = 0.152$; distribución de rumbos de tritones hembras con eje medio de 117.4° - 297.4° , $r = 0.61$, $n = 13$, $p = 0.006$). Sin embargo, los rumbos de los machos ensayados en el lugar 2 se ajustan mejor a una distribución bimodal que los de las hembras (rumbos de tritones machos con eje medio de 86.826° - 266.826° , $r = 0.547$, $n = 21$, $p = 0.001$; rumbos de tritones hembras con eje medio de 56.418° - 236.418° , $r = 0.479$, $n = 14$, $p = 0.037$), los cuales muestran una tendencia unimodal clara hacia la dirección de regreso al hogar (vector medio de 217.638° , $r = 0.578$, $p = 0.007$). Por otra parte, las distribuciones de rumbos de orientación separadas por sexos obtenidas en el lugar 7 y 8 son similares a las distribuciones de rumbos globales y no existen grandes diferencias entre los rumbos tomados por machos (experimento en el lugar n° 7: vector medio de 39.905° , $r = 0.558$, $n = 18$, $p = 0.003$; experimento en el lugar n° 8: vector medio de 245.515° , $r = 0.409$, $n = 17$, $p = 0.056$) y los seguidos por tritones hembras (lugar n° 7: vector medio de 39.351° , $r = 0.591$, $n = 10$, $p = 0.026$; lugar n° 8: vector medio de 242.908° , $r = 0.341$, $n = 11$, $p = 0.285$).

Debido a la diferente orientación de los lugares de experimentación 1, 2, 7 y 8 respecto al pilón de origen de los tritones, las distribuciones de rumbos resultantes de los cuatro experimentos realizados bajo campo magnético ambiental nocturno y con transporte en oscuridad son en todos los casos significativamente diferentes entre sí, de acuerdo a los resultados del test de Watson- U^2 (ver figura 4.18).

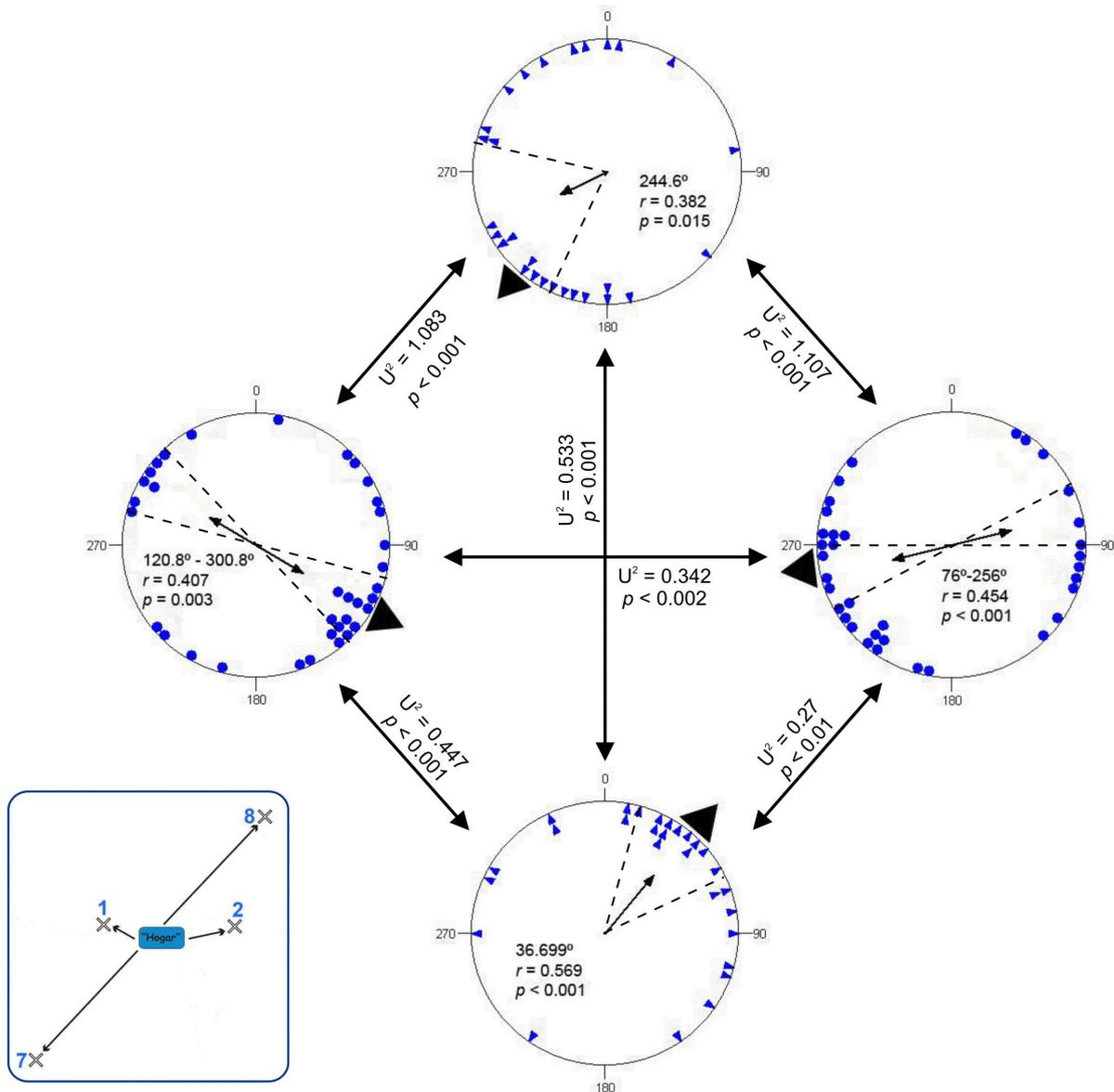


Figura 4.18 Orientación nocturna bajo campo magnético ambiental tras desplazamiento en oscuridad total, en tritones del medio acuático nº 4

Comparación de distribuciones de rumbos de regreso al hogar de tritones ensayados en cuatro lugares de experimentación distintos (lugares 1, 2, 7 y 8, cuya posición respecto al hogar de origen de los tritones se indica en el mapa de la esquina inferior izquierda). **Izquierda:** Rumbos de orientación obtenidos en el lugar de ensayos nº 1 (experimento del 19 de mayo de 2004). **Derecha:** Orientación desde el lugar de ensayos nº 2 (12 de abril de 2005). **Arriba:** Orientación desde el lugar de ensayos nº 8 (19 de marzo de 2007). **Abajo:** Orientación desde el lugar de ensayos nº 7 (11 de marzo de 2007). En todos los diagramas circulares se sigue la simbología habitual. Los datos axiales (rumbos de orientación bimodal) se indican como círculos azules, mientras que los datos angulares se muestran como puntas de flecha azules. Se muestran asimismo los resultados de los tests de Watson-U² aplicados a la comparación de cada una de las distribuciones de datos.



- Transporte con visión del cielo y campo magnético alterado [lugar 1]

Los tritones ibéricos capturados en el medio acuático número 4 y transportados hacia el lugar de experimentación n° 1 (120° de rumbo de regreso al hogar) en condiciones de acceso visual a señales celestes pero campo magnético alterado durante el desplazamiento siguieron rumbos de distribución bimodal, al igual que lo encontrado tras un transporte realizado en condiciones de oscuridad total. Los tritones se orientaron de forma estadísticamente significativa hacia los dos extremos de un eje medio de 107.975°-287.97° (tabla 4.6). Si bien en este caso particular la dirección de regreso al hogar (120°) no resulta, por menos de un grado, incluida en los intervalos de confianza del 95% para la media (96.046°-119.204°, 276.046°-299.204°), sí que se incluye sin embargo en los intervalos de confianza del 99% (92.298°-123.651°, 272.298°-303.651°, figura 4.19). Teniendo en cuenta esto, conjuntamente con los resultados significativos obtenidos al aplicar el test de la V a la dirección de regreso al hogar ($p = 1.18 \times 10^{-5}$) y a las respuestas obtenidas en otros experimentos, podemos por lo tanto considerar que esta orientación bimodal se trata nuevamente de una respuesta especial de regreso al hogar. Por último, los análisis estadísticos aplicados en función del sexo de los individuos estudiados muestran en este caso una mayor concentración y significación en la distribución bimodal correspondiente a los machos (eje medio de 103.563°-283.563°, $r = 0.773$, $n = 12$, test de Rayleigh para datos axiales: $p = 2.18 \times 10^{-4}$) que en la correspondiente a las hembras (eje medio de 116.622°-296.622°, $r = 0.479$, $n = 10$, $p = 0.099$).

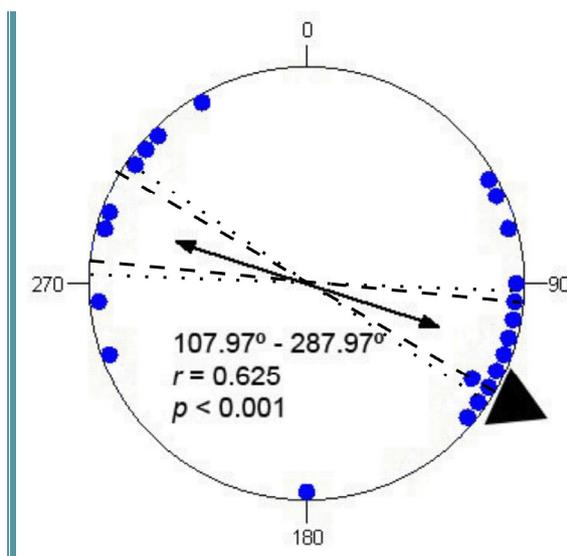


Figura 4.19 Orientación nocturna bajo campo magnético ambiental tras desplazamiento con acceso a señales celestes pero campo magnético alterado, en tritones del medio acuático n° 4 (noche del 3 de junio de 2006).

Se indican en este caso tanto los intervalos de confianza del 95% (líneas discontinuas) como los intervalos de confianza del 99% para la media (líneas punteadas).



| Orientación nocturna bajo campo magnético ambiental por tritones del medio acuático nº 4 | | | | | | | | |
|--|-------|---------------|---------------------|----------|----------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|
| Tipo transporte | Lugar | Rumbo regreso | Vector medio | <i>r</i> | <i>n</i> | <i>p</i> (Rayleigh) | IC 95% | <i>p</i> (V test) |
| Acceso libre a señales | 1 | 120° | 92.296° | 0.451 | 31 | 0.001 | 62.428° - 122.164° | 7.79 x 10 ⁻⁴ |
| | 2 | 258° | 266.83° | 0.465 | 25 | 0.004 | 234.658° - 299.002° | 4.54 x 10 ⁻⁴ |
| Oscuridad | 1 | 120° | 120.836° - 300.836° | 0.407 | 35 | 0.003 | 105° - 137° / 285° - 317° | 2.67 x 10 ⁻⁴ |
| | 2 | 258° | 76.008° - 256.008° | 0.454 | 35 | 5.51 x 10 ⁻⁴ | 62° - 89° / 242° - 269° | 0.013 |
| | 7 | 44° | 36.699° | 0.569 | 28 | 5.6 x 10 ⁻⁵ | 15.844° - 63.544° | 4.88 x 10 ⁻⁶ |
| | 8 | 224° | 244.602° | 0.382 | 28 | 0.015 | 206.85° - 282.355° | 0.003 |
| Visión del cielo y c magn. alterado | 1 | 120° | 107.975° - 287.97° | 0.625 | 22 | 8.12 x 10 ⁻⁵ | 96°-119° / 276°-299° * | 1.18 x 10 ⁻⁵ |

Tabla 4.6 Resultados estadísticos correspondientes a los experimentos con tritones del medio acuático 4 (ensayos nocturnos y bajo campo magnético ambiental)

Se indica el lugar de ensayos siguiendo los códigos numéricos habituales, así como el vector medio de orientación (o eje medio en casos de distribuciones bimodales) y otros resultados estadísticos. Los resultados del test de la V corresponden a los análisis realizados frente al rumbo de regreso. * En el experimento realizado tras transporte con visión libre del cielo pero campo magnético alterado los intervalos de confianza del 95% para la media no incluyen el rumbo de regreso esperado, pero este sí se haya incluido en los intervalos de confianza del 99% (92.298-123.651°, 272.298°-303.651°; ver texto para más detalles). La tabla 4.3 (página 170) incluye un resumen de datos metodológicos correspondientes a estos experimentos.

B) Orientación diurna bajo campo magnético ambiental

- Lugares 3, 4, 7 y 8

En los experimentos de orientación diurna empleando varios grupos experimentales de tritones procedentes del medio acuático nº 4 obtuvimos una respuesta similar a la encontrada en otras poblaciones de tritón ibérico; es decir, aquellos individuos capturados unas horas antes de los ensayos, y que no pudieron pasar la noche en el lugar de experimentación, fueron incapaces de orientarse correctamente de regreso al hogar y siguieron rumbos de distribución aleatoria, mientras que los tritones capturados la tarde anterior al día de ensayos tomaron rumbos de distribuciones



estadísticamente significativas. Sin embargo, el tipo de respuesta de regreso al hogar en los grupos de tritones que pasaron la noche en el lugar de ensayos fue diferente dependiendo de la orientación del lugar de experimentación respecto al hogar. Los tritones desplazados a los lugares de experimentación 3 y 4 (con rumbos de regreso al hogar de 262° y 319°, respectivamente) y mantenidos en esos lugares toda la noche se orientaron al día siguiente siguiendo distribuciones de rumbos bimodales, mientras que siguieron una orientación unimodal típica hacia el medio acuático al ser ensayados tras pasar la noche en los lugares 7 y 8 (44° y 224° de rumbos de regreso al hogar; ver figura 4.22, página 193).

Los tritones mantenidos durante la noche en el lugar de ensayos n° 3 se orientaron al día siguiente siguiendo una distribución de rumbos estadísticamente significativa con eje medio de 89.272°-269.272°, cuyos intervalos de confianza del 95% incluyen el rumbo de regreso al hogar y el rumbo opuesto (tabla 4.7, página 196; figura 4.20 3.B). Sin embargo, los tritones desplazados al lugar de experimentación n° 3 dos horas antes del comienzo de los ensayos siguieron rumbos de distribución no significativa ($p = 0.148$, figura 4.20 3.A). Los tritones ensayados en lugar n° 4, por su parte, se comportaron de manera análoga: aquellos que pasaron la noche previa en el lugar de ensayos siguieron un eje de orientación bimodal significativa con intervalos de confianza del 95% incluyendo el rumbo de regreso al hogar (tabla 4.7; figura 4.20 4.B), mientras que los capturados el mismo día de los ensayos tomaron distribuciones de rumbos uniformes o aleatorias ($p = 0.537$, figura 4.20 4.A). Por otra parte, los análisis por separado de los rumbos tomados por tritones machos y hembras que pasaron la noche en el lugar de ensayos dan como resultado un mantenimiento de la tendencia bimodal en ambos sexos, si bien la distribución de datos resulta más concentrada en las hembras que en los machos, tanto la correspondiente al lugar n° 3 (distribución de rumbos de machos con eje medio de 93.354°-273.354°, $r = 0.493$, $n = 13$, $p = 0.039$; distribución de rumbos de hembras con eje medio de 84.899°-264.899°, $r = 0.665$, $n = 9$, $p = 0.014$) como al lugar n° 4 (rumbos de machos con eje medio de 159.867°-339.867°, $r = 0.35$, $n = 13$, $p = 0.207$; distribución de rumbos de hembras con eje medio de 128.969°-308.969°, $r = 0.701$, $n = 9$, $p = 0.008$).

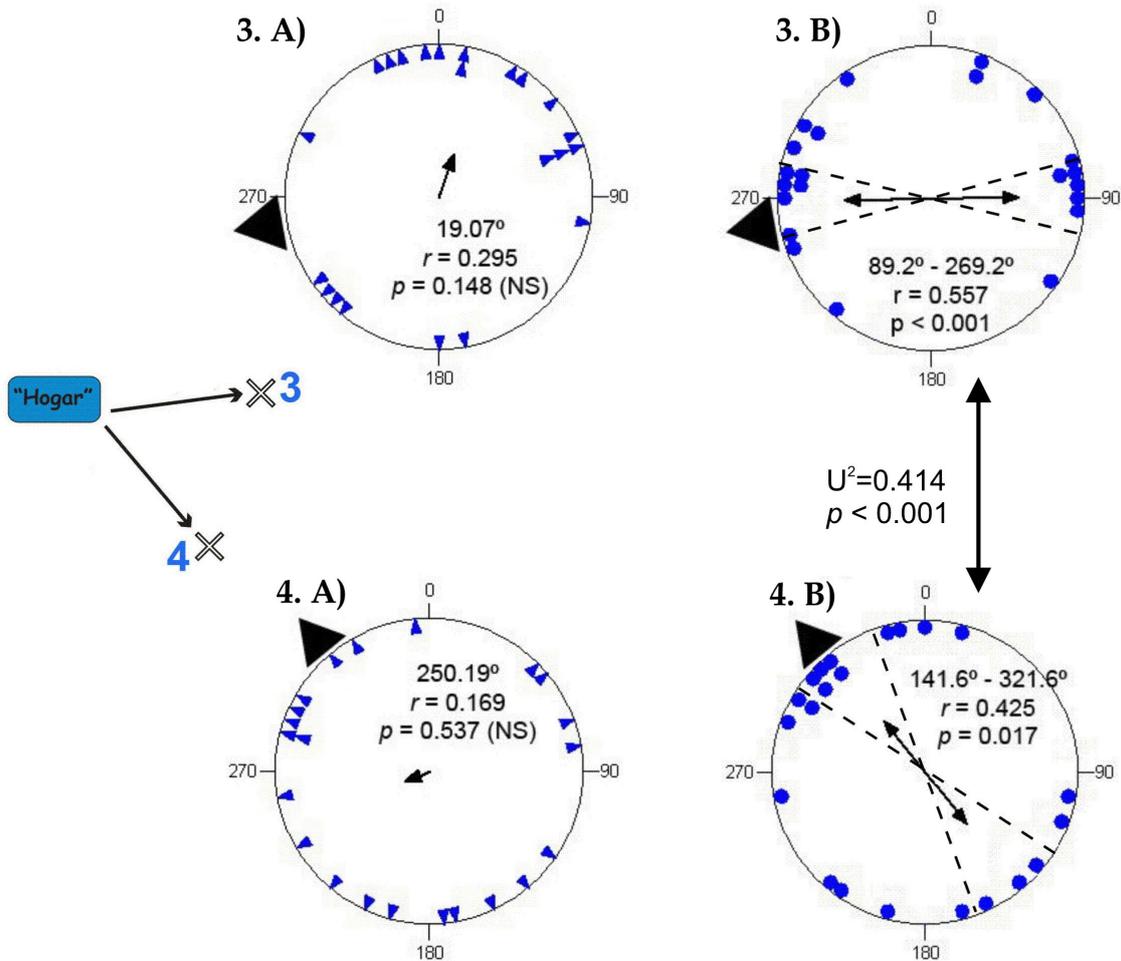


Figura 4.20 Respuestas de orientación diurna bajo campo magnético ambiental seguidas por tritones del medio acuático n° 4 en los lugares de experimentación 3 y 4

(experimentos con ensayos el 16 y el 18 de mayo de 2005)

Los diagramas circulares superiores (3.A-3.B) corresponden a los animales ensayados en el lugar de experimentación número 3, mientras que los diagramas inferiores (4.A-4.B) corresponden a los ensayos realizados en el lugar número 4 (la localización relativa de ambos lugares de ensayos respecto al hogar de procedencia de los tritones está indicada en el esquema mostrado a la izquierda). Por otra parte, para cada lugar de experimentación, los diagramas de la izquierda (grupos "A") corresponden a los tritones capturados el mismo día de los ensayos, mientras que los diagramas de la derecha (grupos "B") corresponden a los tritones capturados el día anterior y que pasaron la noche en el mismo lugar en el que fueron ensayados. Se muestran los resultados del test de Watson- U^2 para la comparación entre las distribuciones de rumbos seguidas por tritones que pasaron la noche en uno y otro lugar de experimentación.

Los tritones ensayados en el lugar de experimentación n° 7 tras pasar allí la noche previa se orientaron de forma unimodal y estadísticamente significativa hacia la dirección de regreso al hogar esperada de 44° (tabla 4.7, página 196), incluida en los intervalos de confianza del 95% para la media (figura 4.21 7.B). Por otra parte, el grupo de tritones capturados el mismo día de los ensayos siguió de nuevo una distribución de



rumbos aleatoria, estadísticamente no significativa ($p = 0.069$, figura 4.21 7.A). En el lugar nº 8 los dos grupos experimentales de tritones siguieron respuestas similares a las encontradas en el lugar 7, con una orientación unimodal estadísticamente significativa hacia el rumbo de regreso de 224° en aquellos tritones que pasaron la noche en el lugar de experimentación (tabla 4.7, figura 4.21 8.B) y una distribución de rumbos aleatoria para los tritones capturados en la mañana de ensayos ($p = 0.066$, figura 4.21 8.A). Por último, los análisis de los rumbos seguidos por tritones que pasaron la noche en el lugar de ensayos en función del sexo de los individuos muestran una mayor concentración en la dispersión de rumbos correspondiente a las hembras, tanto en los ensayos del lugar 7 (distribución de rumbos de machos con vector medio de 38.985° , $r = 0.298$, $n = 7$, $p = 0.555$; distribución de rumbos de hembras con vector medio de 29.633° , $r = 0.631$, $n = 7$, $p = 0.056$) como en los realizados en el lugar 8 (distribución de rumbos de machos con vector medio de 204.879° , $r = 0.202$, $n = 8$, $p = 0.735$; distribución de rumbos de hembras con vector medio de 214.264° , $r = 0.831$, $n = 7$, $p = 0.004$).

En conjunto, todos los tritones cuya respuesta direccional fue estudiada en los cuatro lugares de experimentación (3, 4, 7 y 8) tras un mantenimiento nocturno en el lugar mostraron una orientación estadísticamente significativa que puede considerarse una respuesta de regreso al hogar, bien fueran respuestas de orientación unimodales típicas concentradas hacia la dirección de regreso (grupos mantenidos en los lugares 7 y 8) o respuestas de tipo bimodal (lugares 3 y 4). Al tratarse de respuestas específicas de regreso al hogar dependientes de la orientación de cada lugar de experimentación, los rumbos y ejes medios de orientación seguidos por estos grupos de tritones desde cada lugar de ensayos fueron significativamente diferentes entre sí, tal y como muestran los resultados de los tests de Watson- U^2 aplicados (ver figura 4.22: comparación entre respuestas de orientación hacia el hogar en función del lugar de ensayos utilizado).

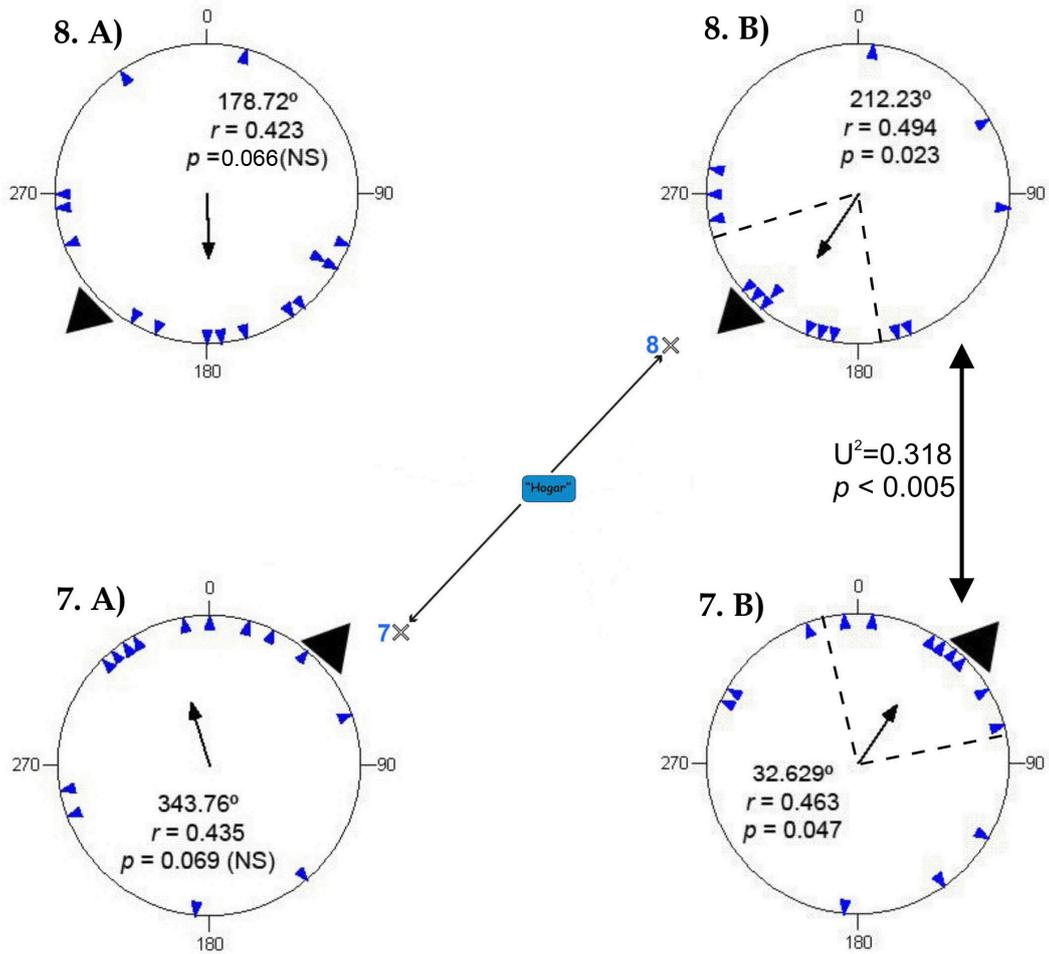


Figura 4.21 Respuestas de orientación diurna bajo campo magnético ambiental seguidas por tritones del medio acuático n° 4 en los lugares de experimentación 7 y 8

(experimentos con ensayos el 4 y el 14 de abril de 2007)

Los diagramas circulares superiores (8.A-8.B) corresponden a los animales ensayados en el lugar de experimentación número 8, mientras que los inferiores (7.A-7.B) corresponden a los ensayos realizados en el lugar número 4 (la localización relativa de ambos lugares de ensayos respecto al hogar de procedencia de los tritones está indicada en el esquema mostrado en el centro de la figura). Por otra parte, para cada lugar de experimentación, los diagramas de la izquierda (grupos "A") corresponden a los tritones capturados el mismo día de los ensayos, mientras que los diagramas de la derecha (grupos "B") corresponden a los tritones capturados el día anterior y que pasaron la noche en el mismo lugar en el que fueron ensayados.

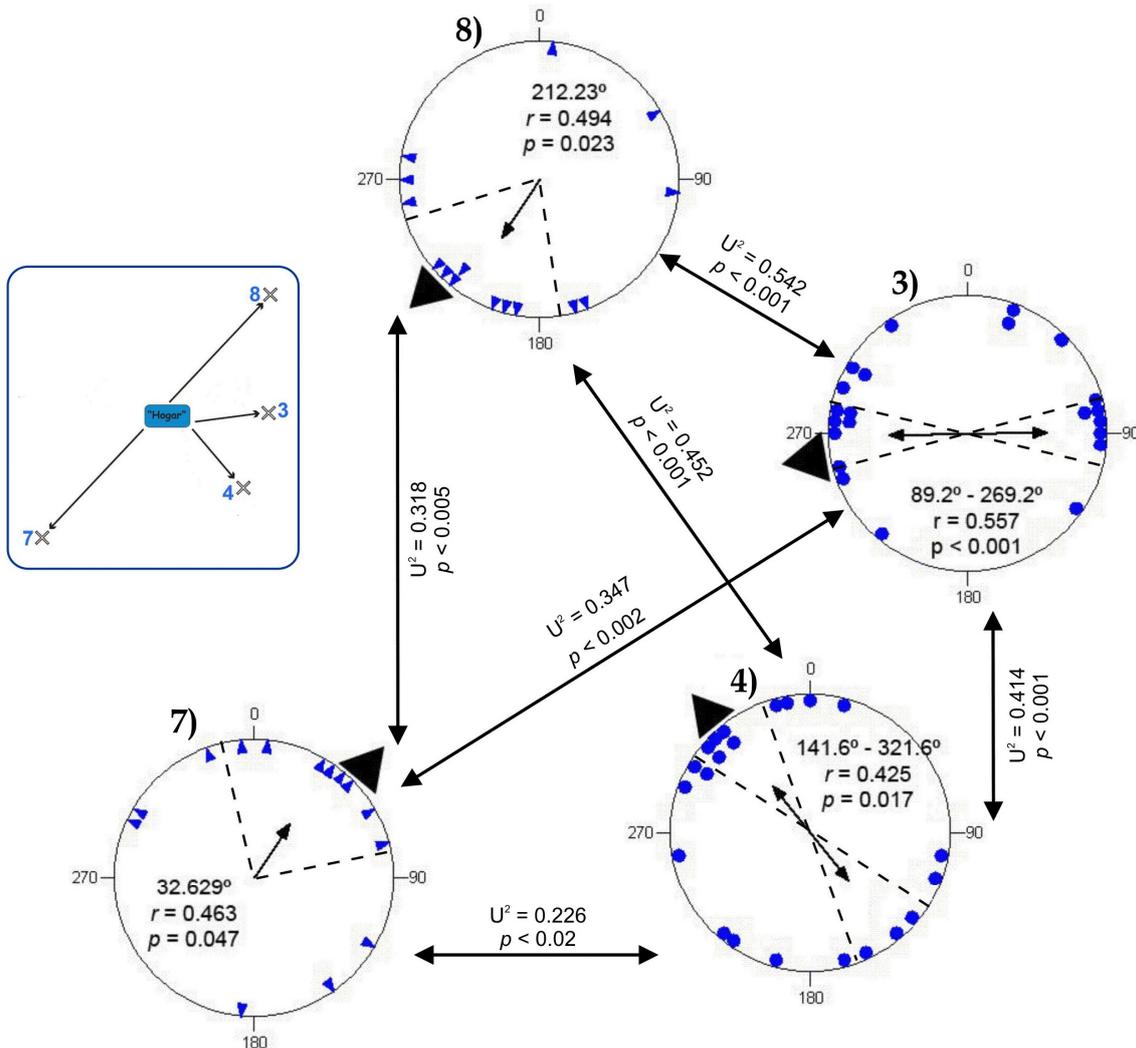


Figura 4.22 Orientación diurna bajo campo magnético ambiental de tritones del medio acuático n° 4 en cuatro lugares de experimentación tras mantenimiento nocturno previo

Se muestran los resultados del test de Watson-U² para las comparaciones entre las respuestas obtenidas en cada lugar de ensayos (lugares 3, 4, 7 y 8, cuya posición relativa respecto al hogar se indica en el mapa esquemático de la izquierda). Los diagramas circulares se presentan numerados de acuerdo al lugar de experimentación al que corresponden.

- Lugar 6

Los tritones ensayados en el lugar n° 6 siguieron rumbos coincidentes con la dirección de regreso al pilón correspondiente al lugar donde pasaron la noche (figura 4.23). Aquellos tritones que pasaron la noche (13 horas antes del comienzo de los ensayos) en el mismo lugar donde se realizaron los ensayos de orientación (lugar n° 6, a 11.9 km de distancia y 101° de rumbo de regreso al pilón) se orientaron de forma mayoritaria hacia la dirección de regreso al hogar prevista (figura 4.23A). Así, en este caso, los rumbos siguen una distribución de tipo unimodal estadísticamente significativa,



con un vector medio de 113.622° (tabla 4.7, página 196), coherente con el rumbo de regreso al hogar de 101° (incluido en los intervalos de confianza del 95% para la media test de la V frente a la dirección de regreso: $p = 5.11 \times 10^{-4}$). De forma adicional, esta distribución de rumbos, aunque mayoritariamente orientada hacia la dirección de regreso al hogar, también cumple los criterios estadísticos de una distribución bimodal, con eje medio de 108.769° - 288.769° ($r = 0.471$, test de Rayleigh para datos axiales: $p = 0.01$; intervalos de confianza del 95% para la media: 91.061° - 126.477° , 271.061° - 306.477°). En todo caso, estos resultados obtenidos considerando los datos como de distribución bimodal presentan una significación menor a la distribución unimodal de rumbos ($p = 0.01$ frente a $p = 0.004$) y se deben únicamente a los rumbos de tres individuos (dos hembras y un macho) que tomaron un sentido de movimiento exactamente opuesto al rumbo de regreso al hogar (figura 4.23A).

Por otra parte, los tritones que fueron ensayados en el lugar nº 6 pero que pasaron la noche anterior a los ensayos en el lugar nº 4 (3.1 km de distancia y 319° de rumbo de regreso al pilón) se orientaron siguiendo una distribución de rumbos similar a la que se esperaría si los ensayos de orientación se hubieran realizado en el lugar nº 4 (figura 4.23B). Es decir, este grupo de tritones siguió una distribución de rumbos bimodal a lo largo de un eje medio de 149° - 319° (tabla 4.7) con unos intervalos de confianza del 95% (134.216° - 164.034° , 314.216° - 334.034°) que incluyen el rumbo de regreso correspondiente al lugar nº 4, donde pasaron la noche (319°), pero no el rumbo correspondiente al lugar nº 6, donde fueron ensayados al día siguiente (101°). De forma esperable, no se encuentran diferencias significativas entre esta distribución de rumbos (tritones ensayados en el lugar nº 6 tras haber pasado la noche en el lugar nº 4) y la distribución correspondiente a los tritones ensayados en el lugar nº 4 tras pasar allí mismo la noche (ver antes, figura 4.20 4.B), de acuerdo a los resultados del test de Watson- U^2 ($U^2 = 0.086$, $p > 0.05$). Sin embargo, las distribuciones de rumbos de los dos grupos de tritones ensayados en el lugar nº 6 (tras pasar la noche allí o tras pasar la noche en el lugar nº 4) sí son claramente diferentes ($U^2 = 0.2$, test de Watson- U^2 : $p < 0.05$, figura 4.23).

Los análisis de los datos en función del sexo de los individuos revelan una mayor concentración de rumbos en el caso de los machos para el grupo de tritones ensayados en el mismo lugar donde pasaron la noche (distribución de rumbos de machos con vector



medio de 112.05° , $r = 0.644$, $n = 13$, $p = 0.003$; distribución de rumbos de hembras con vector medio de 10.147° , $r = 0.289$, $n = 7$, $p = 0.575$), mientras que las hembras fueron las que siguieron rumbos más concentrados en torno al eje medio para el caso del grupo con mantenimiento nocturno en el lugar 4 (distribución de rumbos de machos con eje medio de 137.275° - 317.275° , $r = 0.5$, $n = 9$, $p = 0.103$; distribución de rumbos de hembras con eje medio de 156.967° - 336.967° , $r = 0.67$, $n = 10$, $p = 0.008$).

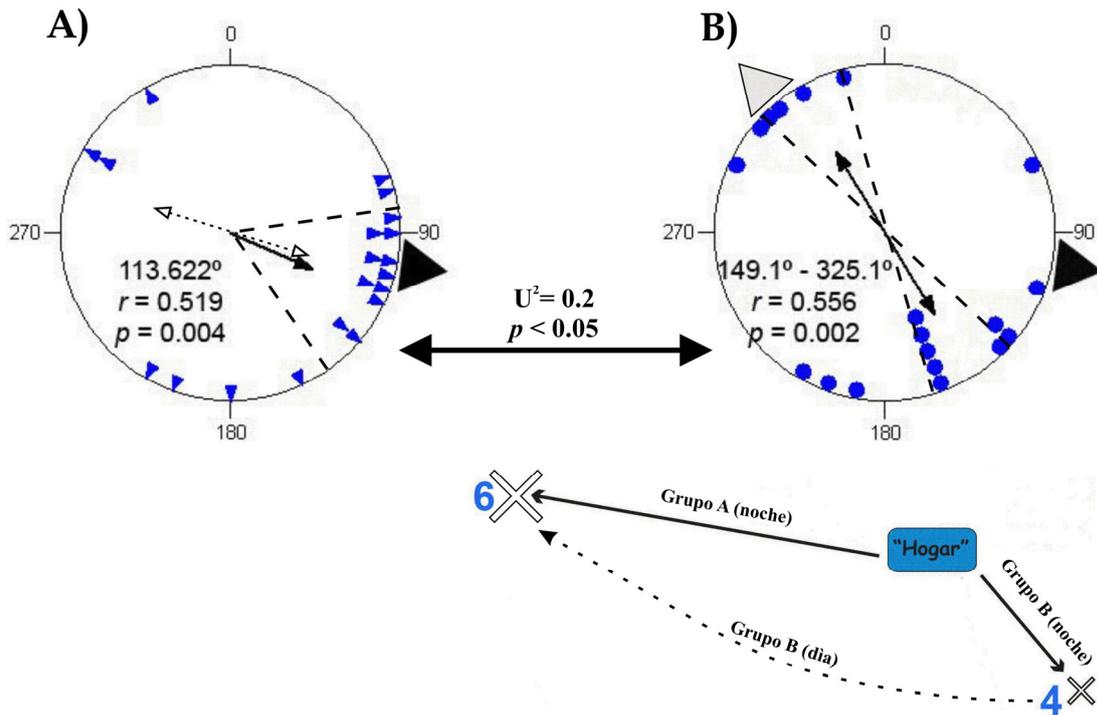


Figura 4.23 Respuestas de orientación nocturna bajo campo magnético ambiental seguidas por los tritones del medio acuático n° 4 al ser ensayados en el lugar de experimentación n° 6, tras mantenimiento nocturno en dos lugares diferentes

(experimento con ensayos el 25 de mayo de 2005)

Grupo A: Tritones que pasaron la noche previa a los ensayos en el lugar n° 6, donde se realizaron los ensayos de orientación. **Grupo B:** Tritones que pasaron la noche en el lugar n° 4, siendo transportados al día siguiente al lugar n° 6. En el caso de los rumbos correspondientes a los tritones del grupo A se muestra tanto los estadísticos, intervalos de confianza del 95% y vector medio correspondiente a la distribución de datos angulares (flecha negra central) como el eje medio resultante al considerar los datos como de distribución bimodal (doble flecha con línea discontinua). El triángulo exterior negro muestra el rumbo de regreso al hogar desde el lugar de ensayos (n° 6), mientras que el triángulo exterior de color gris indica el rumbo de regreso correspondiente al lugar n° 4 (lugar de mantenimiento nocturno del grupo B).



| Orientación diurna bajo campo magnético ambiental por tritones del medio acuático n° 4 | | | | | | | |
|--|------------------|---------------|---------------------|----------|----------|-------------------------|---|
| Lugar ensayos | Lugar paso noche | Rumbo regreso | Vector medio | <i>r</i> | <i>n</i> | <i>p</i> (Rayleigh) | IC 95% |
| 3 | 3 | 262° | 89.272° - 269.272° | 0.557 | 22 | 6.84 x 10 ⁻⁴ | 75.466° - 103.097° / 255.446° - 283.097° |
| “ | <i>pilón</i> | “ | 19.07° | 0.295 | 22 | 0.148 | |
| 4 | 4 | 319° | 141.642° - 321.642° | 0.425 | 22 | 0.017 | 122.705° - 160.579° / 302.705° - 340.579° |
| “ | <i>pilón</i> | “ | 250.192° | 0.159 | 22 | 0.537 | |
| 7 | 7 | 44° | 32.629° | 0.463 | 14 | 0.047 | 346.252° - 79.007° |
| “ | <i>pilón</i> | “ | 343.766° | 0.435 | 14 | 0.069 | |
| 8 | 8 | 224° | 212.232° | 0.494 | 15 | 0.023 | 171.29° - 253.173° |
| “ | <i>pilón</i> | “ | 178.722° | 0.423 | 15 | 0.066 | |
| 6 | 6 (grupo A) | 101° | 113.622° ** | 0.519 | 20 | 0.004 | 81.891° - 145.352° |
| “ | 4 (grupo B) | 101° (319°) * | 149.125° - 319.125° | 0.556 | 19 | 0.002 | 134.216° - 164.034° / 314.216° - 334.034° |

Tabla 4.7 Resultados estadísticos correspondientes a los experimentos con tritones del medio acuático 4 (ensayos diurnos bajo campo magnético ambiental)

El lugar de ensayos y en el que los tritones pasaron la noche previa se indican siguiendo los códigos numéricos habituales. Los rumbos de regreso al hogar indicados son los correspondientes al lugar de ensayos, si bien en un caso (*) se indica asimismo entre paréntesis el rumbo de regreso desde el lugar de mantenimiento nocturno. ** Aunque en la tabla se indican los resultados para el análisis unimodal, la distribución de rumbos correspondiente a este grupo experimental también dio resultados estadísticamente significativos al ser considerada como una distribución axial (ver texto). La tabla 4.4 (pag. 177) incluye un resumen de la metodología correspondiente a estos experimentos.

C) Orientación bajo campo magnético alterado [lugar 1]

- Orientación nocturna tras transporte directo en oscuridad

Los tritones de la población n° 4 ensayados durante la noche en el lugar de experimentación n° 3 bajo cuatro alineamientos de campo magnético siguieron rumbos de orientación magnética estadísticamente significativos de acuerdo a una distribución



de datos bimodal. Así, aunque los datos angulares de rumbos normalizados en relación con la dirección Norte magnética no muestran indicios de significación, al considerarlos como datos axiales siguen un eje medio de 92.915° - 272.915° de forma altamente significativa (test de Rayleigh $p = 1.7 \times 10^{-4}$). Dicho eje incluye asimismo la dirección esperada de regreso al pilón desde el lugar de ensayos (262°) dentro de los intervalos de confianza del 95% (tabla 4.8, página 201; figura 4.24 A). Los rumbos magnéticos seguidos por machos y hembras son muy similares, tal como prueban los análisis estadísticos realizados en función del sexo (distribución de rumbos de machos con eje medio de 94.194° - 274.194° , $r = 0.502$, $n = 17$, $p = 0.012$; distribución de rumbos de hembras con eje medio de 91.186° - 271.186° , $r = 0.63$, $n = 10$, $p = 0.015$). Por otra parte, los rumbos topográficos registrados, sin corregir frente a los alineamientos de campo magnético, siguen una distribución de tipo uniforme, sin indicios de preferencia direccional alguna de acuerdo al test de Rayleigh (vector medio: 208.96° , $r = 0.267$, $p = 0.147$, figura 4.24 B).

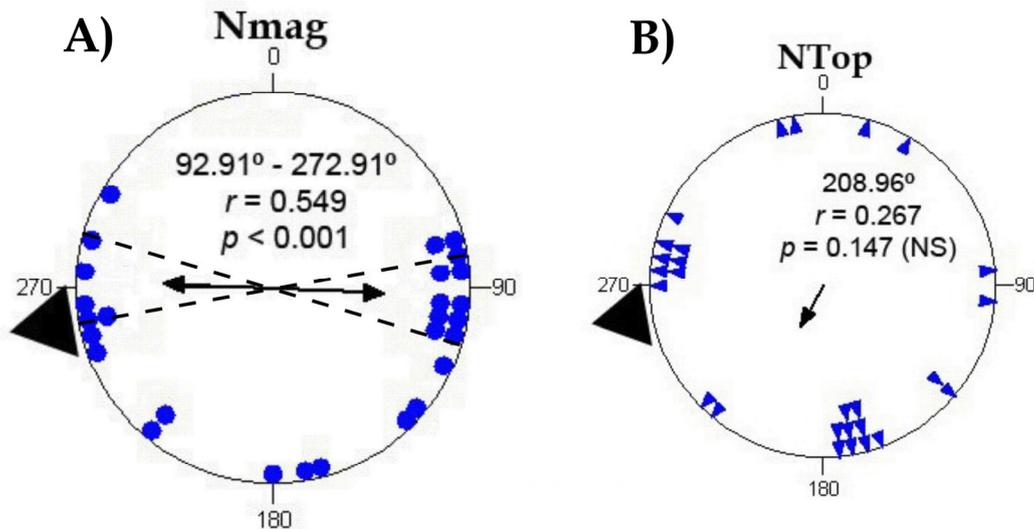


Figura 4.24 Orientación magnética nocturna en tritones del medio acuático n° 4 ensayados bajo distintos alineamientos magnéticos en el lugar de experimentación n°3 (noche del 9 de mayo de 2005) A: rumbos magnéticos / B: rumbos topográficos

- Orientación diurna tras paso de noche en el lugar de ensayos

Los tritones ensayados en el lugar de experimentación n° 3 durante las horas de luz solar, bajo cuatro alineamientos magnéticos y tras haber pasado la noche en el lugar de ensayos, siguieron una respuesta de orientación similar a la encontrada en experimentos análogos realizados en ese lugar pero bajo campo magnético ambiental. Es



decir, encontramos una orientación bimodal estadísticamente significativa a lo largo de un eje que incluye la dirección de regreso al hogar y el sentido opuesto, en este caso en la distribución de rumbos normalizados frente a la dirección Norte magnética (tabla 4.8, página 201; figura 4.25 A). De nuevo, los rumbos magnéticos tomados por machos y hembras son similares, si bien la distribución de rumbos correspondientes a los machos ensayados presenta una concentración ligeramente superior a la de las hembras (distribución de rumbos de machos con eje medio de 84.386° - $264,386^{\circ}$, $r = 0.659$, $n = 14$, $p = 0.001$; distribución de rumbos de hembras con vector medio de 97.018° - 277.018° , $r = 0.566$, $n = 10$, $p = 0.036$). A diferencia de la distribución de rumbos magnéticos, la distribución de rumbos topográficos es de nuevo estadísticamente no significativa (vector medio: 340.846° , $r = 0.253$, test de Rayleigh: $p = 0.219$; figura 4.25 B). Similares resultados no significativos se encuentran al analizar los rumbos topográficos como desviaciones del acimut solar en el momento de los ensayos (vector medio: 72.969° , $r = 0.227$, $p = 0.292$; figura 4.25 C).

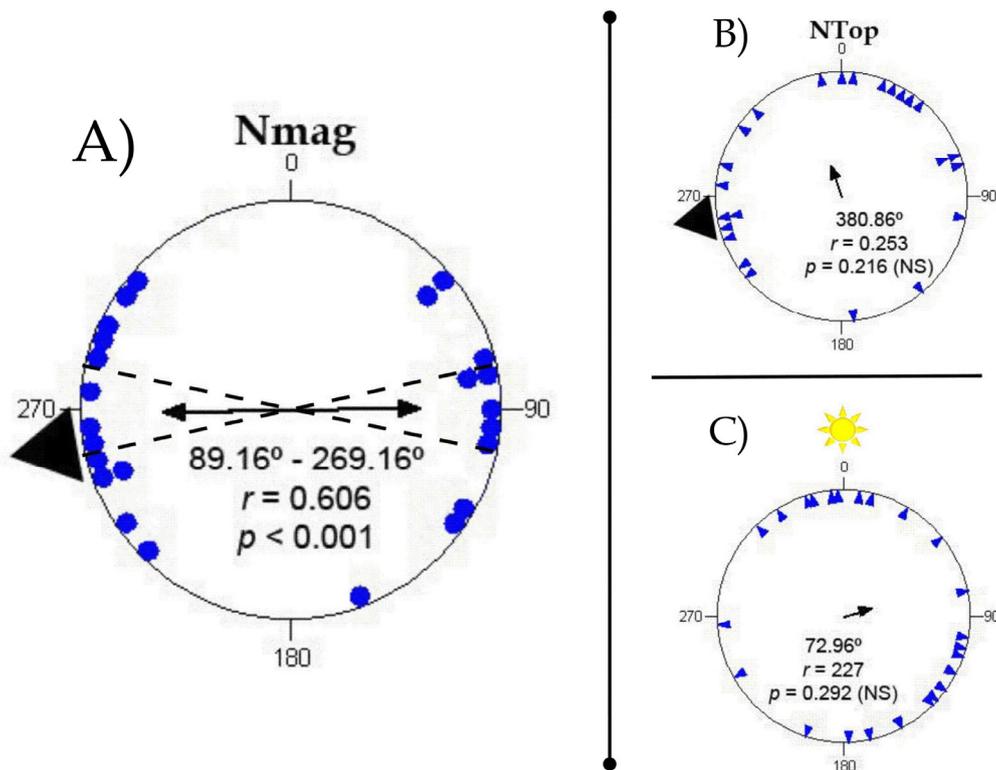


Figura 4.25 Orientación magnética durante el día en tritones del medio acuático n° 4 ensayados bajo distintos alineamientos magnéticos en el lugar de experimentación n° 3 (28 de abril de 2006)

A: Distribución de rumbos magnéticos / **B:** Distribución de rumbos topográficos / **C:** Desviaciones de los rumbos topográficos respecto a la posición del acimut solar en el momento de los ensayos (situado en el diagrama en posición 0°).



- Orientación diurna tras paso de noche en otro lugar

Los tritones ibéricos que pasaron la noche previa a los ensayos de orientación magnética en un lugar diferente al lugar de ensayos siguieron una distribución de rumbos magnéticos estadísticamente significativa, pero no coherente con la orientación esperable desde el lugar de ensayos (lugar nº 3). Los rumbos normalizados frente a la dirección norte magnético siguen una distribución de tipo bimodal de eje medio 161.386° - 341.366° (tabla 4.8, página 201; figura 4.26A), con unos intervalos de confianza del 95% (146.144° - 176.628° , 326.144° - 356.628°) que incluyen el rumbo de regreso al hogar correspondiente al lugar nº 5, donde pasaron la noche (344°), así como el sentido opuesto, pero no el rumbo de regreso correspondiente al lugar nº 3 donde fueron ensayados al día siguiente (262°). De manera adicional, esta distribución de rumbos magnéticos es significativamente diferente a la obtenida en los ensayos de orientación magnética diurna con mantenimiento nocturno en el propio lugar de ensayos (ver figura 4.25), de acuerdo a los resultados del test de Watson- U^2 ($U^2 = 0.561$, $p < 0.001$). Los análisis de los rumbos magnéticos en función del sexo de los tritones ensayados originan distribuciones de mayor concentración para el caso de los machos (eje medio de 156.843° - 336.843° , $r = 0.672$, $n = 12$, $p = 0.003$) que para las hembras (eje medio de 172.647° - 352.647° , $r = 0.37$, $n = 9$, $p = 0.301$). La distribución de rumbos topográficos correspondiente a este experimento es de nuevo aleatoria (vector medio: 101.364 , $r = 0.231$, test de Rayleigh: $p = 0.315$; figura 4.26B). Asimismo, tampoco se encuentra ninguna influencia de la posición del sol en el momento de los ensayos sobre la orientación seguida por los tritones (vector medio de la distribución de rumbos respecto al acimut solar: 218.638° , $r = 0.26$, $p = 0.243$; figura 4.26C).

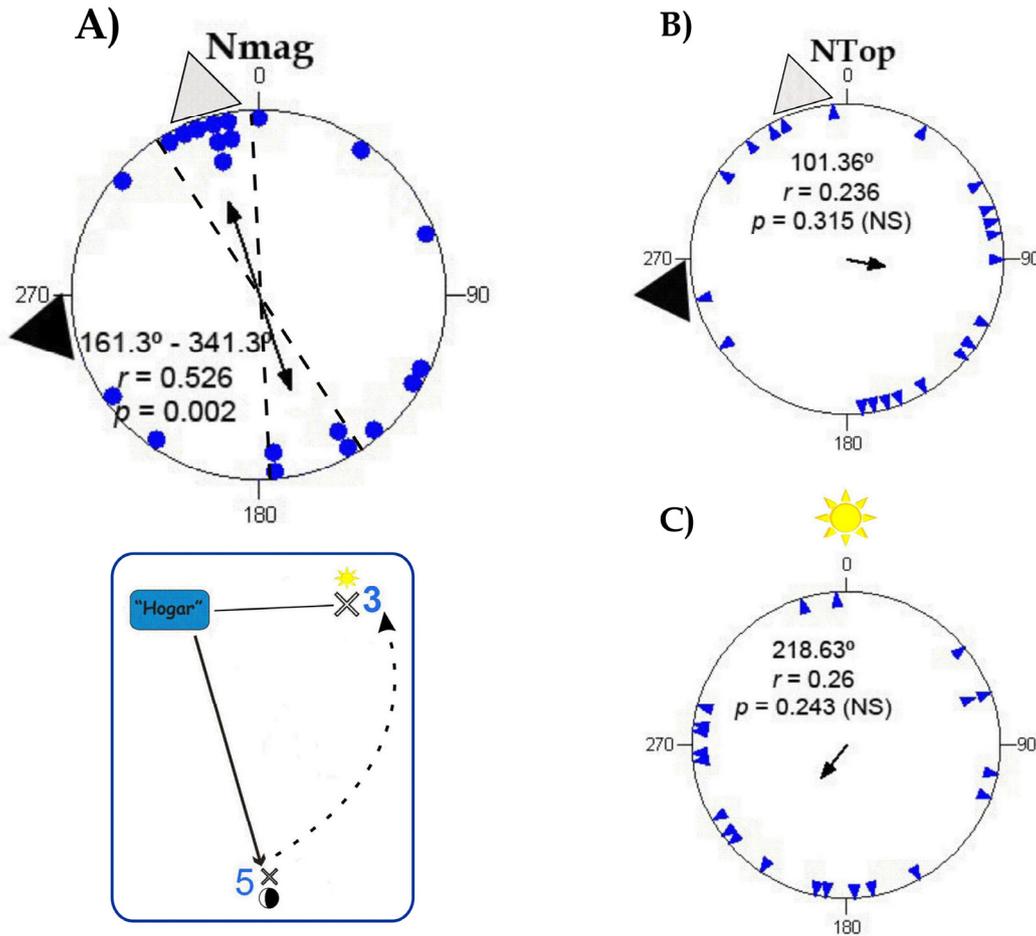


Figura 4.26 Orientación magnética durante el día en tritones del medio acuático nº 4 ensayados bajo distintos alineamientos magnéticos en el lugar de experimentación nº 3 tras mantenimiento nocturno en otro lugar (lugar nº 5) (7 de mayo de 2006)

En el esquema de la esquina inferior izquierda se representa la situación de los lugares de experimentación y el protocolo de transporte empleado (mantenimiento nocturno en lugar nº 5 y transporte a la mañana siguiente al lugar nº 3, donde los tritones fueron ensayados durante el día).

A: Distribución de rumbos magnéticos / B: Distribución de rumbos topográficos / C: Desviaciones de los rumbos topográficos respecto a la posición del acimut solar en el momento de los ensayos. El triángulo exterior negro indica el rumbo de regreso al hogar desde el lugar de ensayos, mientras que el triángulo de color gris muestra el rumbo de regreso al hogar correspondiente al lugar de mantenimiento nocturno.

- Orientación nocturna tras paso de 24 horas en otro lugar

Los tritones ibéricos capturados en el medio acuático nº 4 y mantenidos durante veinticuatro horas (una noche y un día) en el lugar nº 5 antes de ser desplazados al lugar nº 3, donde fue estudiada su conducta durante la noche, siguieron una orientación magnética coherente con la esperable en el propio lugar de ensayos (lugar nº 3). Así, la distribución de rumbos magnéticos obtenida en este caso es una distribución bimodal idéntica a la resultante en otros experimentos de orientación nocturna realizados en el



lugar n° 3 tras transportes directos desde el medio acuático, con un eje medio de 82.691°-262.691° (tabla 4.8; figura 4.27A) e intervalos de confianza del 95% (63.538°-101.844°, 243.538°-281.844°) que incluyen la dirección de regreso al hogar desde el lugar de ensayos (262°) pero no el rumbo de regreso correspondiente al lugar de mantenimiento previo (344°). Los rumbos magnéticos seguidos por tritones machos y hembras son de nuevo similares, si bien en este caso encontramos una concentración mucho mayor para la distribución de rumbos magnéticos seguidos por las hembras, a pesar del bajo tamaño muestral, menor que el correspondiente a los machos (distribución de rumbos de machos con eje medio de 80.021°-260.021°, $r = 0.229$, $n = 14$, $p = 0.489$; distribución de rumbos de hembras con eje medio de 84.094°-264.094°, $r = 0.761$, $n = 8$, $p = 0.006$). Por otro lado, los resultados de este experimento muestran por primera vez una orientación topográfica, puesto que los rumbos de orientación sin corregir frente a los alineamientos de campo magnético también siguen una distribución estadísticamente significativa, de tipo unimodal, con un vector medio de 234.594° ($r = 0.413$, test de Rayleigh: $p = 0.022$), que es asimismo coherente con la dirección de regreso al hogar desde el lugar de ensayos (incluida en los intervalos de confianza del 95%: 195.448°-273.74°; figura 4.27B).

| Orientación bajo campo magnético alterado por tritones del medio acuático n° 4 | | | | | | | |
|--|------------|---------------|---------------------|-------|-----|-----------------------|---|
| Experimento | Paso noche | Rumbo regreso | Vector medio | r | n | p (Rayleigh) | IC 95% |
| Ensayos nocturnos transporte directo | x | 262° | 92.915° - 272.915° | 0.549 | 27 | 1.7×10^{-4} | 80.188° - 105.643° / 260.188° - 285.643° |
| Ensayos diurnos tras mantenimiento nocturno | lugar 3 | “ | 89.166° - 269.166° | 0.606 | 24 | 6.72×10^{-5} | 77.269° - 101.062° / 257.269° - 281.062° |
| Ensayos diurnos tras paso de noche en otro lugar | lugar 5 | 262° (344°) * | 161.386° - 341.386° | 0.526 | 21 | 0.002 | 146.144° - 176.628° / 326.144° - 356.628° |
| Ensayos nocturnos tras 24 horas en otro lugar | lugar 5 | “ | 82.691° - 262.691° | 0.421 | 22 | 0.018 | 63.538° - 101.844° / 243.538° - 281.844° |

Tabla 4.8 Resultados estadísticos correspondientes a los experimentos con tritones del medio acuático 4 bajo cuatro alineamientos de campo magnético

Los resultados corresponden a los análisis de rumbos magnéticos (corregidos frente a la dirección Norte magnética presentada en la arena experimental). Todos los ensayos se realizaron en el lugar n° 3. *: Se incluye también el rumbo de regreso correspondiente al lugar de mantenimiento previo entre paréntesis. La tabla 4.5 (pag. 180) incluye un resumen de datos metodológicos correspondientes a estos experimentos.

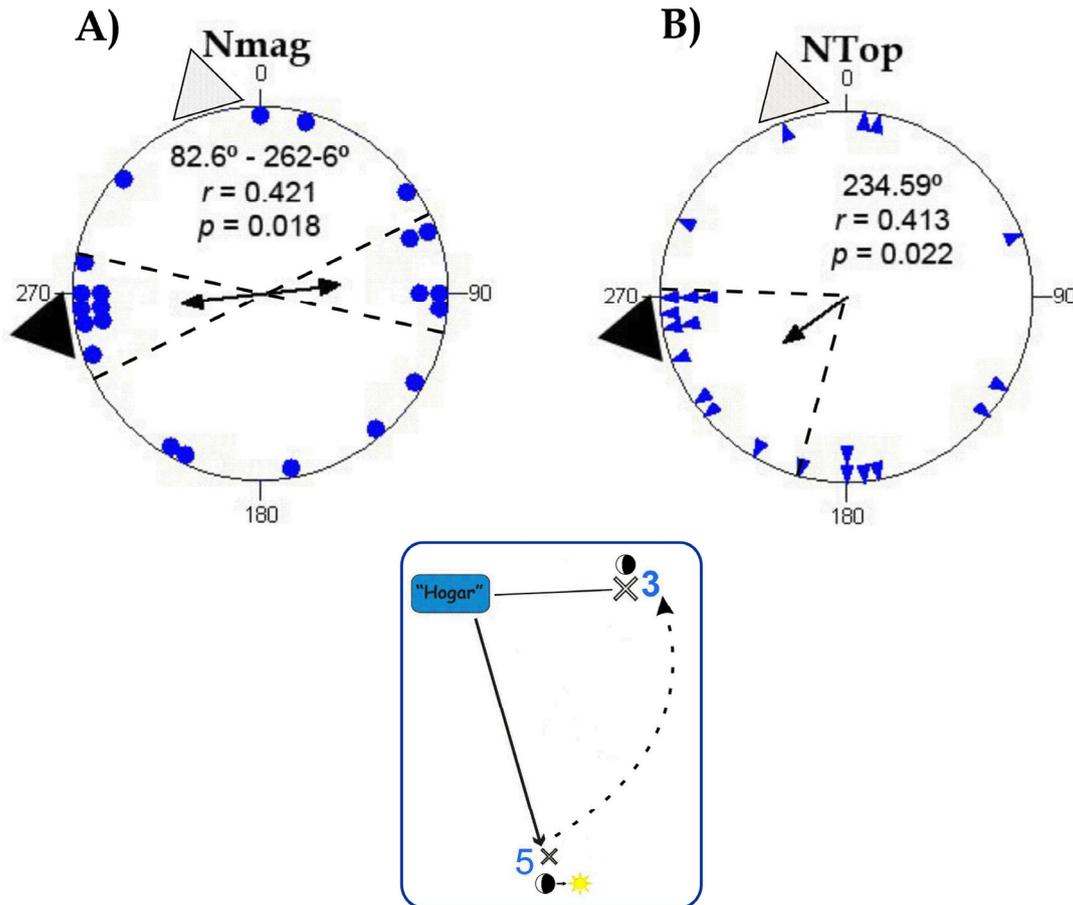


Figura 4.27 Orientación magnética nocturna en tritones del medio acuático nº 4 ensayados bajo distintos alineamientos magnéticos en el lugar de experimentación nº 3 tras haber pasado 24 horas en otro lugar (lugar nº 5)

(ensayos durante la noche del 24 de mayo de 2006)

En el esquema inferior se representa la situación de los lugares de experimentación y el protocolo de transporte empleado (mantenimiento durante una noche y las horas de luz solar siguientes en lugar nº 5 seguido de transporte al lugar nº 3, donde los tritones fueron ensayados durante la noche siguiente). **A: Distribución de rumbos magnéticos / B: Distribución de rumbos topográficos**

4. Discusión acerca de la orientación de regreso al hogar del tritón ibérico

Los resultados de los experimentos realizados prueban la existencia de una clara capacidad de regreso al hogar en *Lissotriton boscai*. Aunque el comportamiento de regreso a los medios acuáticos de reproducción es una conducta muy extendida en anfibios (RUSSELL *et al.*, 2005; SINSCH, 2006), ésta es la primera vez que se demuestra en esta especie. En el presente estudio se han obtenido muestras de una orientación preferente dirigida hacia los medios acuáticos donde fueron capturados los tritones



ibéricos analizados (ver, por ejemplo, la figura 4.1, página 154), ya se trate de charcas o estructuras artificiales utilizadas como lugar de reproducción (fuentes o pilones). Esta orientación preferente se mantiene de forma coherente con la dirección de regreso al hogar esperada al ser ensayados tritones procedentes de una misma población en diferentes lugares de experimentación (figura 4.18, pag. 186), confirmándose por lo tanto una alta fidelidad hacia el medio acuático específico utilizado.

En esta orientación de regreso al hogar, ya observada en experimentos preliminares realizados bajo condiciones ambientales y con posibilidad de acceso a todo tipo de información direccional, interviene un sentido de compás magnético, tal como demuestran las respuestas obtenidas bajo distintos alineamientos magnéticos. El funcionamiento de este sentido de brújula magnética parece ser, por otra parte, idéntico al mecanismo encontrado en la conducta de regreso al hogar de *Triturus marmoratus*, siendo la capacidad de orientación magnética efectiva de nuevo altamente dependiente de la luz. Así, los tritones ibéricos cuya conducta fue ensayada en condiciones de oscuridad total siguieron rumbos magnéticos distribuidos de manera aleatoria (figura 4.6, pag. 159). Esta desorientación en ausencia de luz visible parece ser debida a una incapacidad para detectar o procesar de manera adecuada la información proporcionada por el vector geomagnético, y no a una ausencia de motivación para orientarse en los individuos ensayados. La falta de orientación de regreso al hogar adecuada en estos ensayos realizados con la arena experimental cubierta tampoco puede atribuirse a un hipotético papel del cielo nocturno (visión de la luna y/o estrellas) como referencia necesaria, en combinación con la información magnética, para una correcta orientación, puesto que los ensayos de orientación magnética realizados bajo techo e iluminación de espectro total sí dieron lugar a respuestas de orientación de regreso al hogar significativas (figura 4.5, pag. 158). Asimismo, los resultados obtenidos bajo iluminación monocromática de distinto espectro (figura 4.7, pag. 160) también indican un funcionamiento inadecuado del sentido de compás magnético bajo luz de longitudes de onda largas ($\lambda \geq 500$ nm), puesto que bajo dichas longitudes de onda se obtuvieron rumbos de orientación magnética de distribución aleatoria análoga a la registrada en condiciones de oscuridad total. Sin embargo, en contraposición a esta desorientación bajo oscuridad o iluminación monocromática de onda larga, los tritones ensayados bajo longitudes de onda cortas ($\lambda \leq 450$ nm) sí siguieron una orientación magnética efectiva de regreso al hogar, idéntica a la encontrada en los experimentos realizados con



iluminación natural de espectro total (ya sea luz solar o iluminación natural procedente del cielo nocturno). Con el conjunto de estos resultados, se puede concluir, que el sentido de compás magnético de *L. boscai* requiere al menos una pequeña cantidad de luz visible de longitud de onda inferior a 450 nm para producir lecturas adecuadas del vector de campo geomagnético. Esta respuesta de orientación magnética dependiente de la luz es por lo tanto idéntica a la encontrada en la conducta de regreso al hogar de *T. marmoratus* (ver sección III).

En todos los experimentos de orientación con ensayos bajo distintos alineamientos magnéticos se obtuvieron distribuciones de rumbos topográficos aleatorias, indicando la ausencia de cualquier tipo de sesgo topográfico que pudiera afectar a las direcciones seguidas por los animales (PHILLIPS, 1986a), tanto en los ensayos realizados al aire libre como en los ensayos realizados bajo techo. Por lo tanto, no se detecta el uso de ningún tipo de compás basado en señales no magnéticas. La presencia o no de luna visible por los tritones durante los ensayos de orientación nocturnos no afecta de manera aparente a los rumbos seguidos (figura 4.3, pag. 156) y tampoco se ha podido detectar el uso del disco solar como señal direccional en las respuestas de orientación registradas durante el día (ej. figura 4.8, pag. 161), ya que en ambos casos obtenemos distribuciones aleatorias de rumbos topográficos o desviaciones respecto al acimut. Los experimentos realizados tampoco han permitido detectar el uso de otro tipo de estímulos direccionales en la localización del hogar por parte de *L. boscai*, como puedan ser olores específicos procedentes del medio acuático. En cualquier caso, si bien el uso de señales químicas en la orientación de regreso al hogar está probado en varias especies de urodelos (SINSCH, 2006), y en el caso del tritón ibérico hay datos que confirman el uso de señales químicas de conoespecíficos en la selección de medios acuáticos en cautividad (ARAGÓN *et al.*, 2000), un pilotaje dirigido por olores únicamente sería útil en las últimas etapas de las migraciones de regreso al hogar (PHILLIPS *et al.*, 2005b). Por lo tanto, al igual que lo encontrado en *T. marmoratus*, el campo geomagnético parece ser el estímulo direccional básico utilizado por el tritón ibérico en su orientación de regreso al hogar.

De forma también idéntica a lo observado en el tritón jaspeado, el tritón ibérico utiliza para orientarse de regreso al hogar no sólo un sentido de compás magnético, sino también un sentido de mapa de navegación, gracias al cual puede determinar posiciones



geográficas relativas a su medio acuático incluso en territorios desconocidos (hasta 11 km de distancia del territorio ocupado por los tritones), tal como demuestran los resultados obtenidos en los experimentos realizados, con desplazamiento en oscuridad de los individuos estudiados. Como se ha mencionado previamente, un transporte en oscuridad inhabilitaría el compás magnético dependiente de la luz y los protocolos de transporte seguidos harían igualmente muy difícil una integración de trayectorias basada en mecanismos idiotéticos, por lo que un mecanismo de compás magnético por sí mismo podría explicar la orientación satisfactoria de regreso al hogar observada bajo estas condiciones. Al resultar imposible la inversión del rumbo de desplazamiento, los tritones estudiados debieron recurrir a información obtenida en el propio lugar de ensayos. Es decir, un registro de información posicional al inicio y al final de la ruta seguida que les permitiría regresar al medio acuático mediante un mecanismo de verdadera navegación, similar al encontrado en *T. marmoratus* (ver sección III), *Notophthalmus viridescens* (PHILLIPS *et al.*, 1995) y *Mesotriton alpestris* (DIEGO RASILLA *et al.*, 2005). Si bien los parámetros ambientales concretos que formarían parte de este sentido de mapa de navegación no se pueden determinar en base a los resultados obtenidos, las evidencias encontradas apuntan a la implicación de gradientes geomagnéticos. Tal y como defienden varios autores (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005; PHILLIPS *et al.*, 2005b; FREAKE *et al.*, 2006), un mapa basado en gradientes magnéticos, como puedan ser el ángulo de inclinación o la intensidad total de campo, sería el único tipo de mapa de gradientes capaz de explicar satisfactoriamente las conductas de navegación observadas en muchos animales, al proporcionar señales ubicuas, de variación sistemática a lo largo de la superficie terrestre, y su uso podría ser efectivo incluso para animales como los tritones, con rangos de movimiento limitados y de hábitats principalmente boscosos (PHILLIPS *et al.*, 2005b).

En el caso de *N. viridescens*, se ha comprobado que la inclinación magnética o uno de sus componentes (intensidad horizontal o vertical) es utilizada como coordenada dentro de un mapa de navegación de una o dos coordenadas (FISCHER *et al.*, 2001; PHILLIPS *et al.*, 2002b). En los estudios realizados con esa especie, los tritones fueron sometidos a “desplazamientos simulados”, siendo expuestos a distintos valores de inclinación magnética, correspondientes a los valores que encontrarían a diferentes distancias y orientaciones respecto a su charca de reproducción. En todos los casos, los tritones respondían a los cambios en la inclinación magnética tomando rumbos con la



dirección que les habría llevado de vuelta a su charca desde cada lugar simulado por el incremento o disminución de inclinación. Sin embargo, cambios idénticos en la inclinación no afectaron a la orientación magnética cuando se estudió la orientación de los tritones en relación con la orilla de las charcas (eje-Y), puesto que dicha conducta no precisa el uso de un mapa, sino sólo de un mecanismo de brújula (FISCHER *et al.*, 2001).

Un mapa de navegación basado en la inclinación magnética u otro parámetro geomagnético explicaría las respuestas seguidas por los tritones ibéricos ensayados durante las horas de luz solar (experimentos realizados bajo campo magnético ambiental, ver figura 4.10, pag. 166), donde sólo encontramos una orientación de regreso al hogar adecuada en aquellos grupos de tritones que permanecieron previamente en el lugar de ensayos durante la noche. Esta incapacidad para orientarse de forma adecuada en tritones que no tuvieron posibilidad de recolectar información nocturna, similar a la conducta encontrada en *T. marmoratus*, sugiere que los tritones registran de forma preferente los gradientes de mapa de navegación durante la noche, y no durante el día (lo cual podría ser un mecanismo para evitar posibles errores causados por las fluctuaciones del campo geomagnético durante las horas de luz solar: ver sección III-3; PHILLIPS *et al.*, 2005b). De forma adicional, los resultados obtenidos en el estudio de la capacidad de navegación en la población de tritón ibérico que ocupa el medio acuático nº 4 también aportan nuevas evidencias a favor del uso del campo geomagnético no sólo como señal direccional en un sentido de compás dependiente de la luz, sino también como parte constitutiva del sentido de mapa de navegación, tal y como se discutirá más adelante.

Las dos especies de tritón consideradas en este trabajo de tesis (*T. marmoratus* y *L. boscai*) poseen, en conclusión, comportamientos de orientación de regreso al hogar basados en mecanismos y estrategias similares. A pesar de separación filogenética existente entre los géneros *Lissotriton* y *Triturus* (GARCÍA-PARÍS *et al.*, 2004) ambas especies parecen confiar preferentemente en el campo geomagnético como estímulo direccional básico y poseen un sentido magnético idéntico o al menos con las mismas propiedades (compás dependiente de la luz, desorientación bajo luz de onda larga, mapa de lectura nocturna, etc.). Aunque existen diferencias tanto en el modo de vida de vida de estas dos especies como en sus conductas migratorias (por ejemplo, *T. marmoratus* es una especie más nocturna y realiza migraciones en masa, MONTORI & HERRERO, 2004, mientras que las migraciones reproductoras en *L. boscai* se realizan en bases



individuales, CAETANO & LECLAIR, 1999), el campo geomagnético presenta la ventaja de que puede proporcionar una orientación efectiva en un gran número de circunstancias, por lo que no resulta ilógico que ambas especies utilicen como señal preferente un mismo mecanismo de orientación geomagnética, el cual podría tener un origen ancestral y común a anuros y urodelos (DIEGO-RASILLA & RODRÍGUEZ-GARCÍA, 2007).

Al analizar el conjunto de resultados obtenidos en función del sexo de los tritones ensayados no se encuentra ninguna tendencia general que sugiera una diferencia en la capacidad de orientación de regreso al hogar entre machos y hembras, a diferencia en este caso de lo observado en el tritón jaspeado (donde los machos mostraban una orientación en todos casos más precisa que las hembras, ver sección III). La eficacia en determinar la dirección del medio acuático por parte de machos o hembras de tritón ibérico varió de forma aleatoria de un experimento a otro, de forma que encontramos tanto casos en los que los machos siguen distribuciones de rumbos más concentradas en torno a la dirección de regreso al hogar, como viceversa, siendo la norma común una orientación similar en uno y otro sexo. Esta diferencia entre la capacidad de orientación de las hembras de *L. boscai* y *T. marmoratus* (indiferente de la de los machos en un caso y menos precisa en otro) podría deberse simplemente al hecho de que las hembras de tritón ibérico posean una movilidad similar a la de los machos incluso en estados de gravidez, mientras que en *T. marmoratus* el grado de actividad y motivación motora de las hembras grávidas desciende bruscamente con el aumento de peso (observaciones personales).

- Orientación magnética y navegación en la población de tritón ibérico del medio acuático nº 4

Los experimentos llevados a cabo evidenciaron dos tipos distintos de respuestas de orientación de regreso al hogar en los tritones ibéricos del medio acuático nº 4, variables en función de la localización del lugar de experimentación y el protocolo de transporte experimental empleado. Así, a diferencia de lo encontrado en otras poblaciones de *L. boscai*, estos tritones sólo mostraron una orientación inequívoca (es decir, concentrada unimodalmente en torno al rumbo de regreso hacia su hogar) bajo determinadas circunstancias, mientras que encontramos una orientación de tipo bimodal



como resultado de varios experimentos (ver tabla 4.9). En estas respuestas bimodales, parte de los tritones ibéricos ensayados fallaron al intentar determinar el rumbo de regreso al hogar, pero no tomaron direcciones al azar (lo cual habría conducido a distribuciones de rumbos aleatorias), sino que siguieron rumbos de sentido opuesto a la orientación correspondiente al medio acuático. Este tipo de orientación hacia dos extremos de un eje medio, en la que aproximadamente la mitad de los tritones ensayados se orientan correctamente en la dirección de regreso al hogar y la otra mitad en sentido contrario, es una conducta no observada en tritones que ocupan otras áreas de la zona estudiada, y podría producirse como resultado del empleo del sentido de mapa de navegación, tal y como se discutirá a continuación.

Tabla 4.9 Resumen de respuestas de orientación seguidas por tritones del medio acuático n° 4

| Lugar ensayos | Km al hogar | Rumbo regreso | Tipo de experimento | Orientación obtenida |
|---------------|-------------|---------------|---|----------------------|
| 1 | 0.320 | 120° | Acceso a cielo y c. magn. ambiental durante desplazamiento | |
| | | | Transporte en oscuridad total | |
| | | | Transporte con acceso a cielo pero c. magn. alterado | |
| 2 | 0.560 | 258° | Acceso a cielo y c. magn ambiental durante desplazamiento | |
| | | | Transporte en oscuridad total | |
| 3 | 2.8 | 262° | Transporte en oscuridad total directo* | |
| | | | Ensayos diurnos tras paso de noche en lugar 5 (rumbo regreso: 344°) | desde 5 |
| | | | Ensayos nocturnos tras paso de 24 h en lugar 5 (rumbo regreso:344°) | |
| 4 | 3.1 | 319° | Transporte en oscuridad total | |
| 6 | 11.9 | 101° | Transporte directo en oscuridad total | |
| | | | Ensayos diurnos tras paso de noche en lugar 4 (rumbo regreso: 319°) | desde 4 |
| 7 | 7.6 | 44° | Transporte en oscuridad total | |
| 8 | 7.3 | 224° | Transporte en oscuridad total | |

Se muestra esquemáticamente el tipo de respuesta de orientación obtenida en cada lugar de ensayos tras distintos protocolos de transporte y mantenimiento preciso (totalidad de experimentos realizados). Flecha sencilla: orientación unimodal de regreso al hogar / flecha doble: orientación bimodal ("desde x" indica respuesta de orientación como si se estuviera realizando desde el lugar x y no desde el sitio de ensayos). *: Ensayos nocturnos o diurnos tras mantenimiento nocturno. En el lugar 3 se obtuvieron respuestas bimodales tanto en ensayos bajo campo magnético ambiental como con cuatro alineamientos magnéticos.



Los ensayos realizados en el territorio cercano al pilón ocupado por los tritones (lugares 1 y 2, con rumbos de regreso al hogar de 120° y 258° respectivamente) dieron lugar a respuestas de regreso al hogar tanto unimodales como bimodales, dependiendo del protocolo de desplazamiento seguido (ver figuras 4.17, 4.18 y 4.19, pags 183, 186, 187). El análisis de estas diferentes respuestas, obtenidas en todos los casos durante la noche y bajo campo magnético ambiental, sugiere la ausencia de información recopilada en ruta como posible causa de la orientación bimodal. Así, los ensayos llevados a cabo tras desplazamientos con posibilidad de acceso tanto a señales celestes como magnéticas ambientales fueron los únicos que revelaron, de forma esperada, una orientación unimodal de regreso al hogar similar a la encontrada en otras poblaciones, confirmando la existencia de conducta de regreso al hogar para la población estudiada (figura 4.17). Sin embargo, estos primeros experimentos con desplazamiento “abierto” no permitieron deducir el tipo de mecanismo ni estímulos direccionales concretos empleados por los tritones en este comportamiento. Si bien una orientación basada en pilotaje dirigido por olores emanantes del medio acuático puede considerarse muy poco probable en las condiciones experimentales (transporte en recipientes herméticos y ensayos con viento racheado y variable, soplando en la mayoría de los casos desde direcciones contrarias al pilón de origen), los tritones podrían haber determinado el rumbo de regreso al hogar tanto mediante un simple mecanismo de integración de trayectorias, basado incluso en señales inerciales (el desplazamiento en línea recta podría permitir el registro de señales motoras por parte de propioceptores, MACNAUGHTON *et al.*, 2006) como mediante una inversión del rumbo de desplazamiento basada en información de compás (magnética o celeste) recopilada durante el transporte, o bien mediante un mecanismo de mapa y compás. Por lo tanto, para averiguar el tipo de mecanismo concreto utilizado por los tritones se llevaron a cabo otros ensayos de orientación en los mismos lugares 1 y 2 pero tras un transporte de los sujetos experimentales en oscuridad y siguiendo protocolos de desorientación, con el objetivo de anular el acceso a información recopilada en ruta y contrastar la existencia o no de un mecanismo de verdadera navegación.

Los resultados bimodales obtenidos tras transporte en oscuridad, netamente diferentes a la orientación unimodal obtenida en los mismos lugares 1 y 2 pero tras transporte directo con vista del cielo, no pueden atribuirse a ningún tipo de comportamiento distinto a la tendencia de regreso al hogar, ya que los tritones se orientaron en el lugar de ensayos nº 1 siguiendo un eje medio diferente al seguido en el



lugar n° 2 (figura 4.18). De esta forma, podemos descartar, por ejemplo, que la preferencia direccional observada se deba a una respuesta bimodal de orientación respecto al eje-Y o a una respuesta instintiva de orientación a lo largo de uno de los ejes del medio acuático (hipótesis que sería plausible al estar acostumbrados los animales a moverse en una estructura marcadamente longitudinal como es un pilón), ya que en dichos casos la respuesta se mantendría invariable independientemente de la localización del lugar de experimentación empleado. En cambio, el hecho de que el rumbo correspondiente de regreso al medio acuático desde el lugar de ensayos se encuentre en cada caso incluido en los intervalos de confianza para el eje medio sugiere que esta orientación bimodal no es sino una respuesta peculiar de regreso al hogar, en la que los individuos ensayados parecen ser únicamente capaces de determinar el eje direccional dentro del cual se encuentra el pilón, pero no pueden precisar bien el extremo de ese eje correspondiente al rumbo de regreso.

El protocolo de transporte en oscuridad empleado imposibilitaría tanto el uso de un compás celeste como de un compás magnético dependiente de la luz o un mecanismo idiotético de integración de trayectorias, por lo que uno de estos sistemas debe estar implicado en el registro y posterior inversión del rumbo de desplazamiento que conduzca a la orientación unimodal inequívoca de regreso al hogar desde los lugares 1 y 2. En este sentido, los resultados obtenidos en el lugar n° 1 tras un transporte en línea recta y con posibilidad de acceder a señales celestes pero con campo magnético alterado durante el desplazamiento (figura 4.19) clarifican la conducta de orientación seguida por los tritones, al obtenerse una orientación bimodal similar a la encontrada en condiciones de desplazamiento en oscuridad. Así, si bien en este caso los intervalos de confianza del 95% para el eje medio no incluyen, por tan sólo un grado, la dirección de regreso al hogar (121° , siendo los IC del 95% de 96.046° - 119.904°), ésta sí queda incluida en los intervalos de confianza del 99% y los resultados del test de la V confirman igualmente la orientación de regreso al hogar bimodal. Estos resultados prácticamente descartan el empleo de información de compás basada en señales celestes nocturnas, ya que la visión de la luna y las estrellas durante el transporte no condujo sin embargo a la orientación unimodal detectada tras un desplazamiento similar, con vista del cielo, pero bajo campo magnético ambiental. De forma adicional, el uso de un hipotético compás lunar (no descrito aún en ninguna especie de vertebrado; UGOLINI *et al.*, 2007) resultaría por otra parte improbable teniendo en cuenta que los resultados obtenidos no muestran ninguna



diferencia en la orientación seguida por tritones ensayados bajo luna visible y luna no visible. También podría descartarse el empleo de un mecanismo de integración de trayectorias para determinar el rumbo de desplazamiento basado en información inercial derivada del propio movimiento en línea recta, puesto que el transporte en línea recta bajo campo magnético alterado condujo a una orientación bimodal idéntica a la encontrada tras desplazamientos con giros de desorientación. Considerando el conjunto de los resultados obtenidos en los lugares de experimentación 1 y 2, los tritones del medio acuático nº 4 parecen utilizar un sentido de compás magnético dependiente de la luz, como el encontrado en otras poblaciones de *L. boscai*, para su uso en el registro y posterior inversión del rumbo de desplazamiento, siempre y cuando las señales magnéticas ambientales estén disponibles de forma fiable. Cualquier tipo de protocolo de transporte que llevara a la inhabilitación del compás magnético durante el mismo (oscuridad total, o alteración directa del campo geomagnético con imanes que dificulten la toma de lecturas correctas) impediría a los tritones la obtención de información en ruta. La orientación bimodal detectada en dichos lugares 1 y 2 tras esas condiciones de transporte parece ser, por lo tanto, una consecuencia derivada de la imposibilidad por parte de los tritones de registrar el rumbo de desplazamiento seguido y tener que recurrir únicamente a información obtenida en el propio lugar de ensayos.

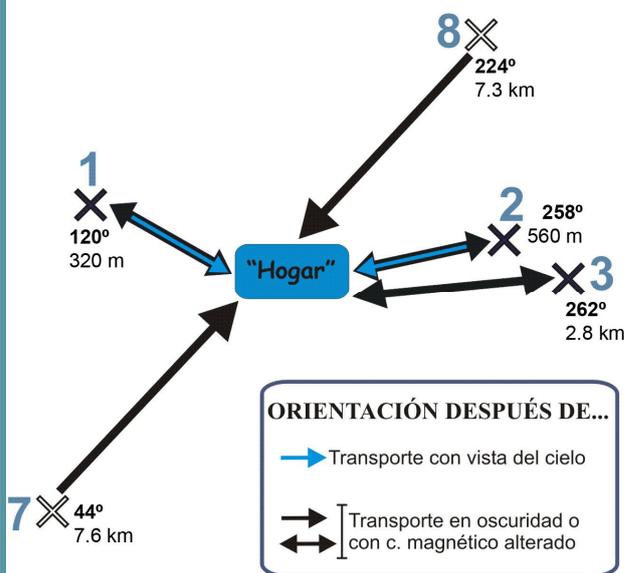
Los ensayos realizados bajo varios alineamientos magnéticos en el lugar de experimentación nº 3, situado en una orientación similar al lugar nº 2 (262° frente a 258°) pero a mayor distancia (2.8 km), confirman el uso del sentido de compás magnético sugerido a partir de los resultados en los lugares 1 y 2. En estos ensayos de orientación nocturna tras transporte en oscuridad, los tritones siguieron de nuevo rumbos de orientación magnética bimodal a lo largo de un eje que incluía la dirección de regreso al hogar (figura 4.24, pag. 197). Es decir, de forma idéntica a lo observado en el lugar nº 2, los tritones privados de información direccional durante el desplazamiento se mostraron incapaces de determinar con exactitud el extremo del eje correspondiente a la posición del medio acuático, pero usaron el vector de campo geomagnético para orientarse a lo largo de ese eje.

La orientación magnética bimodal de regreso al hogar observada en los lugares 1, 2 y 3 (los tres situados aproximadamente en el eje este-oste) tras transportes en oscuridad o bajo campo magnético alterado no se encontró sin embargo cuando se



repite los experimentos en otras localizaciones geográficas. Así, los tritones ensayados durante la noche en los lugares de experimentación 7 y 8 (situados en orientaciones respecto al hogar aproximadamente perpendiculares a la posición de los lugares 1, 2 y 3) siguieron rumbos de distribución claramente unimodal, concentrados en torno a la dirección de regreso al medio acuático, a pesar de haberse realizado también un transporte previo en condiciones que impidieron el registro del rumbo seguido (figura 4.18). De esta forma, en conjunto encontramos una orientación unimodal siempre que el transporte realizado permita el uso del compás magnético dependiente de la luz para obtener información en ruta (por ejemplo, en los lugares 1 y 2 tras transportes abiertos con acceso a campo magnético ambiental), pero únicamente en determinadas localizaciones geográficas (ej. lugares 7 y 8) en caso de que el transporte inhabilite el uso del compás magnético. Esta variación en las respuestas unimodales y bimodales en función de la orientación del lugar de ensayos respecto al medio acuático sugiere un efecto provocado por la información posicional tomada en el propio lugar de experimentación (figura 4.28).

Figura 4.28 Resumen de las respuestas de orientación de regreso al hogar seguidas por tritones del medio acuático nº 4 durante ensayos nocturnos



Las flechas representan la direccionalidad aproximada del vector o eje medio de orientación desde cada lugar de ensayos, indicados por una "x" y con los números de identificación utilizados en el texto (se muestran las distancias y rumbos de regreso al hogar correspondientes a cada uno). Las flechas de color negro representan las respuestas obtenidas tras transportes directos en oscuridad o con el campo magnético alterado (flecha simple para respuestas unimodales, doble flecha para respuestas bimodales), mientras que las flechas azules sobreimpresas indican la orientación seguida tras desplazamientos

"abiertos" (vista del cielo y campo magnético ambiental). La orientación desde el lugar 3 corresponde a una orientación magnética obtenida bajo distintos alineamientos de campo, mientras que el resto son respuestas bajo campo ambiental. Los transportes que impiden el uso del compás magnético en ruta sólo producen una orientación unimodal en lugares situados en el eje NE-SO (lugares 7 y 8), mientras que obtenemos una respuesta bimodal en orientaciones aproximadamente perpendiculares a este eje.



En todos los ensayos nocturnos realizados con tritones del medio n° 4 encontramos una orientación significativa, incluso en los desplazamientos a larga distancia y sin posibilidad de acceder a información sobre la ruta seguida (ya se obtengan orientaciones de regreso al hogar unimodales o bimodales), por lo que se cumplen los criterios indicativos de la existencia de un sentido de mapa de navegación implicado en la orientación de regreso al hogar. Por lo tanto, al igual que lo encontrado en otras poblaciones de *L. boscai*, se cumplirían los criterios de “verdadera navegación” (uso de información de mapa en combinación con el sentido de compás magnético). Sin embargo, en este caso el uso del sentido de mapa únicamente conduce a una orientación unimodal precisa en ciertas orientaciones respecto al lugar de origen, mientras que origina una orientación bimodal en otras cuando los tritones sólo pueden disponer de información al inicio y al final de su desplazamiento (y no durante el mismo). En cualquier caso, el mapa de navegación utilizado por los tritones de esta población presenta características comunes a las observadas en el comportamiento de navegación de las demás poblaciones de *L. boscai* estudiadas, así como en *Triturus marmoratus*, por lo que probablemente esté basado en el mismo factor o factores ambientales.

De forma idéntica a lo encontrado en otras poblaciones de tritones, los resultados de los ensayos llevados a cabo durante el día demuestran que el sentido de mapa de navegación está basado en parámetros de lectura preferentemente nocturna. Los tritones ensayados durante las horas de luz solar sin mantenimiento nocturno previo en el lugar de experimentación se mostraron en todo caso incapaces de tomar un rumbo de orientación fijo y siguieron distribuciones de rumbos completamente aleatorias. Mientras, los tritones que habían pasado la noche en el lugar de ensayos mostraron la orientación de regreso al hogar esperable teniendo en cuenta la localización de cada lugar de experimentación y los resultados obtenidos en los experimentos de orientación nocturna tras transportes directos en oscuridad. Es decir, en estos ensayos diurnos encontramos de nuevo una orientación de regreso al hogar bimodal en los tritones mantenidos durante la noche en el lugar de ensayos n° 3 (262° de rumbo de regreso al hogar), idéntica a la orientación magnética bimodal observada en los ensayos nocturnos (tabla 4.9; figura 4.28). Asimismo, esta orientación bimodal también se observa en el lugar n° 4, situado en una orientación similar a la de los lugares 2 y 3 respecto al medio acuático (319° de rumbo de regreso al hogar). Ambas orientaciones bimodales desde los lugares 3 y 4 (figura 4.20, pag. 190) contrastan de nuevo, al igual que en lo encontrado



en los experimentos nocturnos, con las respuestas precisas y unimodales de regreso al hogar seguidas por los tritones ensayados en los lugares 7 y 8 tras pasar allí la noche previa (figura 4.21, pag. 192).

Los datos de los ensayos de orientación magnética llevados a cabo en el lugar 3 tras mantenimiento previo de los tritones en ese u otro lugar de experimentación (figuras 4.25 a 4.27, páginas 198-202), refuerzan la hipótesis de que los tritones ibéricos navegan hacia su medio acuático utilizando un mapa formado por parámetros de lectura preferentemente nocturna. Por un lado, los resultados obtenidos durante el día bajo varios alineamientos magnéticos confirman de nuevo la preferencia de *L. boscai* por un compás magnético frente a otros tipos de información de compás (en ningún caso se detecta el uso de un compás topográfico, ni ninguna influencia de la posición del sol en el momento de los ensayos sobre los rumbos seguidos por los tritones; figuras 4.25C-4.26C). Por otra parte, los tritones ensayados no parecen prestar atención a los desplazamientos realizados durante el día, sino que tras un transporte en oscuridad siguen siempre rumbos de orientación de regreso al hogar coherentes con la posición del último lugar en el que tuvieron posibilidad de realizar lecturas de mapa nocturnas. De esta forma, por ejemplo, los tritones cuya conducta fue ensayada durante el día en el lugar 3 tras haber pasado la noche anterior en el lugar nº 5 siguieron una orientación magnética bimodal estadísticamente significativa (figura 4.26), pero que no incluía el rumbo de regreso al hogar desde el lugar de ensayos, sino que en este caso el eje medio de orientación fue el que cabría de esperar desde el lugar 5 (ver figura 4.29, página 215). Igualmente, se obtuvieron resultados similares en los ensayos realizados durante el día en el lugar nº 6 (figura 4.23, pag- 195), donde los individuos que habían pasado la noche en otro lugar diferente al lugar de ensayos (en ese caso, el lugar nº 4) también siguieron rumbos de orientación más coherentes con la posición correspondiente al lugar de paso nocturno que con su posición real (figura 4.29). Podemos considerar, por lo tanto, que en ambos casos los tritones no fueron capaces de detectar su cambio de posición geográfica al no conseguir realizar medidas de mapa fiables o lo suficientemente precisas durante el día. Sin embargo, parece ser que los tritones ibéricos no necesitan una exposición nocturna prolongada a los factores implicados en su sentido de mapa para realizar lecturas de los mismos, tal y como sugieren los resultados del experimento realizado con ensayos nocturnos en el lugar nº 3 tras 24 horas de permanencia de los tritones en un lugar distinto (lugar nº 5, ver figura 4.27, pag. 202). En dicho experimento los tritones sí



fueron capaces de detectar un segundo cambio en su posición geográfica (paso del medio acuático al lugar de mantenimiento n° 5, donde estuvieron una noche y un día, y paso siguiente del lugar n° 5 al lugar n° 3, donde fueron ensayados en la segunda noche tras su captura) gracias a la información recopilada en el lugar n° 3 durante las dos horas nocturnas de mantenimiento previo a los ensayos. Es decir, siguieron manteniendo una orientación de tipo bimodal pero giraron su eje medio de orientación de forma apropiada para incluir la dirección de regreso al hogar desde el lugar de ensayos (y no la correspondiente al lugar de mantenimiento previo).

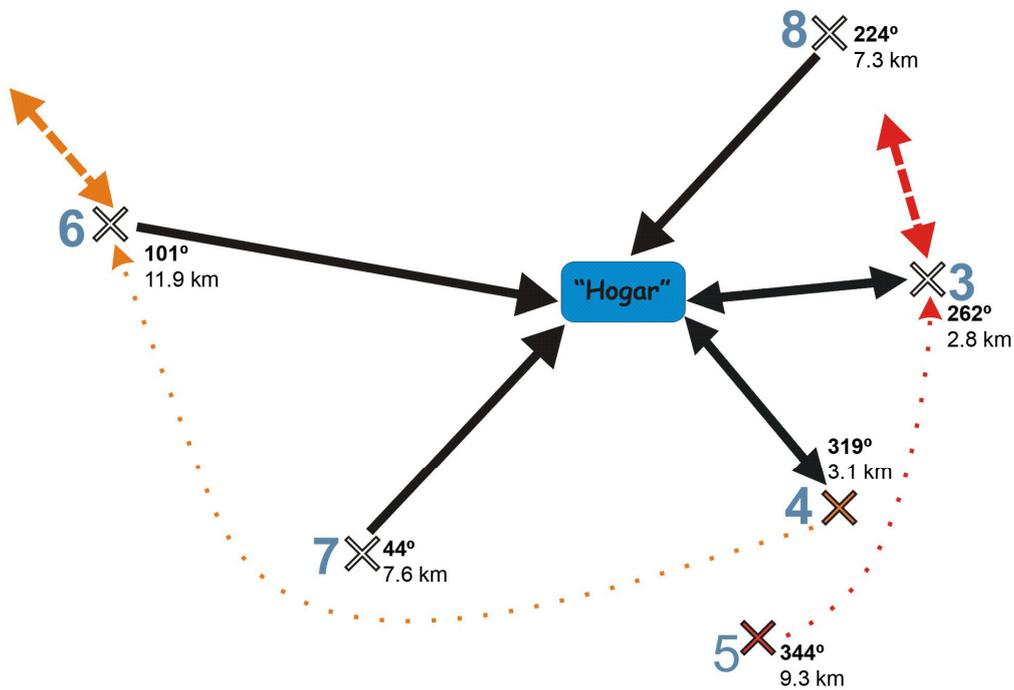


Figura 4.29 Resumen de las respuestas de orientación de regreso al hogar seguidas por tritones del medio acuático n° 4 durante ensayos diurnos

Las flechas representan la direccionalidad aproximada del vector o eje medio de orientación desde cada lugar de ensayos (orientación unimodal o bimodal, seguida por tritones transportados de manera directa y en oscuridad hasta el lugar de experimentación, tras pasar una noche allí y ser ensayados al día siguiente). Las flechas discontinuas de color rojo o naranja representan el eje medio de orientación seguido por tritones ensayados en un lugar (lugares 6 y 3), pero que pasaron la noche previa en otra localización distinta (lugares 4 y 5; estando indicado el transporte de un lugar de experimentación a otro mediante una línea punteada del mismo color que el eje de orientación). Como se puede observar, los tritones siguen orientaciones (ya sean unimodales o bimodales) coherentes con la posición relativa al hogar del último lugar donde pasaron la noche (coloreado del mismo color que el eje de orientación seguido en el lugar de ensayos).

Aunque la metodología seguida y los medios logísticos disponibles en esta investigación no permiten identificar de forma exacta los parámetros concretos que son



utilizados como factores de mapa de navegación por *L. boscai*, el conjunto de los datos y evidencias correspondientes a la población que ocupa el medio acuático número 4 sugiere el uso de un mapa de gradientes geomagnéticos (FREAKE *et al.*, 2006). Si bien la orientación bimodal de regreso al hogar podría aparecer como resultado del uso de algunos tipos de compases de sensibilidad axial, como pueda ser un compás basado en la detección del plano de polarización de la luz (como el probado en *L. boscai* para la orientación respecto al eje-Y, ver sección V más adelante), no parece ser que éste sea el caso. El uso de un compás de polarización no podría explicar la orientación magnética con ausencia de orientación topográfica observada en los ensayos bajo distintos alineamientos magnéticos. Por otra parte, la aparición de la orientación bimodal únicamente en ausencia de información en ruta y en función de la posición geográfica relativa al hogar constituyen, como se ha mencionado, pruebas claras a favor de un efecto provocado por los gradientes o factores de mapa usados para determinar la posición. Asimismo, el estudio comparado de las respuestas seguidas por cada tritón de la población número 4, experimento tras experimento (gracias al marcaje fotográfico que permitió la identificación individual en base al diseño ventral), demuestra que la orientación bimodal observada no se debe a una mezcla de individuos con distintas tendencias de orientación (es decir, tritones que se orientaran siempre de forma correcta de vuelta al hogar y tritones con una respuesta prefijada o motivación en sentido opuesto al mismo), sino a una incapacidad común a todos los individuos para determinar el extremo correcto del eje correspondiente al rumbo de regreso, puesto que un mismo individuo se orientó unas veces de forma correcta y en otros experimentos en dirección opuesta. De manera adicional, tampoco se pueden determinar diferencias claras en el comportamiento de orientación en función del sexo de los individuos que pudieran explicar la orientación bimodal conjunta observada (por ejemplo, una tendencia opuesta a la orientación de regreso al hogar en uno de los dos sexos).

En definitiva, a la vista de los resultados se ha de buscar un factor o factores ambientales que puedan funcionar como coordenadas de un mapa cuyo uso por los tritones de esta población sólo les permita determinar de manera exacta su posición en algunas orientaciones respecto al hogar (como la orientación NE-SO de los lugares 7 y 8) mientras que provoque una orientación bimodal de regreso al hogar en el resto de localizaciones, bien debido a la propia distribución del gradiente o bien debido a una dificultad en su lectura. El campo geomagnético es la única señal ambiental que cumple



todas las características deducidas de manera directa o indirecta a partir de los resultados, tales como su lectura preferentemente nocturna y la posibilidad de una distribución irregular o que explicara los comportamientos bimodales. De forma adicional, la hipótesis de la existencia de un mapa de navegación magnético ya ha sido probada en otras especies de urodelos (PHILLIPS *et al.*, 1995) y defendida como único método para posibilitar una navegación verdadera en otros animales (WALKER *et al.*, 2002; JOHNSEN & LOHMANN, 2005; PHILLIPS *et al.*, 2005b; FREAKE *et al.*, 2006; LOHMANN *et al.*, 2007). Los parámetros magnéticos candidatos para formar las coordenadas de ese sentido de mapa podrían ser desde la variación latitudinal en inclinación magnética (cuyo uso, como se ha mencionado previamente, está probado en otra especie de tritón, PHILLIPS *et al.*, 1995) hasta parámetros como la intensidad total, intensidad vertical o intensidad horizontal de campo (LOHMANN *et al.*, 1999). En cualquier caso, suponiendo este uso probable de un mapa de gradientes magnéticos, y ante la actual carencia de conocimiento acerca del mecanismo concreto de detección o el funcionamiento exacto del sentido de mapa de navegación en animales (FREAKE *et al.*, 2006), varias hipótesis podrían considerarse para explicar el comportamiento de navegación de los tritones de la población número 4.

En primer lugar, la bimodalidad como posible efecto derivado del propio mecanismo de detección del parámetro o parámetros geomagnéticos supuestamente implicados en el sentido de mapa no puede descartarse. Estudios realizados con la especie *Notophthalmus viridescens* evidenciaron una respuesta de orientación bimodal bajo condiciones que dificultaran la toma de lecturas posicionales fiables por parte de los tritones, los cuales seguían un eje de orientación fijo como posible estrategia sistemática para buscar un mejor alineamiento del detector de mapa con las líneas de campo geomagnético (PHILLIPS *et al.*, 2002a). Si bien en el caso que nos ocupa, el eje medio seguido varía en función de la orientación de regreso al hogar desde cada lugar, la bimodalidad obtenida en algunas localizaciones podría interpretarse como un intento “incompleto” de respuesta de regreso al hogar, en el que los tritones fueran capaces de alinear su cuerpo respecto al gradiente magnético utilizado como coordenada, localizando el ángulo de regreso al hogar correcto en relación a ese gradiente, pero no siendo capaces de identificar la polaridad del movimiento a seguir, debido a alguna dificultad en la lectura del gradiente que impidiese que se completara con éxito el proceso de tomas de medidas de mapa. Es decir, esto implicaría suponer, por ejemplo, la



existencia de anomalías geomagnéticas locales (o condiciones locales particulares que impidieran lecturas completas de mapa magnético) únicamente en los lugares de experimentación donde se obtuvieron respuestas bimodales, así como la asunción de lo argumentado: que dichas anomalías geomagnéticas provocaran una orientación bimodal y no una orientación al azar, por otra parte más lógica en condiciones de irregularidades magnéticas (PHILLIPS, 1996).

Una explicación posiblemente más plausible de la orientación bimodal de regreso al hogar observada es que ésta no se deba a dificultades en la lectura de los parámetros ni a anomalías magnéticas localizadas en los lugares de experimentación, sino que se origine como consecuencia del propio alineamiento de gradientes en las cercanías del medio acuático ocupado por los tritones. Así, por ejemplo, el empleo de un mapa de navegación basado en dos gradientes geomagnéticos de distribución espacial peculiar en el territorio conocido por los animales podría explicar la totalidad de respuestas obtenidas, teniendo en cuenta las actuales hipótesis sobre el funcionamiento de mapas de gradientes (PHILLIPS *et al.*, 2005b). El empleo de parámetros geomagnéticos en un mapa de gradientes se configuraría a lo largo de experiencias migratorias previas de los tritones, los cuales deberían tomar una serie de medidas aisladas de los parámetros magnéticos en varios lugares de su territorio de relación espacial conocida y, a partir de ellas, deducir el alineamiento y dirección de variación de esos gradientes (PHILLIPS, 1996). Por lo tanto, el uso de un mapa de gradientes magnéticos bicoordenado implicaría complicados procesos de toma de valores magnéticos y memorización, para hacer posible así la comparación de lecturas obtenidas en lugares diferentes; esto lo haría muy dependiente de cualquier tipo de irregularidad en la distribución de gradientes dentro del territorio conocido por los animales, ya que podrían afectar o sesgar de alguna forma las extrapolaciones de gradientes realizadas en territorio desconocido (como en los lugares usados en los experimentos) para determinar posiciones geográficas, conduciendo a orientaciones de regreso al hogar diferentes a las esperadas (LEDNOR & WALCOTT, 1988; WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2003a; 2003b). Así, una hipotética existencia de irregularidades magnéticas en las cercanías del medio acuático número 4 podría determinar un mapa de navegación bicoordenado en el que sin embargo uno de los gradientes tuviera una disposición singular dentro del territorio conocido por los tritones y originara que determinadas localizaciones geográficas compartieran unas mismas coordenadas (ver figura 4.30, página siguiente). Esto haría que los tritones se



encontraran con una indeterminación al realizar medidas de mapa en ciertas localizaciones geográficas sin poseer información previa acerca del rumbo de desplazamiento seguido desde el medio acuático (tal como se consigue en los experimentos realizados con transporte en oscuridad) e intentar extrapolar el conocimiento acerca de la variación y direccionalidad de gradientes aprendido en su territorio.

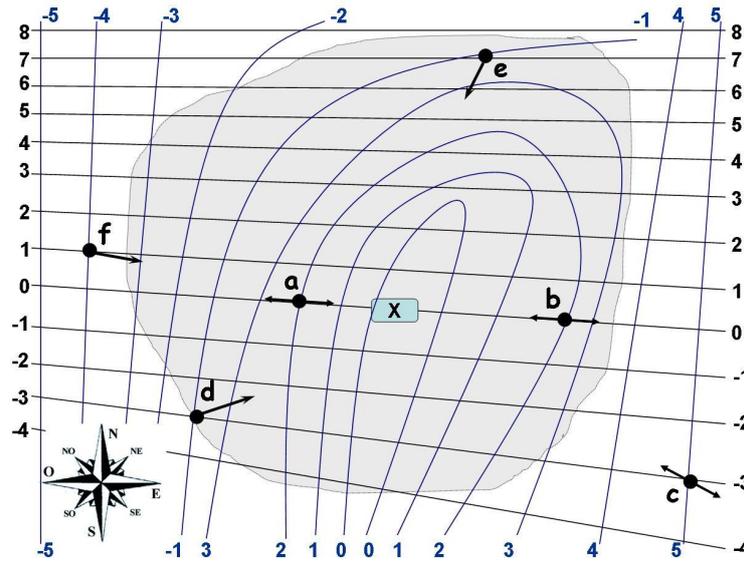


Figura 4.30 Distribución hipotética de gradientes magnéticos en torno al medio acuático nº 4

Se representan dos gradientes magnéticos en un hipotético mapa bicoordenado (líneas negras en abscisas, correspondientes a la primera coordenada de mapa o latitud; las líneas azules, eje de ordenadas, representarían por su parte la segunda coordenada o longitud). Los gradientes se han numerado con valores de ejemplo respecto al hogar, de forma que el pilón (marcado con una "x") quede situado en las coordenadas (0,0). La existencia de una distribución irregular o "curva" de uno de los gradientes magnético utilizados en el mapa en las cercanías del pilón (en este ejemplo, el representado con color azul) podría provocar que en determinadas localizaciones los tritones no pudieran establecer su posición al hogar a lo largo del otro gradiente, que correría en el eje este-oeste, originando la orientación bimodal observada en dicho eje. Así, por ejemplo, los lugares marcados como "a" y "b" compartirían unas mismas coordenadas (0,2), con lo que los individuos desplazados en oscuridad a esos lugares no podrían determinar con exactitud a qué lado de su medio acuático se encuentran recurriendo únicamente a información proporcionada por su sentido de mapa. También podemos encontrar respuestas bimodales fuera del territorio conocido por los tritones (representado por la zona sombreada), a pesar de encontrarnos una distribución más regular de los factores de mapa, debido al funcionamiento del sentido de mapa por extrapolación de los gradientes aprendidos dentro del territorio; así, los tritones ensayados en el lugar "c" podrían estar "asumiendo" que el repliegue del gradiente azul observado en su territorio continúa en dirección este. En cambio, encontraríamos orientaciones unimodales inequívocas en otras localizaciones, como las situadas en el eje noreste-suroeste ("d", "e"), al no existir lugares que compartieran las mismas coordenadas. En este ejemplo, gracias a una mejor extrapolación de los gradientes en dirección oeste, podríamos también encontrar orientaciones unimodales fuera del territorio conocido, en lugares como el indicado por la letra "f" (en una situación similar al lugar de experimentación nº 6; figura 4.29).



Aunque la existencia de un repliegue en la distribución de gradientes como el presentado en la figura 4.30, o una irregularidad magnética parecida que afectara a uno de los dos factores de mapa, podría explicar el comportamiento de navegación observado, faltan datos que puedan apoyar esta hipótesis. En primer lugar, el pilón ocupado por esta población de tritones ibéricos se encuentra en una zona de la que no se dispone de estudios geomagnéticos detallados que pudieran confirmar o sugerir la existencia de anomalías magnéticas locales. Los mapas geológicos del área cercana al medio acuático muestran una composición en areniscas, cuarcitas y pizarras del cámbrico inferior que, a priori, no suele estar asociada con rocas ferromagnéticas, aunque la existencia de una falla de dirección noreste-suroeste localizada junto al pilón sí podría suponer la existencia de afloramientos férricos asociados (Juan Ramón Colmenero, comunicación personal). Sin embargo, a fecha de la redacción de esta memoria, las medidas magnéticas preliminares realizadas en el campo no han podido detectar rocas magnéticas en superficie. Medidas de susceptibilidad magnética diferencial (realizadas con un suseptilómetro portátil Kappameter[®], modelo KT-6) llevadas a cabo en el terreno inmediato al medio acuático sólo detectaron una roca aislada con cierto magnetismo (valor de susceptibilidad: $k = 7.48 \times 10^{-3}$, unidades del Sistema Internacional), encontrada a unos 300 metros del pilón y posiblemente de origen externo, al no corresponder con la mineralogía dominante en la zona. En cualquier caso, aunque hasta el momento no hayan sido detectados afloramientos ferromagnéticos en superficie, sería necesario un estudio de campo a mayor profundidad, con el empleo de magnetómetros que permitieran la elaboración de mapas de distribución de los gradientes magnéticos en la zona (valores de inclinación magnética, intensidad total de campo, etc.) antes de descartar completamente la existencia de irregularidades magnéticas que pudieran afectar al comportamiento de orientación de los tritones.

Por otra parte, también se debe considerar como hipótesis abierta la posibilidad de que la orientación bimodal observada se deba no a la existencia de una anomalía magnética como tal (debida a afloramientos rocosos u otro tipo de distorsiones) sino a la propia distribución natural de los gradientes geomagnéticos utilizados por los tritones en su mapa de navegación. Así, por ejemplo, el uso de un mapa monocoordenado o en el que sólo una de las coordenadas fuera un gradiente magnético podría provocar una orientación bimodal desde localizaciones situadas en



un mismo eje (PHILLIPS, 1996), como podría ser el eje este-oeste en el caso del uso del ángulo de inclinación como parámetro de mapa (ya que el patrón de inclinación varía generalmente en dirección norte-sur; SKILES, 1985). Ésta y otras hipótesis deberán ser contrastadas en profundidad en investigaciones futuras.



V

ORIENTACIÓN RESPECTO AL EJE-Y EN EL TRITÓN IBÉRICO (*Lissotriton boscai*)





V. ORIENTACIÓN RESPECTO AL EJE-Y EN EL TRITÓN IBÉRICO (*LISSOTRITON BOSCAI*)

La frontera agua-tierra representa un punto de referencia fundamental para la mayoría de las especies de anfibios, los cuales realizan una serie de movimientos orientados respecto a la posición de las orillas de sus medios acuáticos (POUGH *et al.*, 2004). Aparte de su evidente importancia biológica, los llamados movimientos a lo largo del eje-Y (ver sección I-2.2) constituyen una herramienta útil para investigar las bases sensoriales de la orientación espacial, puesto que los anfibios no sólo aprenden el eje-Y natural de sus medios acuáticos, sino que también pueden ser entrenados en condiciones controladas para orientarse hacia direcciones de orilla artificiales (ADLER, 1970; DEUTSCHLANDER *et al.*, 2000). Por lo tanto, como enfoque adicional al estudio de la orientación de regreso al hogar, en el presente trabajo se planteó la investigación de la conducta de orientación respecto al eje-Y de una de las dos especies de tritones estudiadas, el tritón ibérico (*Lissotriton boscai*).

El entrenamiento de tritones y el posterior análisis de su orientación respecto al eje-Y se utilizó como método para estudiar las características básicas del sentido de compás magnético dependiente de la luz, contrastándose los efectos producidos por la exposición a diferentes longitudes de onda de la luz sobre la orientación magnética y el aprendizaje de direcciones de orilla. Por otra parte, se investigó si la conducta de orientación respecto al eje-Y en *L. boscai* varía a lo largo del desarrollo, por lo que se analizaron las preferencias direccionales de individuos larvarios de distintas edades, en estadios de desarrollo previos a la metamorfosis o bien en pleno proceso de metamorfosis (individuos premetamórficos y juveniles). Igualmente, estudiamos la orientación respecto al eje-Y en tritones ibéricos adultos, con el objetivo de contrastar posibles diferencias en la orientación mostrada por larvas y adultos, como las encontradas en estudios con otras especies de anuros y urodelos (GOODYEAR & ALTIG, 1971; TAYLOR, 1972; TOMSON, 1972; ADLER & TAYLOR, 1980). Por último, se investigó el posible uso en la orientación respecto al eje-Y de otro mecanismo de compás alternativo: el patrón de polarización de la luz, gracias al empleo de filtros polarizadores específicos.



1. Aprendizaje y orientación respecto al eje-Y a lo largo del desarrollo de *L. boscai*: papel del campo geomagnético

1.1 Metodología

Se realizaron una serie de experimentos, con el entrenamiento de larvas, metamórficos o adultos de *L. boscai* en el aprendizaje de una determinada dirección de orilla artificial para estudiarse posteriormente su orientación respecto a señales magnéticas en una arena circular. En cada caso, los ejemplares larvarios o adultos fueron previamente capturados en sus medios acuáticos y transportados en coche, en el interior de recipientes de plástico (llenos de agua procedente de su medio) hasta el lugar de experimentación correspondiente, donde tuvo lugar el proceso de entrenamiento y ensayo posterior. Puesto que la conducta de orientación respecto al eje-Y se mantiene independientemente de la distancia al lugar de captura de los tritones (a diferencia de la orientación de regreso al hogar; ABLE, 1980), estos experimentos pudieron llevarse a cabo en lugares alejados de los medios de origen (12-238 km) y durante los meses de verano (junio-agosto, ya que la conducta es también independiente del impulso migratorio de regreso al hogar). En todos los experimentos, tanto el periodo de entrenamiento como los ensayos de orientación fueron realizados al aire libre, bajo las condiciones ambientales reinantes y el ciclo natural luz-oscuridad. Una vez finalizado cada experimento, los individuos capturados fueron transportados de vuelta a sus lugares de captura.

- Protocolo general de entrenamiento y ensayos

En el entrenamiento de los tritones o larvas se utilizaron tanques específicamente diseñados para el aprendizaje de direcciones artificiales de eje-Y, consistentes en dos acuarios de cristal de 100 litros de capacidad (80 x 40 x 30 cm), modificados mediante la construcción de un fondo inclinado, necesario para proporcionar un extremo de orilla y un extremo con mayor profundidad de agua (eje-Y de entrenamiento). En el extremo del acuario correspondiente a la zona menos profunda se construyó una pequeña orilla horizontal de 8 cm de longitud, mientras que los últimos 30 cm del extremo de mayor profundidad de cada acuario fueron sombreados mediante planchas de madera colocadas sobre el acuario y cartulinas de color negro (en su cara interior) pegadas a los cristales de



la zona (ver figura 5.1). De esta forma, se buscó que el extremo de aguas profundas constituyera una especie de “zona de refugio” para las larvas y adultos entrenados, reforzando así el aprendizaje del eje-Y al sombrearse dicho extremo mientras que el resto de los cristales del acuario permanecían descubiertos (de manera que los tritones tuvieron acceso libre al cielo y a los alrededores durante todo el periodo de entrenamiento experimental).

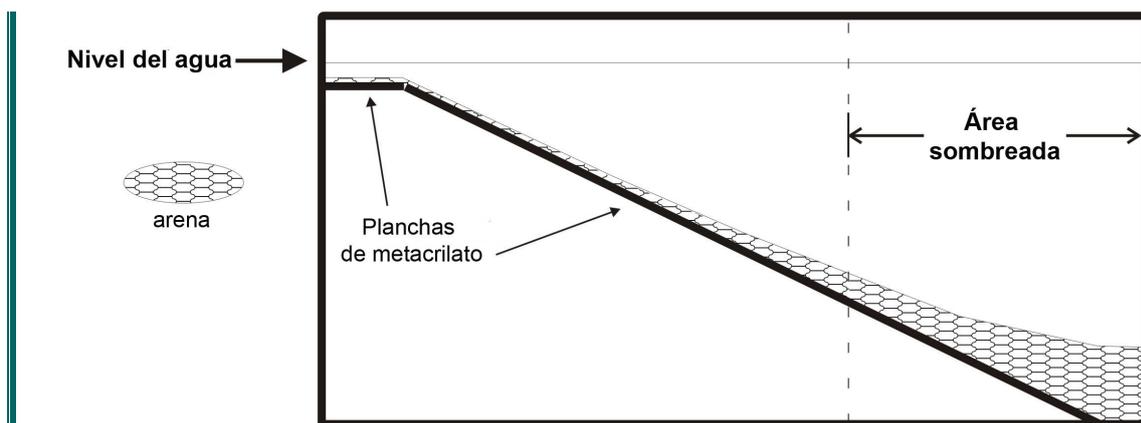


Figura 5.1 Diseño de acuario de entrenamiento

El fondo inclinado (formando una pendiente de unos 25°) se construyó mediante placas de metacrilato, pegadas a los cristales del acuario con silicona específica (*Quilosa® Orbasil K95*). Todo el fondo del acuario (planchas de metacrilato, incluida orilla horizontal) se recubrió con grava de grano grueso, proporcionando una mayor capa de grava en la zona más profunda.

En todos los experimentos presentados aquí se emplearon dos configuraciones distintas de entrenamiento, correspondientes a direcciones de eje-Y perpendiculares. Uno de los acuarios fue posicionado con su longitud mayor a lo largo del eje magnético Norte-Sur, mientras que el otro acuario de entrenamiento se colocó alineado siguiendo el eje Este-Oeste. Los dos acuarios de entrenamiento se colocaron convenientemente nivelados y próximos entre sí, en un lugar situado a un mínimo de 5-8 m (dependiendo del experimento concreto y cada lugar de experimentación) de posibles fuentes de distorsiones magnéticas (tales como estructuras de hierro o mineral ferromagnético). Los acuarios fueron llenados con agua de grifo convenientemente tratada (con acondicionadores de agua, *Stress-Coat -Aquarium Pharmaceutical®* y *Sera pHPlus®* y *pHMinus®*), de tal forma que la profundidad de agua en el extremo de orilla horizontal fuera aproximadamente de 1 cm. El lugar donde se colocaron los acuarios, al aire libre, se habilitó de manera que éstos permanecieran a la sombra durante la totalidad del día



(gracias a sombras naturales proporcionadas por la vegetación cercana y a sombras artificiales, que en ningún caso ocultaron la visión del cielo sobre los acuarios), evitándose así un recalentamiento excesivo del agua debido a la insolación directa. Durante los periodos de entrenamiento se efectuó diariamente en todos los experimentos un cambio parcial de agua en cada acuario, añadiendo agua fresca, convenientemente tratada, en las horas del día de máximo calor (15:00-17:00 GMT aprox., dependiendo del experimento concreto). Este cambio de agua también se utilizó, por lo tanto, como modo de regular la temperatura de los acuarios sin necesidad de recurrir a sistemas artificiales. De esta forma se logró mantener en cada experimento temperaturas de agua no muy alejadas de las propias del lugar de procedencia de las larvas o tritones entrenados, controlándose igualmente los valores de pH de los acuarios para ajustarlos a los típicos del medio acuático donde habían sido capturados los individuos. Los valores de temperatura y pH fueron registrados una vez cada hora de 7:00 a 20:00 GMT.

Cada acuario de entrenamiento fue ocupado por un número similar de individuos, que permanecieron, como norma general, un periodo de seis días completos en su interior, aprendiendo la correspondiente dirección del eje-Y antes de procederse a la realización de los ensayos de orientación magnética. Durante el entrenamiento, las larvas o tritones fueron alimentados con larvas de mosquito rojo (*Chrinomus thummi*) congeladas y *Tubifex* liofilizado, suministradas en abundancia una vez al día por el extremo de menor profundidad de agua (orilla) de cada acuario.

Tras el periodo de entrenamiento en los tanques, los individuos fueron ensayados en una arena circular simétrica idéntica a la utilizada en los experimentos de orientación de regreso al hogar, bajo cuatro condiciones de alineamiento magnético y siguiendo la metodología y el protocolo general de ensayos de orientación descrito en la sección II-3. Así, antes de ser ensayado, cada tritón o larva era traspasado, de forma individual y con ayuda de una pequeña red, desde su acuario de entrenamiento a un tanque rectangular de plástico, situado con su longitud mayor paralela al acuario de procedencia (N-S o E-O) y con 1 cm de agua de profundidad. Tras 5 minutos en ese tanque, el individuo a ensayar era llevado a la arena experimental, siendo introducido en el cilindro de liberación, el cual se levantaba tras 1 minuto, quedando el animal libre de moverse por el interior de la arena durante 10 minutos (fijados en este caso como tiempo límite de respuesta). Aunque los tritones adultos fueron ensayados en una arena circular seca (de forma



idéntica a los ensayos de orientación de regreso al hogar), en el caso de las larvas o individuos metamórficos se utilizó una arena circular con 1 cm de profundidad de agua. En todos los casos, la temperatura del agua en la arena circular se mantuvo entre 15 °C y 20 °C, reemplazando el agua con agua fresca cuando la temperatura superaba los 20 °C. Los ensayos de orientación magnética para cada experimento se realizaron siempre en un único día y durante las horas de luz solar, al aire libre (salvo el ensayo de tritones adultos a las 48 h. de entrenamiento; ver más adelante) y bajo condiciones de cielo despejado. Para estos ensayos de orientación respecto al eje-Y, la totalidad de los laterales de la estructura cúbica de ensayo fueron cubiertos con cortinas negras opacas, de forma que los individuos en la arena circular sólo tuvieron acceso libre al cielo sobre sus cabezas. Asimismo, la utilización de cortinas laterales permitió la observación directa de los movimientos de las larvas o tritones ensayados a través de agujeros diminutos practicados en la tela. De esta forma, el rumbo topográfico de orientación seguido por el individuo ensayado se estableció visualmente (como el primer punto de contacto con la pared de la arena) con una precisión de 5°, gracias a una serie de marcas radiales simétricas practicadas en el borde exterior de la pared de la arena, visibles por el observador pero no por los sujetos experimentales. Durante el tiempo de respuesta el investigador no fue en ningún momento visible para el animal ensayado, al estar oculto tras las cortinas. El protocolo de ensayos seguido consistió siempre en ensayar de forma alterna grupos de larvas o tritones adultos procedentes de uno y otro acuario de entrenamiento. Es decir, en primer lugar se ensayaban siempre cuatro individuos procedentes del acuario Norte-Sur (ensayando el primer individuo bajo la condición magnética $N_{mag}=N$, el siguiente bajo alineamiento $N_{mag}=E$, el siguiente bajo $N_{mag}=O$ y el cuarto bajo $N_{mag}=S$), para posteriormente ensayar cuatro procedentes del acuario Este-Oeste (en $N_{mag}=N$, $N_{mag}=E$, $N_{mag}=O$ y $N_{mag}=S$), luego otros cuatro del acuario N-S, y así sucesivamente. Cuando un individuo no contactaba con la pared de la arena en los 10 minutos de respuesta estipulados, el siguiente animal, procedente del mismo acuario, se ensayaba bajo la misma condición de alineamiento magnético.



- Orientación magnética respecto al eje-Y en larvas y premetamórficos

Para determinar posibles diferencias en el comportamiento de orientación respecto al eje-Y derivadas del estado de desarrollo de las larvas de *Lissotriton boscai*, se realizaron dos experimentos, utilizando larvas de distintas edades en cada uno. Por un lado, en un experimento realizado del 16 al 23 de julio de 2005 fueron entrenadas y ensayadas larvas de *L. boscai* plenamente formadas pero que se encontraban en un estado de desarrollo previo al inicio de la metamorfosis. Al inicio del periodo de entrenamiento presentaban un grado de desarrollo correspondiente a los estadios III y IV, de acuerdo a la clasificación de BRAÑA (1980), y alcanzaron en el momento de los ensayos de orientación un estadio V (extremidades anteriores y posteriores plenamente formadas y cresta dorsocaudal y branquias bien desarrolladas). Por otra parte, en otro experimento, llevado a cabo del 20 al 27 de agosto de 2004, fueron estudiados individuos en pleno proceso de metamorfosis, los cuales comenzaron el periodo de entrenamiento con un estadio de desarrollo VI, un estado premetamórfico en el que comienza la regresión de branquias y cresta dorso-caudal (BRAÑA, 1980).

En los dos experimentos las larvas utilizadas se capturaron de medios acuáticos descritos en la sección II-2.4 (en el caso del experimento realizado con larvas jóvenes, éstas fueron capturadas de la población nº 3, mientras que los individuos premetamórficos del otro experimento procedieron de la fuente nº 4). Las larvas capturadas en el primer caso ($n = 51$) fueron transportadas a un lugar de experimentación situado en un jardín privado en la localidad de Santa Marta de Tormes (Salamanca; 40°56'58" N, 5°37'05" O; 800 m de altitud), a 54.5 km del lugar de captura en dirección NE. Por su parte, el experimento llevado a cabo con larvas en proceso de metamorfosis ($n = 41$) se realizó en un lugar de experimentación distinto, situado a 238 km al Norte del lugar de captura, en Vegas del Condado, León (42°40'55" N, 5°21'52" O; 860 m de altitud). En ambos casos, sin embargo, el entorno y condiciones de experimentación fueron similares, permaneciendo las larvas durante 6 días completos previos a los ensayos en los acuarios de entrenamiento (uno alineado a lo largo del eje N-S, con orilla en dirección Norte en ambos experimentos, y otro con su longitud mayor posicionada en dirección E-O, con orilla en el Este en el experimento realizado con larvas jóvenes y con orilla en el Oeste en el experimento con premetamórficos). Un



número parecido de larvas fue introducido en cada acuario, con 26/25 larvas (N-S / E-O) en un caso y 21/20 premetamórficos (N-S/E-O) en otro. El entrenamiento de los individuos se efectuó de forma pasiva (permaneciendo las larvas sin ser molestadas), salvo en el caso del acuario Norte-Sur correspondiente al experimento realizado con larvas jóvenes (estadio V), donde se practicó un protocolo de entrenamiento activo con el objetivo de contrastar la influencia de aspectos metodológicos sobre el aprendizaje del eje-Y. Así, en dicho experimento, las larvas del acuario N-S eran capturadas una vez al día en el extremo de mayor profundidad mediante una pequeña red y depositadas en un tanque rectangular situado paralelo al acuario, nivelado y con 1 cm de profundidad de agua. Una vez capturadas todas las larvas, éstas eran devueltas una a una al acuario, siendo liberadas en la zona correspondiente a la orilla horizontal. De esta forma, el protocolo de captura y liberación seguido buscaba ayudar a las larvas a aprender de forma más efectiva la dirección del eje-Y, forzándolas activamente a recorrer su longitud, volviendo las larvas a la zona profunda tras ser liberadas en la orilla, permitiendo así evaluar posibles diferencias en la orientación respecto a la mostrada por las larvas del acuario E-O, donde no se efectuó ese entrenamiento activo.

Tanto el transporte de los individuos hasta el lugar de experimentación como el propio entrenamiento se llevaron a cabo manteniendo temperaturas de agua y valores de pH cercanos a los encontrados en los lugares de origen de las larvas (manteniendo una temperatura entre 17°C y 20°C (media = 17.92 ± 0.30) y valores de pH de 6-6.5 durante el entrenamiento de larvas jóvenes, mientras que el entrenamiento de los individuos en proceso de metamorfosis se realizó con oscilaciones térmicas de 13°C - 21°C (media = 17.23 ± 0.69) y un pH de 7.5-8). Tras el periodo de entrenamiento, los ensayos de orientación se realizaron de acuerdo a lo descrito. Se eliminaron de los análisis los datos correspondientes a los individuos con un tiempo de respuesta superior a 10 minutos, así como aquellas larvas de respuesta excesivamente rápida (< 10 segundos), al considerarse que esos individuos, que se movían tan pronto como era levantado el cilindro de liberación, estaban probablemente exhibiendo una respuesta de escape de orientación aleatoria. Las larvas jóvenes fueron ensayadas el 23 de Julio de 2005, de 8:50 a 18:20 GMT, presentando en el momento de los ensayos de orientación unas longitudes hocico-cloaca (SVL) entre 8 mm y 18 mm (media = $10.9 \text{ mm} \pm 0.31$). Por su parte, las larvas premetamórficas fueron ensayadas a fecha de 27 de agosto de 2004 (de 9:16 a 18:37 GMT), presentando tallas SVL sensiblemente mayores, entre 15 mm y 19 mm (media =



17.5 mm \pm 0.22). De hecho, en este último experimento con larvas premetamórficas (estadio VI), algunas larvas llegaron a completar totalmente la metamorfosis a lo largo de los seis días de entrenamiento, por lo que en el momento de los ensayos un total de 9 individuos (cinco procedentes del tanque N-S y cuatro procedentes del E-O) eran en realidad juveniles con branquias completamente reabsorbidas. Esos tritones recientemente metamorfoseados fueron ensayados de forma idéntica al resto de larvas, si bien los datos de sus rumbos de orientación se analizaron de forma separada.

- Orientación magnética respecto al eje-Y en tritones adultos: aprendizaje rápido del eje-Y

Un total de 28 tritones ibéricos adultos (14 machos y 14 hembras), procedentes de la fuente designada con el nº 2 (ver sección II-2.5), fueron entrenados siguiendo el protocolo general de entrenamiento descrito, con dos configuraciones perpendiculares de eje-Y (N-S, con orilla en N, y E-O, con orilla en E), y 14 tritones (7 machos y 7 hembras) por acuario. El entrenamiento y posterior ensayo de orientación magnética se llevaron a cabo a mediados del mes de junio de 2006, estando en este caso el lugar de experimentación situado en la localidad de Linares de Riofrío (40° 34' 32'' N, 5° 55' 7'' O). El periodo de entrenamiento comenzó la mañana del 14 de junio de 2006 y, con el objetivo de investigar el tiempo necesario para que los tritones aprendieran el eje-Y entrenado (y la posición de la orilla en su caso), fueron realizados dos ensayos de orientación magnética: uno tras 48 horas de estancia de los tritones en los acuarios (mañana del 16 junio de 2006) y otro a los 6 días de entrenamiento (tarde del 20 junio de 2006). Para permitir un reconocimiento individual de los tritones objeto de estudio, y contrastar posibles diferencias entre la orientación seguida a los 2 y a los 6 días de entrenamiento, se realizó un marcaje fotográfico de los tritones. Así, de forma inmediatamente posterior al ensayo de su conducta de orientación correspondiente a las 48 horas de entrenamiento, cada tritón fue fotografiado dorsal y centralmente (ver figura 5.2), volviéndose a fotografiar los tritones después de los ensayos finales, realizados a los 6 días de permanencia total en los acuarios. En todos los casos, cada fotografía tomada fue inmediatamente identificada con una clave numérica, en la cual se indicaba el número del tritón (orden de ensayo) y la fecha de ensayo (48 horas / 6 días entrenamiento).



Figura 5.2 Ejemplos de marcaje fotográfico del diseño ventral de los tritones ensayados

La variabilidad existente en el diseño ventral del tritón ibérico (número y distribución de manchas) fue utilizada como método de reconocimiento individual.

Los ensayos de orientación magnética se llevaron a cabo en una arena circular sin agua siguiendo el protocolo utilizado en otros experimentos, si bien el ensayo correspondiente a las 48 horas de entrenamiento (16 junio 2006, ensayos de 8:08 a 12:25 GMT) no pudo realizarse al aire libre debido a condiciones meteorológicas especialmente adversas (lluvia continuada), por lo que se llevó a cabo bajo techo, en el interior de un amplio garaje cercano (15 m) al lugar en el que estaban los acuarios (jardín privado al aire libre). En cualquier caso, aunque dicho ensayo no se realizara al aire libre, la metodología seguida fue similar a la de otras ocasiones, con el cubo de Rubens (conteniendo la arena experimental) situado suficientemente distanciado de posibles fuentes de distorsiones magnéticas. Los tritones fueron ensayados bajo condiciones de iluminación homogénea y difusa (luz natural filtrada por las ventanas), de forma que no se crearan sombras artificiales en el interior de la arena circular perceptibles por los tritones.

Tras el primer análisis de la conducta de orientación realizado a las 48 horas de entrenamiento los tritones fueron devueltos a los correspondientes acuarios de entrenamiento, donde permanecieron sin ser molestados durante otros cuatro días adicionales, para finalmente volver a estudiar su orientación magnética el 20 de junio de 2006. Estos últimos ensayos se realizaron al aire libre y a la sombra, bajo condiciones de cielo parcialmente nublado, de 15:22 a 19:25 horas GMT (si bien el desarrollo de los ensayos fue interrumpido de 16:15 a 17:25 GMT aproximadamente, debido a la descarga



de una pequeña tormenta). Durante el periodo de entrenamiento, la temperatura del agua de los acuarios se controló de forma que oscilara entre 15 °C y 20 °C (media = 17.98 ± 0.23), si bien el último día de entrenamiento, previo al ensayo final, se permitió que el agua alcanzara una temperatura de 23 °C, con el objetivo de tratar de elevar la preferencia hacia el extremo del eje-Y correspondiente a la orilla (PHILLIPS, 1986b; DEUTSCHLANDER *et al.*, 2000). Los valores de pH del agua se mantuvieron, igualmente, próximos a los existentes en el medio de origen de los tritones ($\text{pH} \approx 6.5$).

Los análisis estadísticos se realizaron de acuerdo a lo descrito. Puesto que los tritones fueron ensayados a los dos y a los seis días de entrenamiento, comparamos la respuesta individual de orientación de los animales en el primer ensayo con la que tuvieron en el segundo. Para ello se normalizó a 0° el rumbo tomado por cada animal en el primer ensayo y la diferencia angular entre los rumbos tomados por los tritones a los seis días frente a los que tomaron a los dos días fue representada relativa al valor 0°. Así, por ejemplo, un tritón que tomara un rumbo de 100° durante el primer ensayo y un rumbo de 130° durante el segundo, fue representado con una dirección de 30°. Este procedimiento permitió comparar fácilmente las respuestas de los tritones después de dos y seis días de entrenamiento, determinando si los animales mantuvieron en el segundo experimento el rumbo que habían tomado en el primero (hacia 0°) o cambiaron de dirección. Las distribuciones resultantes se analizaron utilizando el test de la V con una dirección esperada de 0° (dirección que los tritones habrían tomado si no hubieran modificado sus arrumbamientos entre el primer y segundo experimentos).

1.2 Resultados

- Orientación magnética respecto al eje-Y en larvas y premetamórficos

Las larvas jóvenes de *L. boscai* ensayadas en julio de 2005, con un estadio V de desarrollo siguieron mayoritariamente rumbos magnéticos de orientación correspondientes a la dirección de eje-Y entrenada, presentando distribuciones bimodales estadísticamente significativas (tabla 5.1). Así, los rumbos magnéticos de las larvas pertenecientes al acuario Norte-Sur se distribuyeron siguiendo un eje medio de



orientación de 2.986°-182.986° (figura 5.3a), cuyos intervalos de confianza del 95 incluyen la dirección entrenada Norte-Sur (360°-180°, tabla 5.1). Por su parte, las larvas entrenadas en el acuario Este-Oeste tomaron rumbos de orientación también coincidentes con la dirección de eje-Y aprendida (90°-270°; figura 5.3b, tabla 5.1). Las distribuciones de rumbos magnéticos correspondientes a los dos acuarios de entrenamiento son prácticamente perpendiculares entre sí y significativamente diferentes, de acuerdo a los resultados del test de Watson-U² ($U^2 = 0.466$, $p < 0.001$). Cuando ambas distribuciones se combinan, agrupando los datos magnéticos respecto a la dirección de la orilla en cada caso (de forma que la orilla quede en posición 360°), se obtiene una distribución global bimodal altamente significativa, con un eje medio coincidente con el eje-Y orilla-aguas profundas (figura 5.3c, tabla 5.1).

| <i>Condición entrenamiento</i> | LARVAS (estadio V) | | | | |
|--------------------------------|---------------------------|----------|----------|-----------------------|--------------------|
| | vector medio | r | n | p | IC 95% |
| Norte-Sur | 2.986°-182.986° | 0.459 | 25 | 0.004 | 347°-19°,167°-199° |
| Este-Oeste | 93.288°-273.288° | 0.539 | 24 | 6.01×10^{-4} | 80°-107°,260°-287° |
| Rumbos combinados* | 3.146°-183.146° | 0.498 | 49 | 2.52×10^{-6} | 353°-14°,73°-194° |

Tabla 5.1 Resultados estadísticos correspondientes a las distribuciones de rumbos magnéticos seguidos por larvas de tritón ibérico entrenadas y ensayadas bajo iluminación natural de espectro total

*Los rumbos combinados corresponden a la distribución global de rumbos magnéticos seguidos por individuos de ambos acuarios, agrupados respecto a la dirección de orilla.

Al analizar de forma comparativa los datos magnéticos de cada acuario de entrenamiento, girados de forma que la dirección de la orilla quede en 360° en ambos (giro de 90° para los rumbos de larvas entrenadas en E-O), observamos que las larvas entrenadas bajo una y otra condición respondieron de forma similar ($U^2 = 0.071$, $0.5 > p > 0.2$, test de Watson U²) sin que se aprecien diferencias significativas derivadas del tipo de protocolo de entrenamiento seguido (activo en el acuario N-S y entrenamiento pasivo en el tanque E-O).

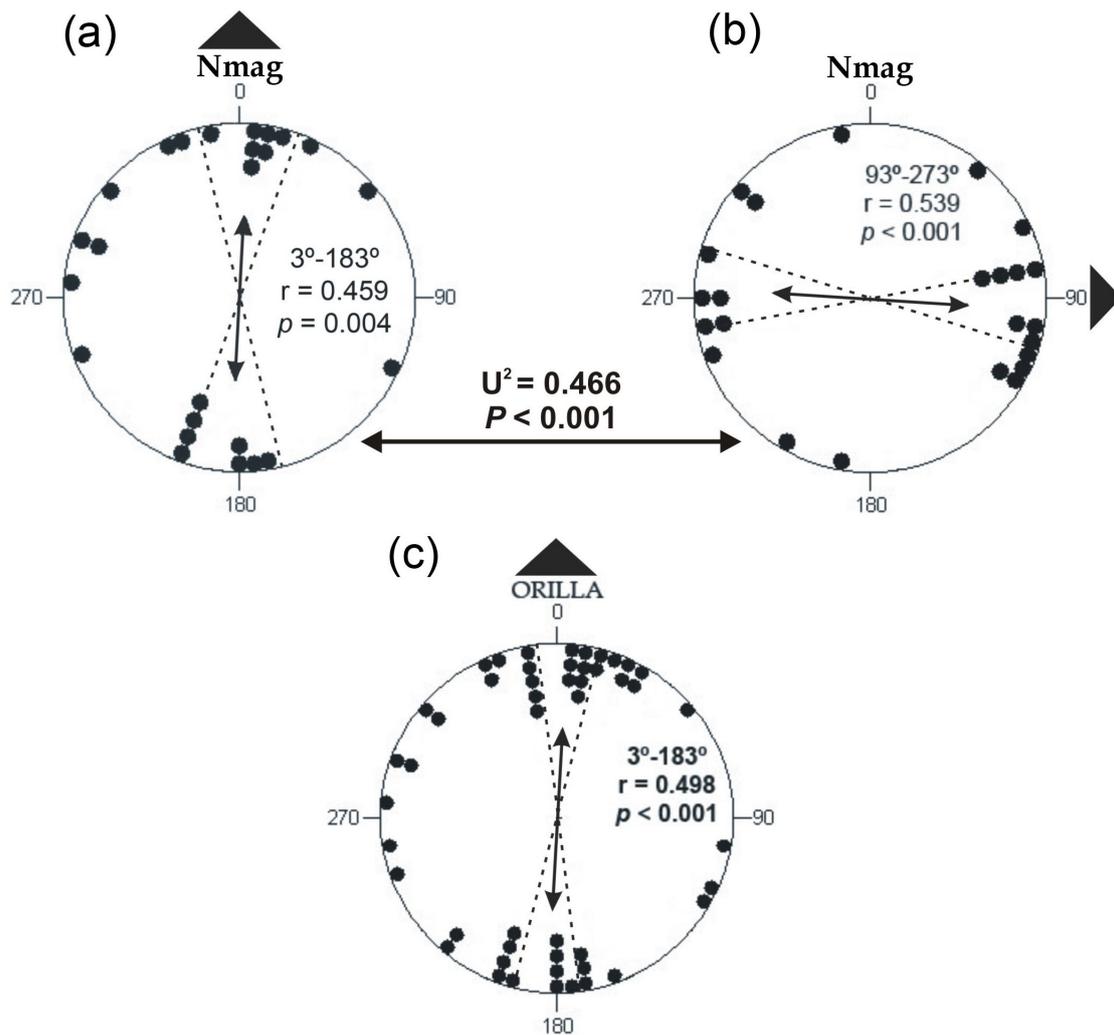


Figura 5.3 Orientación magnética a lo largo del eje-Y por larvas jóvenes de tritón ibérico (estadio V) entrenadas y ensayadas bajo iluminación natural de espectro total

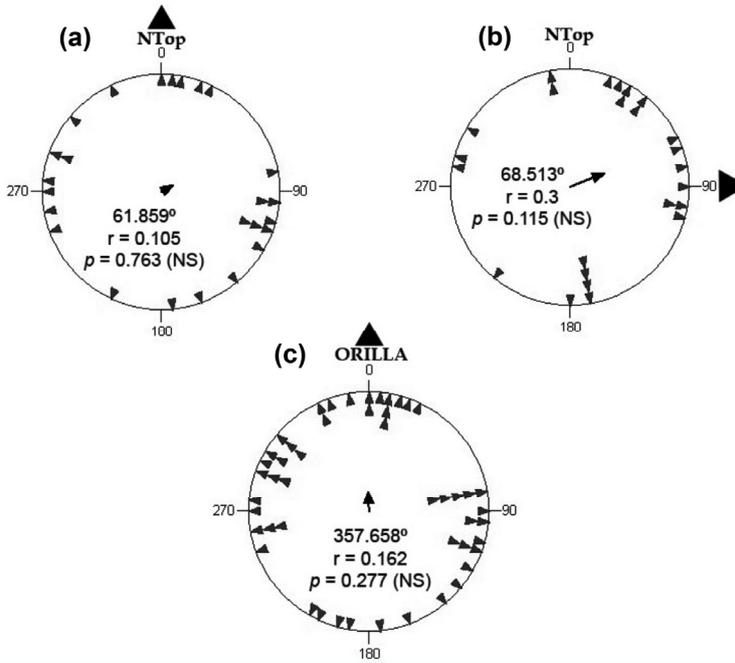
Se representan los diagramas circulares correspondientes a las distribuciones de rumbos magnéticos (cada punto representa el rumbo seguido por un individuo normalizado respecto a la dirección del Norte magnético). El triángulo exterior indica la posición de la orilla en cada caso. Se muestran los ejes medios de orientación (flecha interior, con longitud proporcional a 'r', correspondiendo el diámetro de cada círculo a $r=1$) y los intervalos de confianza del 95% (líneas discontinuas) para cada distribución. **(a):** Rumbos magnéticos de las larvas entrenadas en un eje-Y a lo largo de la dirección Norte-Sur. **(b):** Rumbos magnéticos de las larvas entrenadas en un eje-Y a lo largo de la dirección Este-Oeste. **(c):** Distribución combinada de rumbos de ambos acuarios, agrupados respecto a la dirección magnética de la orilla.

A diferencia de los rumbos magnéticos, los rumbos topográficos tomados por las larvas jóvenes ensayadas se distribuyen de forma aleatoria (acuario N-S: 61.859° , $r = 0.105$, test de Rayleigh $p = 0.763$; acuario E-O: 68.513° , $r = 0.3$, $p = 0.115$; figura 5.4). Asimismo, las distribuciones de rumbos topográficos agrupados respecto a la posición



del sol en el momento de los ensayos (considerando los rumbos como desviaciones respecto del acimut solar) resultan igualmente no significativas (acuario N-S: 209.131° , $r = 0.058$, test de Rayleigh $p = 0.921$; acuario E-O: 233.655° , $r = 0.131$, $p = 0.667$; figura 5.5).

Figura 5.4 Distribuciones de rumbos topográficos seguidos por larvas jóvenes de *L. boscai* (estadio V)



Se representan los rumbos de orientación medidos respecto a la dirección norte ambiental siguiendo la simbología descrita en la figura 5.3.

(a): Rumbos topográficos correspondientes a las larvas entrenadas en el acuario N-S.

(b): Rumbos topográficos de las larvas entrenadas en el acuario E-O.

(c): Distribución combinada de rumbos de ambos acuarios, agrupados respecto a la dirección de la orilla.

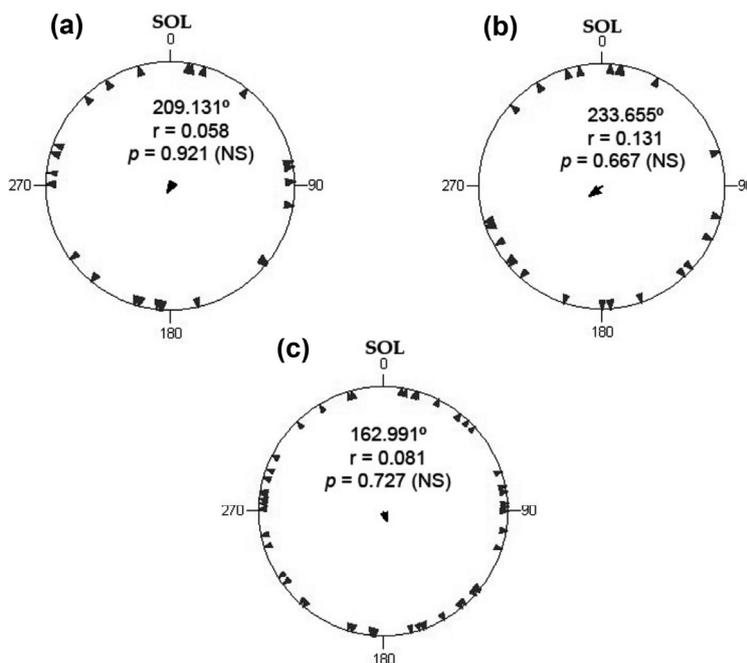


Figura 5.5 Diagramas circulares de desviaciones respecto al acimut solar de los rumbos topográficos seguidos por larvas jóvenes de *L. boscai* (estadio V)

(a): Acuario N-S. (b): Acuario E-O.

(c): Distribución combinada de rumbos topográficos, agrupados respecto a la dirección de la orilla y representados respecto a la posición del acimut solar.



De forma similar a los resultados obtenidos en el experimento con larvas jóvenes, las larvas ensayadas durante el proceso de metamorfosis (estadio VI; agosto de 2004) tomaron rumbos de orientación magnética distribuidos a lo largo del eje-Y entrenado (tabla 5.2; figura 5.6) Al igual que lo ocurrido con larvas más jóvenes, las dos distribuciones de rumbos magnéticos tomados por larvas metamórficas, correspondientes a las configuraciones de entrenamiento Norte-Sur y Este-Oeste, son estadísticamente diferentes ($U^2 = 0.372$, $p < 0.001$, test de Watson- U^2), con ejes medios de orientación prácticamente perpendiculares entre sí. Al agrupar ambas distribuciones y normalizarlas respecto a la dirección magnética de la orilla, la distribución de rumbos magnéticos resultante muestra de nuevo una alta significación estadística (figura 5.6c), con eje medio de orientación coincidente con el eje-Y (tabla 5.2). En todos los casos, los rumbos topográficos de las larvas ensayadas en proceso de metamorfosis mostraron, a diferencia de los rumbos magnéticos, una distribución estadísticamente uniforme o aleatoria (acuario N-S: 50.848° , $r = 0.106$, test de Rayleigh $p = 0.899$; acuario E-O: 134.066° , $r = 0.148$, $p = 0.792$; figura 5.7). Igualmente, el análisis de las desviaciones de dichos rumbos topográficos respecto a la dirección del acimut solar proporcionó resultados no significativos (acuario N-S: 198.378° , $r = 0.179$, test de Rayleigh $p = 0.737$; acuario E-O: 175.627° , $r = 0.501$, $p = 0.06$; figura 5.8).

Tal como se ha comentado previamente, algunas de las larvas estudiadas en proceso de metamorfosis acabaron completando dicha metamorfosis durante el periodo de entrenamiento. Los rumbos de orientación de esos individuos juveniles recién metamorfoseados fueron analizados de forma separada, resultando distribuciones estadísticamente no significativas (147.427° , $n = 7$, $r = 0.378$, $p = 0.382$, test de Rayleigh para la distribución de rumbos magnéticos agrupada respecto a la orilla; tabla 5.2); en cualquier caso, el reducido tamaño muestral hace que este resultado sea poco fiable.



| <i>Condición entrenamiento</i> | vector medio | r | n | p | IC 95% |
|-------------------------------------|------------------------|----------|----------|-------------------------|--------------------|
| PREMETAMÓRFICOS (estadio VI) | | | | | |
| Norte-Sur | 7.813°-187.813° | 0.687 | 10 | 0.006 | 352°-24°,172-204° |
| Este-Oeste | 89.695°-269.695° | 0.539 | 11 | 0.037 | 68°-111°,248°-291° |
| Rumbos combinados* | 4.053°-184.053° | 0.604 | 21 | 2.47 x 10 ⁻⁴ | 351°-17°,171°-197° |
| Juveniles terrestres | | | | | |
| Norte-Sur | 90.237° | 0.271 | 4 | 0.77 | |
| Este-Oeste | 81.262° | 0.631 | 3 | 0.196 | |
| Rumbos combinados* | 147.427° | 0.378 | 7 | 0.382 | |

Tabla 5.2 Resultados estadísticos correspondientes a las distribuciones de rumbos magnéticos seguidos por larvas de tritón ibérico ensayadas bajo iluminación natural de espectro total durante el proceso de metamorfosis

Los resultados obtenidos en los experimentos realizados con larvas jóvenes y en metamorfosis fueron comparados entre sí, obteniéndose resultados no significativos en los test de Watson-U² llevados a cabo con distribuciones de rumbos magnéticos de una y otra categoría de edad agrupadas respecto a la orilla ($U^2 = 0.044, p > 0.5$). Por lo tanto, ha de considerarse que las larvas de tritón ibérico muestran similar orientación magnética bimodal a lo largo del eje-Y, se encuentren en proceso de metamorfosis o en estadios más tempranos, anteriores al mismo.

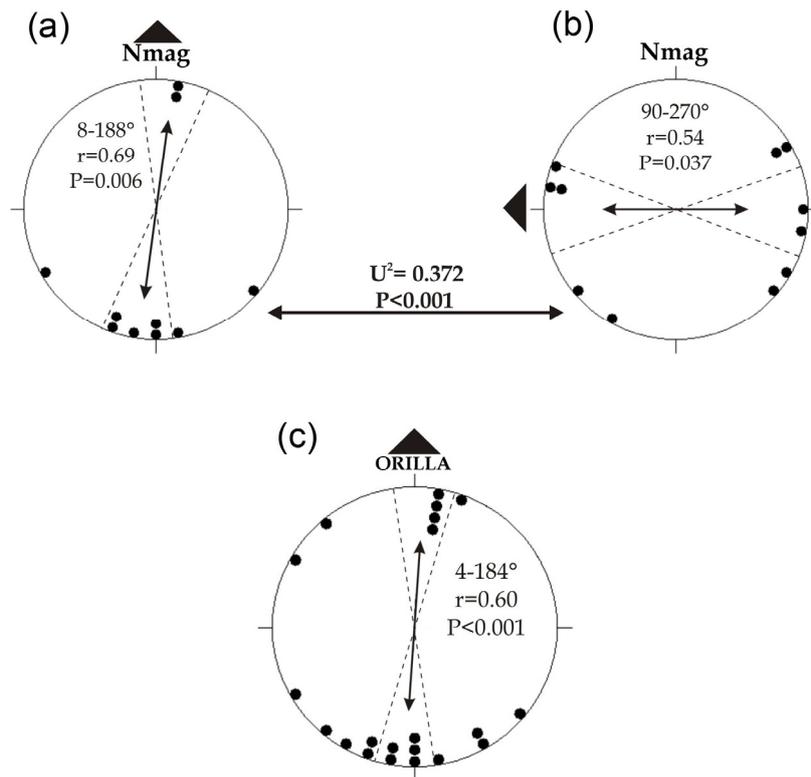
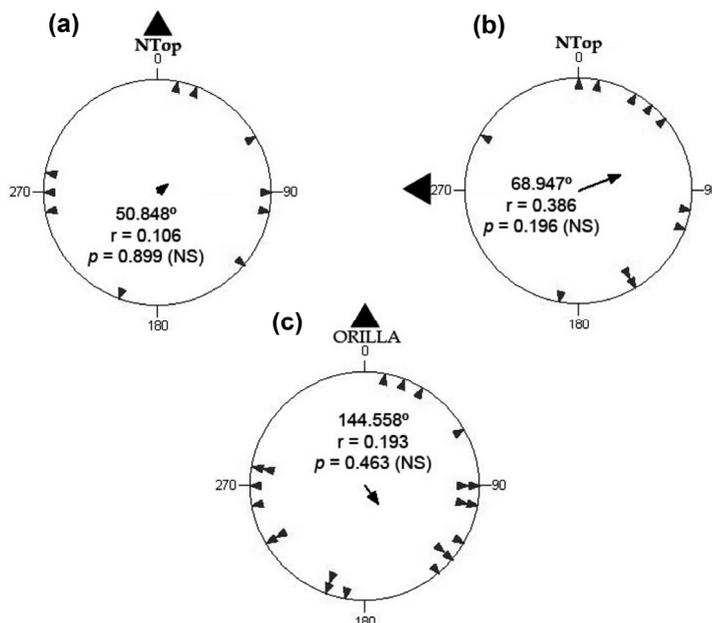


Figura 5.6 Orientación magnética a lo largo del eje-Y por parte de larvas de tritón ibérico en proceso de metamorfosis (estadio VI) entrenadas y ensayadas bajo iluminación natural

Se representan los diagramas circulares correspondientes a las distribuciones de rumbos magnéticos, siguiendo la simbología habitual. **(a):** Rumbos magnéticos de individuos entrenados en el acuario orientado Norte-Sur. **(b):** Rumbos magnéticos de individuos entrenados en el acuario orientado Este-Oeste. **(c):** Distribución combinada de rumbos magnéticos de ambos acuarios, agrupados respecto a la dirección de la orilla. (Modificado de RODRÍGUEZ-GARCÍA & DIEGO-RASILLA, 2006a).

Figura 5.7 Rumbos topográficos seguidos por larvas en proceso de metamorfosis (estadio VI)



Se representan los rumbos de orientación medidos respecto a la dirección norte magnética ambiental (norte topográfico, *NTop*), siguiendo la simbología habitual **(a):** Rumbos topográficos correspondientes a las larvas metamórficas entrenadas en el acuario N-S. **(b):** Rumbos topográficos de las larvas entrenadas en el acuario E-O. **(c):** Distribución combinada de rumbos topográficos de ambos acuarios, agrupados respecto a la dirección de la orilla.

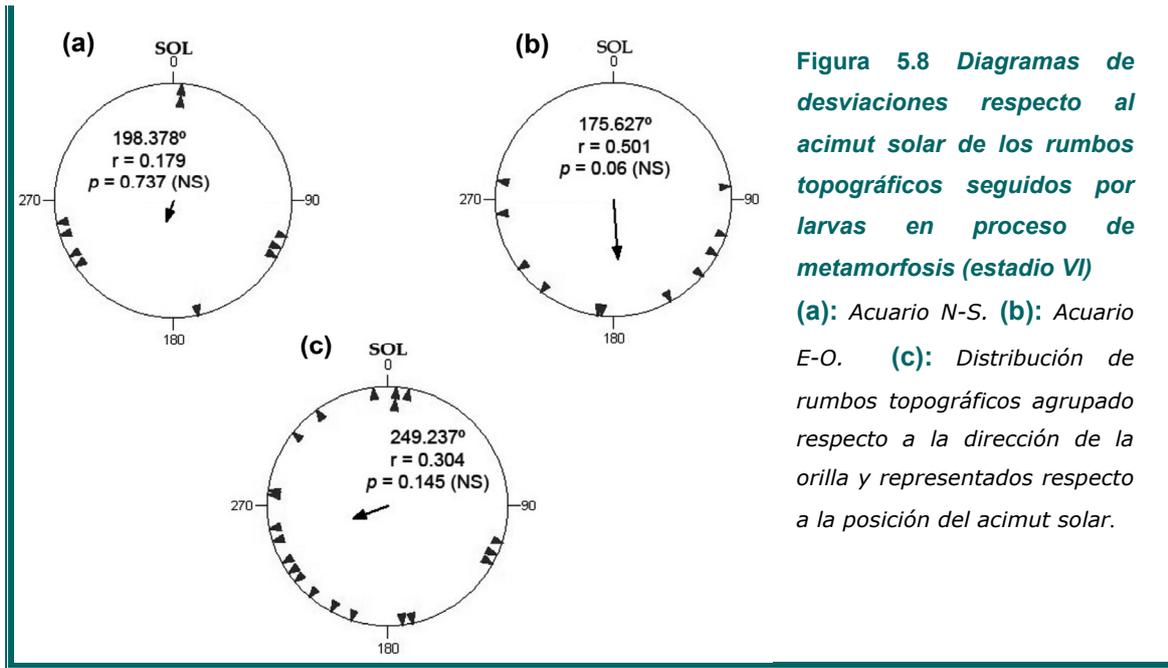


Figura 5.8 Diagramas de desviaciones respecto al acimut solar de los rumbos topográficos seguidos por larvas en proceso de metamorfosis (estadio VI) (a): Acuario N-S. (b): Acuario E-O. (c): Distribución de rumbos topográficos agrupado respecto a la dirección de la orilla y representados respecto a la posición del acimut solar.

- Orientación magnética respecto al eje-Y en tritones adultos: aprendizaje rápido del eje-Y

Los tritones ibéricos adultos mostraron una respuesta de orientación respecto al eje-Y análoga a la presentada por individuos metamórficos y larvas, con rumbos de orientación magnética distribuidos de forma bimodal (tabla 5.3, pag. 243). En las pruebas de orientación realizadas tras dos días de entrenamiento en los acuarios ya mostraron una orientación estadísticamente significativa, tomando rumbos respecto a la posición del Norte magnético coincidentes con la dirección de eje-Y entrenada (acuario Norte Sur, figura 5.9a; y acuario Este-Oeste, figura 5.9b, pag. 244) Las distribuciones de rumbos magnéticos correspondientes a tritones entrenados en uno y otro acuario son prácticamente perpendiculares y significativamente diferentes entre sí ($U^2 = 0.476$, $p < 0.001$, test de Watson- U^2), y al combinarlas girando los rumbos respecto a la posición de la orilla se origina una distribución global de rumbos de orientación magnética altamente significativa (figura 5.9c) a lo largo del eje orilla-aguas profundas (incluido en los IC 95% para la media, tabla 5.3).

Por su parte, el ensayo de la orientación de los tritones tras un mayor periodo de permanencia en los acuarios (seis días de entrenamiento) resultó en distribuciones de rumbos magnéticos similares a las obtenidas en la primera prueba, manteniéndose la distribución bimodal a lo largo del eje-Y magnético correspondiente a uno y otro acuario



de entrenamiento (figuras 5.9d y 5.9e). De nuevo, las distribuciones de los rumbos magnéticos tomados por los tritones del acuario N-S y del acuario E-O después de los seis días de entrenamiento son significativamente diferentes y, aproximadamente, perpendiculares entre sí ($U^2 = 0.407$, $p < 0.001$; test de Watson- U^2). Al agrupar los rumbos magnéticos de ambas condiciones de entrenamiento respecto a la posición de la orilla obtenemos de nuevo una distribución altamente significativa con intervalos de confianza del 95% para la media incluyendo el eje magnético orilla-aguas profundas (figura 5.9f).

Los resultados de orientación magnética a lo largo del eje-Y son muy parecidos tanto en los primeros ensayos de orientación, realizados a las 48 horas de entrenamiento, como en las pruebas efectuadas tras una semana completa de aprendizaje. La comparación estadística mediante análisis de Watson- U^2 entre distribuciones de rumbos magnéticos iniciales y finales tomados por los tritones de una misma condición de entrenamiento no revela diferencias significativas. Así, no existen diferencias significativas entre las distribuciones globales respecto a la dirección de la orilla a las 48 horas y a los 6 días de entrenamiento (ver figura 5.9c y 5.9f; $U^2 = 0.047$, $p > 0.5$; test de Watson- U^2). Asimismo, el análisis individual de los rumbos tomados por cada tritón en una y otra prueba de orientación no permite discernir ninguna tendencia consistente en las preferencias direccionales hacia uno y otro extremo del eje-Y. Aproximadamente la mitad de tritones en cada acuario mantuvieron tras la semana de entrenamiento rumbos próximos a los tomados en el primer ensayo (a las 48 horas), con similares preferencias hacia el extremo de orilla y el extremo de aguas profundas del eje-Y, mientras que un número muy parecido de tritones cambiaron en mayor o menor grado sus preferencias direccionales (cambiando de una orientación inicial hacia rumbos próximos a la orilla a una orientación final con preferencia a las zonas profundas, o viceversa). Así, el análisis circular de las desviaciones entre rumbos finales e iniciales seguidos por cada tritón empleando el test de la V (con dirección esperada = 0°) muestra resultados no significativos, tanto para el Acuario N-S (media de 111.497° ; $n = 14$; $r = 0.169$; $p = 0.627$) como para el acuario E-O (media de 289.771° ; $n = 14$; $r = 0.203$; $p = 0.36$), lo que indica la ausencia de relación entre el primer y el segundo rumbo tomado por cada tritón.

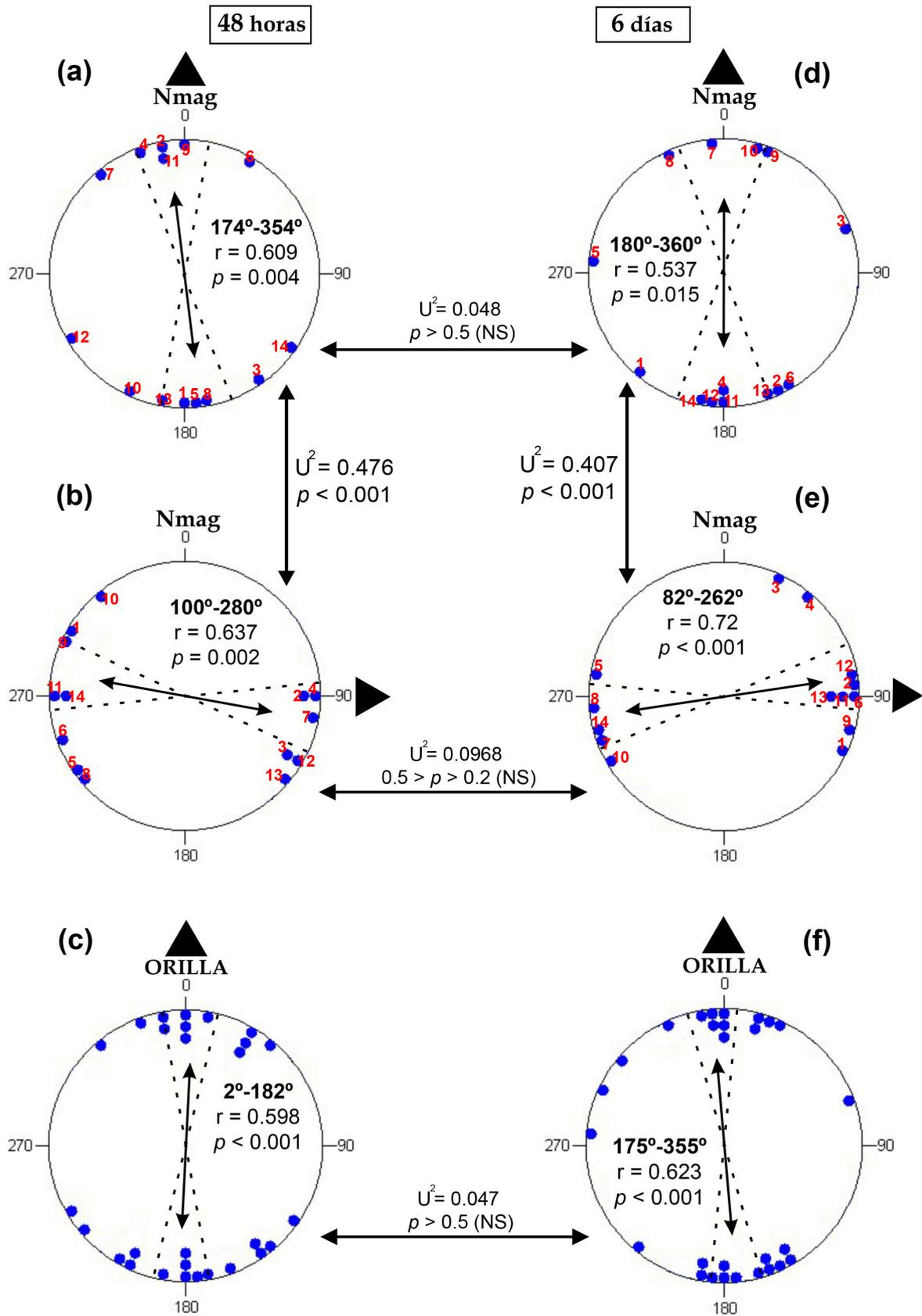


| <i>Condición entrenamiento</i> | Rumbos magnéticos tras 48 horas | | | | |
|--------------------------------------|--|----------|----------|-------------------------|--------------------|
| | vector medio | r | n | p | IC 95% |
| Norte-Sur | 173.682°-353.682° | 0.609 | 14 | 0.004 | 338°-10°,158°-190° |
| Este-Oeste | 100.194°-280.194° | 0.637 | 14 | 0.002 | 85°-115°,265°-295° |
| Rumbos combinados | 2.128°-182.128° | 0.598 | 28 | 1.83 x 10 ⁻⁵ | 351°-13°,171°-193° |
| Rumbos magnéticos tras 6 días | | | | | |
| Norte-Sur | 179.611°-359.611° | 0.537 | 14 | 0.015 | 341°-19°,161-199° |
| Este-Oeste | 81.817°-261.817° | 0.72 | 14 | 2.57 x 10 ⁻⁴ | 68°-95°,248°-275° |
| Rumbos combinados | 355.142°-175.142° | 0.623 | 28 | 6.33 x 10 ⁻⁶ | 346°-6°,166°-186° |

Tabla 5.3 Resultados estadísticos correspondientes a las distribuciones de rumbos magnéticos seguidos por tritones ibéricos adultos ensayados tras dos y seis días de permanencia en los acuarios (entrenamiento y ensayos bajo luz natural de espectro total)

Figura 5.9 (PÁGINA SIGUIENTE) Orientación magnética a lo largo del eje-Y por parte de tritones ibéricos adultos

Se representan los diagramas circulares correspondientes a las distribuciones de rumbos magnéticos obtenidos a las 48 horas (diagramas de la izquierda, **-a,b,c-**) y a los seis días de entrenamiento (derecha, **-d,e,f-**). Cada punto azul representa el rumbo magnético seguido por un individuo (numerados en rojo en **a, b, d y e** para posibilitar la comparación entre respuestas iniciales y finales de cada tritón). El triángulo exterior negro indica la posición de la orilla en cada caso y se sigue la simbología habitual. **(a, b):** Rumbos magnéticos tomados por los tritones entrenados en el acuario Norte-Sur **(a)** y en el acuario Este-Oeste **(b)** tras 48 horas de aprendizaje del eje-Y. **(c):** Distribución combinada de rumbos magnéticos de ambos acuarios a las 48 horas, agrupados respecto a la dirección de la orilla. **(d, e):** Rumbos magnéticos a los 6 días de entrenamiento en el acuario N-S **(d)** y en el acuario E-O **(e)**. **(f):** Combinación de rumbos magnéticos respecto a la orilla a los 6 días de entrenamiento.





Tanto en los ensayos iniciales de orientación realizados a las 48 horas de entrenamiento (figura 5.10), como en los finales, realizados después de seis días de entrenamiento (figura 5.11 a,b,c), los rumbos topográficos tomados por los tritones de ambas condiciones de entrenamiento se distribuyen aleatoriamente. Igualmente, el análisis de los rumbos topográficos con respecto a la posición solar en los ensayos finales de orientación, realizados al aire libre tras seis días de entrenamiento muestra resultados no significativos (figura 5.11 d, e, f).

Figura 5.10 Distribuciones de rumbos topográficos seguidos por tritones ibéricos adultos ensayados a las 48 horas de entrenamiento en los acuarios

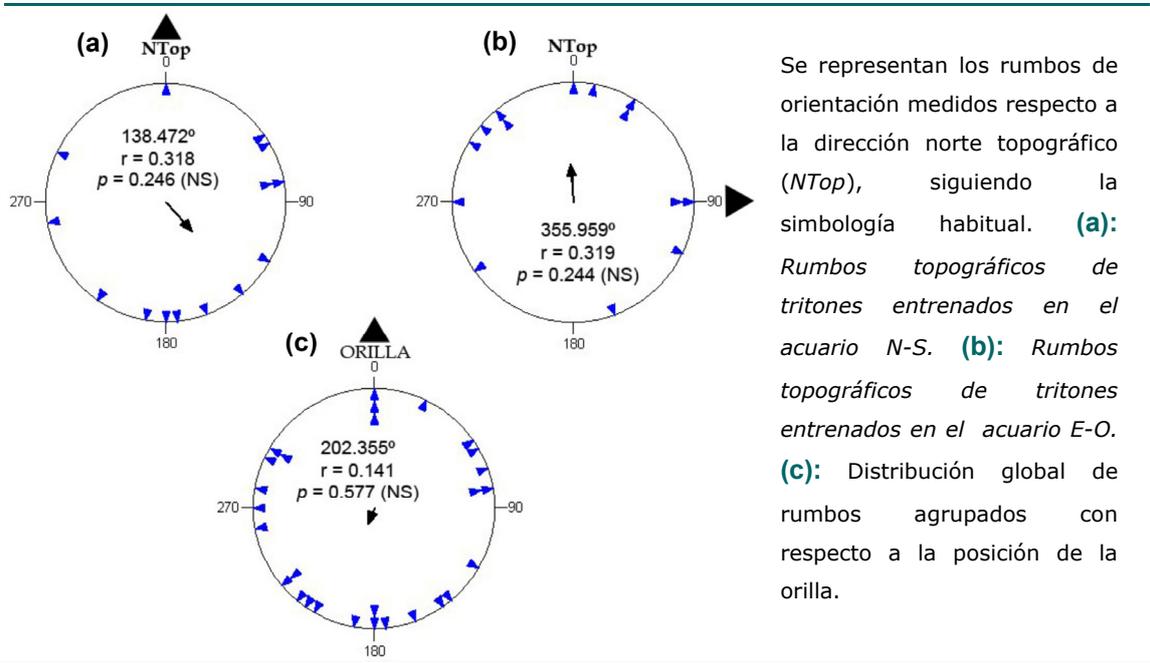
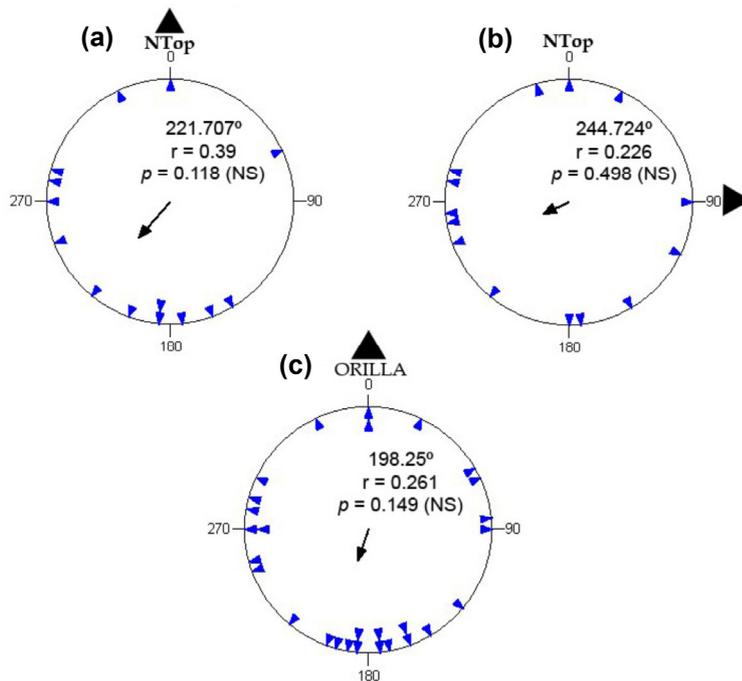
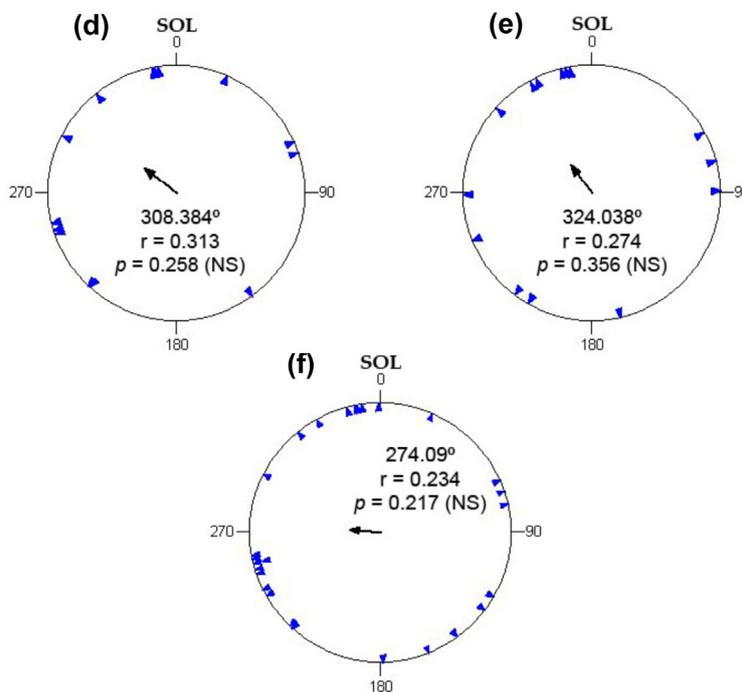




Figura 5.11 Diagramas circulares de rumbos topográficos seguidos por tritones ibéricos adultos ensayados tras 6 días de entrenamiento en los acuarios



(a, b, c): Rumbos de orientación respecto a la dirección Norte geográfica o topográfica. (a: acuario N-S; b: acuario E-O; c: distribución de rumbos topográficos agrupados respecto a la posición de la orilla).



(d, e, f): Desviaciones respecto al acimut solar de los rumbos topográficos seguidos por los tritones (d: acuario N-S; e: acuario E-O; f: distribución combinada de rumbos topográficos, agrupados respecto a la dirección de la orilla y representados respecto a la posición del acimut solar).



2. Efecto directo de la longitud de onda de la luz sobre el compás magnético de larvas de tritón ibérico

2.1 Metodología

Una vez analizada la conducta de orientación de larvas y adultos de *Lissotriton boscai* bajo condiciones de iluminación natural (tanto en los entrenamientos en los acuarios como en los posteriores ensayos de la conducta de orientación, ver sección V-1), se desarrollaron dos experimentos adicionales con el objetivo de profundizar en el estudio de la influencia de la longitud de onda de la luz incidente sobre el sentido de compás magnético dependiente de la luz (ya descubierto en la orientación de regreso al hogar de esta misma especie, ver sección IV-1). En sendos experimentos, llevados a cabo en dos años consecutivos (2006 y 2007), fue estudiado el comportamiento de orientación respecto al eje-Y de larvas de tritón ibérico tras la aplicación de diferentes filtros de luz monocromática durante el periodo de entrenamiento y/o ensayos. En un experimento, las larvas fueron entrenadas bajo iluminación de espectro total y ensayadas bajo iluminación de longitud de onda corta o longitud de onda larga, mientras que en un segundo experimento se llevó a cabo un entrenamiento bajo luz de longitudes de onda larga, seguido de un ensayo de la conducta de orientación bajo espectro total u onda larga. Ambos experimentos se llevaron a cabo en un mismo lugar de experimentación, situado al aire libre y localizado en un jardín privado de la localidad de Santa Marta de Tormes (Salamanca, 40°56'58'' N, 5°37'05'' O).

En un primer experimento un total de 65 larvas de *L. boscai* (capturadas previamente en la fuente nº 3) fueron entrenadas siguiendo el protocolo general descrito en secciones anteriores y permanecieron en los acuarios de entrenamiento durante seis días completos, del 26 de julio al 1 de agosto de 2006, sin ser molestadas y bajo condiciones de iluminación natural (luz solar de espectro total). Todas las larvas empleadas en el experimento (33 larvas en acuario N-S, con orilla en dirección N, y 32 larvas en acuario E-O, con orilla en E) presentaban, en el momento de los ensayos de orientación, un grado de desarrollo correspondiente al estadio V de la clasificación de BRAÑA (1980). Durante el entrenamiento, la temperatura del agua en los acuarios osciló entre 16 °C y 22 °C (media: 18.46°C ± 0.26), mientras que el pH fue mantenido en



valores próximos a 6.5 (similares a los valores del agua en la fuente de origen de los individuos). Tras los seis días de entrenamiento, la orientación magnética de las larvas fue estudiada durante las horas de luz solar del 1 de agosto de 2006 (ensayos de 8:28 a 18:55 GMT), en una arena circular con 1 cm de profundidad de agua (bajo cuatro alineamientos de campo magnético, al aire libre y siguiendo el resto de la metodología general ya descrita). Las larvas fueron ensayadas bajo dos condiciones experimentales, correspondientes a iluminación de banda ancha (longitudes de onda largas, con luz de $\lambda \geq 500$ nm, zona amarilla del espectro luminoso) y a luz de onda corta ($\lambda \leq 450$ nm, extremo azul del espectro), gracias al empleo de filtros específicos en la cara superior del aparato de ensayos (ver sección II-3.2). Puesto que los laterales del cubo de Rubens (y los bordes de la cara superior) se encontraban completamente tapados hasta el suelo por varias capas de cortinas de color negro, gruesas y opacas, la absoluta mayoría de la luz solar incidente en el momento de los ensayos pasaba al interior del cubo a través del filtro colocado sobre el aparato, quedando la arena experimental iluminada con luz de las características deseadas. En este caso, durante cada ensayo individual, la respuesta de orientación fue registrada mediante observación directa desde una posición superior al aparato experimental (observando la arena a través del filtro de color) o lateral, a una distancia y ángulo estimados como suficientes para que el investigador no fuera visible por las larvas (y pudiera interferir en su respuesta).

Los ensayos de orientación se llevaron a cabo alternando alineamientos de campo magnético, grupos de larvas procedentes de uno y otro acuario de entrenamiento (N-S o E-O) y condiciones experimentales (iluminación con longitud de onda larga o longitud de onda corta). Así, en primer lugar, fueron ensayadas bajo iluminación filtrada de longitud de onda larga cuatro larvas procedentes del acuario N-S (cada una bajo un alineamiento de campo magnético con N magnético en posición N, E, O o S topográfica), seguidas de otra cuatro entrenadas en el acuario E-O (y ensayadas también bajo luz de λ larga en cada uno de los cuatro alineamientos magnéticos). Tras esas ocho primeras larvas, el filtro de iluminación fue sustituido y se ensayaron, esta vez bajo luz de longitud de onda corta, cuatro larvas del acuario N-S y, seguidamente, cuatro larvas del acuario E-O. A continuación se volvió a cambiar el filtro, sustituyéndolo por el transparente a longitudes de onda largas, y se ensayaron otras 8 larvas (primero cuatro larvas del acuario N-S y luego cuatro larvas del acuario E-O, en los correspondientes alineamientos magnéticos). Posteriormente, de nuevo ocho larvas (cuatro de cada



condición de entrenamiento) fueron ensayadas bajo luz de longitud de onda corta y así sucesivamente.

Una vez realizado el experimento anteriormente descrito, con entrenamiento en los acuarios bajo iluminación de espectro total y ensayos bajo luz monocromática de longitud de onda larga o corta, se llevó a cabo un segundo experimento con el objetivo de contrastar de forma definitiva la existencia o no de un efecto directo de la luz incidente sobre la percepción de la dirección del campo geomagnético. A diferencia del estudio de la orientación de regreso al hogar, el análisis de la orientación respecto al eje-Y posee la ventaja de que no sólo permite variar las condiciones experimentales a la hora de registrar la respuesta direccional, sino que también hace posible aplicar condiciones especiales de iluminación durante el periodo de memorización o aprendizaje de la dirección de orientación. De esta forma, en un experimento adicional fueron entrenadas larvas de *L. boscai* (en un estado de desarrollo V) en este caso no bajo iluminación natural de espectro total, sino bajo luz monocromática de longitudes de onda larga ($\lambda \geq 500$ nm), gracias a la aplicación del correspondiente filtro de iluminación a los acuarios de entrenamiento. La cara superior de cada acuario fue cubierta por un filtro de gelatina Lee nº 101 (idéntico al usado en el experimento anterior para conseguir iluminación de banda ancha durante los ensayos de orientación), colocado entre dos láminas de metacrilato transparente (82 cm x 42 cm de lado, 0.4 cm de grosor), mientras que las caras laterales fueron completamente tapadas por cartulinas de color negro, impidiéndose de esta forma que la luz solar llegara a las larvas a través de los laterales del acuario y consiguiéndose una iluminación homogénea con longitudes de onda largas (fracción de la luz solar transmitida a través de la cara superior del acuario) durante el periodo de entrenamientos. Las larvas utilizadas en este experimento fueron capturadas en las fuentes nº 3 y nº 6 (ver sección II-2.5) y el periodo de entrenamiento se desarrolló del día 13 de julio al día 20 de julio de 2007, periodo durante el cual las larvas permanecieron sin ser molestadas en el interior de los acuarios (33 larvas, procedentes de la fuente nº 6, en el acuario N-S, con orilla en posición N, y 33 larvas procedentes de la fuente nº 3 en el acuario E-O, con orilla en posición E). El protocolo de entrenamiento se desarrolló de acuerdo a la metodología general descrita. La temperatura de los acuarios se mantuvo entre 15 y 19°C (media: 17.32 °C \pm 0.19) y el pH del agua entre 6 y 6.5. Los ensayos de orientación se llevaron a cabo tras la semana de entrenamiento, el día 20 de julio de 2007, de 8:15 a 16:45 GMT, utilizando el mismo aparato de ensayos y



protocolo que en experimentos anteriores, empleándose en este caso dos condiciones de iluminación distintas. La mitad de las larvas de cada acuario fueron ensayadas bajo luz de longitudes de onda largas idéntica a la experimentada por las larvas durante el entrenamiento en los acuarios ($\lambda \geq 500$ nm, gracias a la aplicación del filtro correspondiente), mientras que la conducta de la otra mitad de las larvas fue registrada bajo iluminación natural de espectro total (aparato de ensayos descubierto). La metodología de ensayos fue similar a la empleada en el experimento descrito con anterioridad, con la salvedad de que en este caso las larvas fueron transportadas directamente desde los acuarios hasta el cilindro de liberación situado en el centro de la arena experimental (es decir, no hubo periodo de aislamiento de 5 minutos previo al ensayo de cada larva). Al igual que en experimentos anteriores se ensayaron grupos de larvas procedentes de cada tanque de entrenamiento de forma alterna, combinando ambas condiciones de iluminación y los cuatro alineamientos de campo magnético.

2.2 Resultados

Las larvas de tritón ibérico mostraron comportamientos de orientación magnética respecto al eje-Y diferentes en función de las condiciones de iluminación experimentadas durante su entrenamiento en los acuarios y en el momento de ensayo de su conducta de orientación (tablas 5.4, pag. 252, y 5.5, pag. 257). Aquellas larvas que realizaron un aprendizaje de direcciones de eje-Y bajo luz natural de espectro total y fueron posteriormente ensayadas bajo luz de longitudes de onda corta ($\lambda \leq 450$ nm) siguieron rumbos magnéticos de orientación similares a los obtenidos en ensayos bajo iluminación de espectro total, coincidentes con la dirección de eje-Y entrenada en cada caso. Así, en las larvas entrenadas en el acuario Norte-Sur los rumbos magnéticos tomados bajo longitudes de onda de menos de 450 nm se distribuyen de forma bimodal a lo largo de un eje medio cuyos intervalos de confianza del 95% ($337^\circ-6^\circ$, $157^\circ-186^\circ$) incluyen la dirección entrenada (figura 5.12a, pag. 253). Por su parte, los rumbos magnéticos pertenecientes a larvas entrenadas bajo luz natural en el acuario Este-Oeste y ensayadas bajo onda corta siguen un eje medio de $88.791^\circ-268.791^\circ$, coherente de nuevo con la dirección entrenada de $90^\circ-270^\circ$ (figura 5.12b). Ambas distribuciones de rumbos pertenecientes a las dos condiciones de entrenamiento de eje-Y (entrenamiento bajo luz de espectro total en acuarios N-S y E-O y ensayos con iluminación de onda corta) son



casi perpendiculares y significativamente diferentes entre sí ($U^2 = 0.702$, $p < 0.001$, test de Watson- U^2), pudiendo combinarse con respecto a la posición magnética de la orilla para crear una distribución global de datos de orientación magnética bajo longitud de onda corta, la cual es altamente significativa respecto al eje-Y (tabla 5.4; figura 5.12c). Esta respuesta de orientación magnética bajo iluminación de onda corta a lo largo del eje-Y entrenado es estadísticamente idéntica a los resultados obtenidos en experimentos análogos con ensayos bajo condiciones de iluminación natural de espectro total (ver sección 5.1.2 y figura 5.12g; $U^2 = 0.185$, $0.1 > p > 0.05$, test de Watson- U^2 entre distribuciones de rumbos magnéticos agrupados con respecto a la orilla pertenecientes a larvas ensayadas bajo espectro total -estadio de desarrollo V- e iluminación de onda corta).

En contraste con la orientación coherente con el eje-Y entrenado mostrada bajo iluminación de onda corta, aquellas larvas entrenadas también bajo luz natural en el mismo experimento pero ensayadas con iluminación de longitudes de onda larga ($\lambda \geq 500$ nm) respondieron siguiendo unos rumbos magnéticos de orientación bimodal no coincidentes con el eje-Y entrenado, sino perpendiculares a éste (tabla 5.4). De esta forma, los rumbos magnéticos de las larvas entrenadas en el acuario Norte-Sur bajo espectro total y ensayadas bajo longitudes de onda largas siguieron un eje medio de 95.325° - 275.325° (figura 5.12d), mientras que los rumbos magnéticos de las larvas entrenadas bajo espectro total en el acuario Este-Oeste y ensayadas bajo luz de onda larga siguieron una distribución con eje medio 176.133° - 356.133° (figura 5.12e). En ambos casos, los intervalos de confianza del 95% no incluyen la dirección entrenada. Ambas distribuciones de rumbos magnéticos pertenecientes a larvas de uno y otro acuario, obtenidas bajo iluminación de onda larga tras entrenamiento con luz natural, son a su vez perpendiculares entre sí ($U^2 = 0.332$, $p < 0.002$, test de Watson- U^2). La combinación de estos dos grupos de entrenamiento con respecto a la dirección magnética de la orilla resulta en una distribución de eje medio de nuevo perpendicular al eje orilla-aguas profundas entrenado (figura 5.12f). En este caso, por lo tanto, las respuestas de orientación magnética bajo condiciones de iluminación de más de 500 nm de longitud de onda tras entrenamiento bajo espectro total resultan significativamente diferentes a las distribuciones de rumbos magnéticos de aquellas larvas ensayadas bajo luz de onda corta o espectro total, que sí se orientaron según el eje-Y aprendido, tal como demuestran los test de Watson- U^2 efectuados (figura 5.12c-f-g).



A diferencia de los rumbos magnéticos, los rumbos topográficos obtenidos en el con entrenamiento bajo luz natural y ensayos con iluminación de longitudes de onda cortas o largas se distribuyen de manera aleatoria o uniforme. Los análisis efectuados en las distribuciones de rumbos topográficos correspondientes a larvas ensayadas bajo luz de onda corta resultan no significativos de acuerdo al test de Rayleigh (figura 5.13a-b-c; acuario N-S: 153.573°, $r = 0.154$; $p = 0.708$; acuario E-O: 83.278°, $r = 0.325$, $p = 0.186$; combinación respecto a la posición de la orilla de rumbos topográficos bajo longitud de onda corta: 351.382°, $r = 0.094$, $p = 0.765$), al igual que las distribuciones de rumbos topográficos correspondientes a los ensayos bajo longitudes de onda largas tras entrenamiento bajo espectro total (figura 5.13d-e-f; acuario N-S: 190.81°, $r = 0.334$, $p = 0.17$; acuario E-O: 327.653°, $r = 0.21$, $p = 0.502$; combinación respecto a la posición de la orilla de rumbos bajo longitud de onda larga: 208.591°, $r = 0.251$, $p = 0.134$).

| <i>Entrenamiento luz</i> | vector medio | r | n | p | IC 95% |
|--------------------------|--|--|----------|-----------------------|---------------------|
| | <i>espectro total</i> | Ensayos bajo $\lambda \leq 450$ nm | | | |
| Norte-Sur | 171.249°-351.249° | 0.652 | 15 | 0.002 | 337°-6°, 157°-186° |
| Este-Oeste | 88.791°-268.791° | 0.739 | 16 | 3.82×10^{-5} | 78°-100°, 258°-280° |
| Rumbos combinados | 176.15°-356.15° | 0.698 | 31 | 7.03×10^{-8} | 168°-185°, 348°-5° |
| | Ensayos bajo $\lambda \geq 500$ nm | | | | |
| Norte-Sur | 95.325°-275.325° | 0.499 | 16 | 0.016 | 77°-114°, 257°-294° |
| Este-Oeste | 176.133°-356.133° | 0.502 | 16 | 0.015 | 338°-15°, 158°-195° |
| Rumbos combinados | 90.715°-270.715° | 0.494 | 32 | 2.73×10^{-4} | 77°-104°, 257°-284° |

Tabla 5.4 Resultados estadísticos correspondientes a las distribuciones de rumbos magnéticos seguidos por larvas de tritón ibérico entrenadas bajo luz de espectro total y ensayadas bajo diferentes condiciones de iluminación

Figura 5.12 (PÁGINA SIGUIENTE) Orientación magnética respecto al eje-Y por larvas de tritón ibérico entrenadas bajo iluminación de espectro total y ensayadas bajo luz de longitud de onda corta, $\lambda \leq 450$ nm (a, b, c, -izquierda, diagramas de fondo gris-) o luz de longitud de onda larga, $\lambda \geq 500$ nm (d, e, f, -derecha, diagramas de fondo amarillo-) (a, d): Rumbos magnéticos de las larvas entrenadas en una dirección de eje-Y Norte-Sur (orilla en N). (b, e): Rumbos magnéticos de las larvas entrenadas en el acuario Este-Oeste (orilla en E). (c): Combinación de rumbos magnéticos obtenidos bajo luz de onda corta (agrupación de rumbos de a y b respecto a la dirección magnética de la orilla). (f): Combinación de rumbos magnéticos bajo luz de onda larga (agrupación de rumbos de d y e). Se incluyen los resultados de las pruebas de Watson-U², así como la comparación de las distribuciones combinadas de rumbos magnéticos obtenidos bajo ambas iluminaciones monocromáticas con la distribución combinada de rumbos magnéticos correspondiente a las larvas que fueron tanto entrenadas como ensayadas bajo luz de espectro total en un experimento anterior (diagrama g).

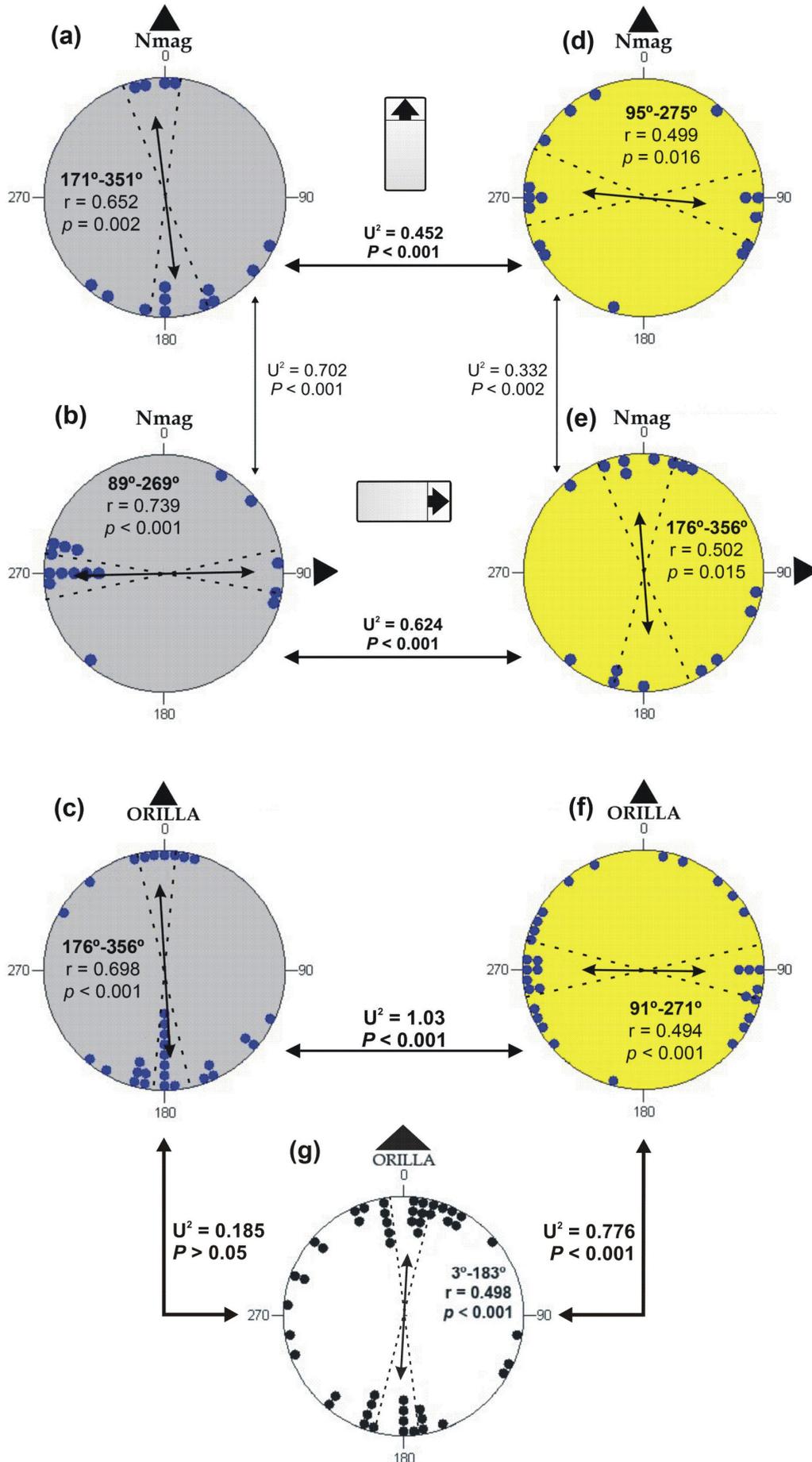
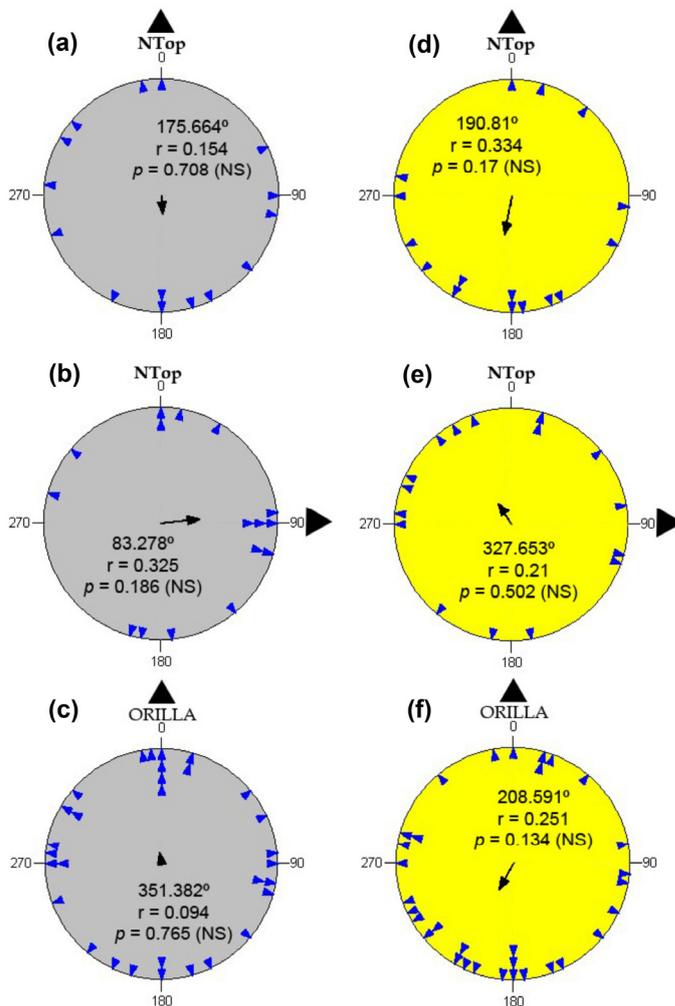




Figura 5.13 Distribuciones de rumbos topográficos seguidos por larvas de tritón ibérico entrenadas bajo iluminación de espectro total, y ensayadas bajo luz de longitud de onda corta, $\lambda \leq 450$ nm (a, b, c, -izquierda, diagramas de fondo gris-) o luz de longitud de onda larga, $\lambda \geq 500$ nm (d, e, f, -derecha, diagramas de fondo amarillo-)

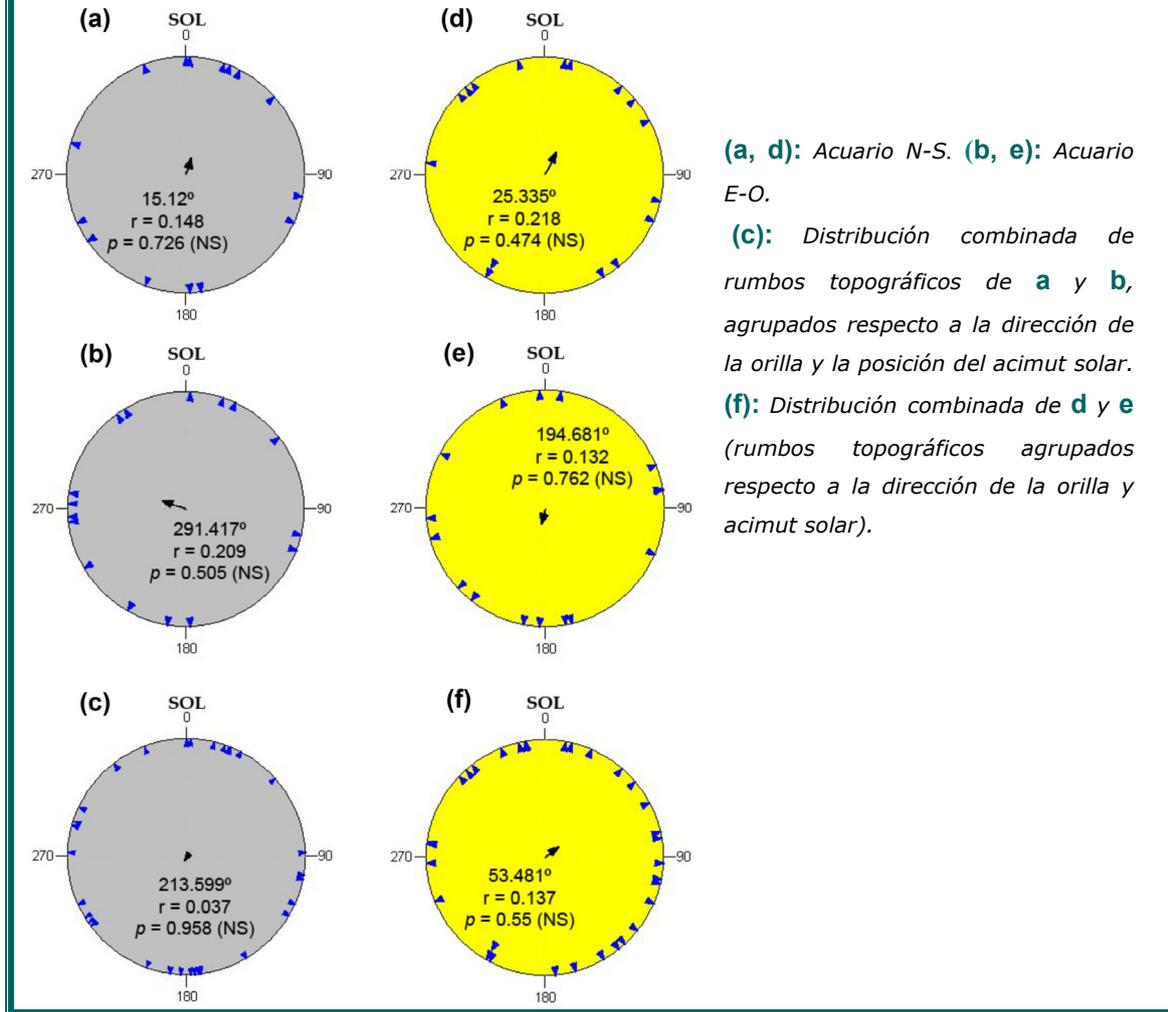


(a, d): Rumbos topográficos de las larvas entrenadas en dirección de eje-Y Norte-Sur. (b, e): Rumbos topográficos de las larvas entrenadas en el acuario Este-Oeste. (c): Combinación de rumbos topográficos de a y b respecto a la dirección de la orilla. (f): Combinación de rumbos topográficos de d y e respecto a la dirección de la orilla

La consideración de los rumbos topográficos como desviaciones de los valores de acimut solar en el momento de los ensayos de orientación resulta igualmente en distribuciones aleatorias o uniformes, tanto para las larvas entrenadas bajo espectro total y ensayadas bajo iluminación de longitudes de onda cortas (acuario N-S: 15.12°, $r = 0.148$, test de Rayleigh $p = 0.726$; acuario E-O: 291.417°, $r = 0.209$, test de Rayleigh $p = 0.505$; figura 5.14a-b-c) como para las correspondientes a la condición experimental de ensayo bajo luz de onda larga tras entrenamientos bajo espectro total (acuario N-S: 25.335°, $r = 0.218$, $p = 0.474$; acuario E-O: 194.681, $r = 0.132$, $p = 0.762$; figura 5.14d-e-f).



Figura 5.14 Desviaciones respecto al acimut solar de los rumbos topográficos seguidos por las larvas de trítón ibérico entrenadas bajo iluminación de espectro total y ensayadas bajo luz de longitud de onda corta, $\lambda \leq 450$ nm (a, b, c, -izquierda, diagramas de fondo gris-) o luz de longitud de onda larga, $\lambda \geq 500$ nm (d, e, f, -derecha, diagramas de fondo amarillo-)



Las larvas de *L. boscai* entrenadas en un segundo experimento bajo iluminación de onda larga ($\lambda \geq 500$ nm) mantuvieron una orientación magnética coherente con la dirección de eje-Y aprendida únicamente cuando su conducta fue ensayada bajo la misma iluminación experimentada durante el entrenamiento (longitudes de onda largas), mientras que giraron su eje de orientación al ser estudiada su respuesta bajo luz de espectro total (tabla 5.5, pag. 257). Así, las larvas entrenadas en el acuario Norte-Sur con iluminación de onda larga durante el periodo de entrenamiento siguieron rumbos de orientación magnética bimodal a lo largo de un eje medio prácticamente perpendicular a la dirección de eje-Y entrenada al ser estudiadas bajo luz natural de espectro total (figura 5.15a, pag. 258). De forma similar, las larvas entrenadas en el acuario Este-Oeste bajo luz de longitudes de onda larga y ensayadas bajo espectro total siguieron rumbos



magnéticos de distribución bimodal a lo largo de un eje medio de 5.602° - 185.602° (figura 5.15c), de nuevo no coincidente con el eje entrenado (no incluido en los intervalos de confianza del 95% para la media; tabla 5.5). La combinación de estos dos grupos de entrenamiento (larvas del acuario N-S y del acuario E-O entrenadas bajo onda larga y ensayadas bajo espectro total) normalizando los datos obtenidos respecto a la dirección magnética de la orilla entrenada resulta en una distribución de rumbos magnéticos de eje medio 79.62° - 259.62° , altamente significativa y perpendicular al eje orilla-aguas profundas (figura 5.15e).

Las larvas entrenadas en el acuario de dirección de Norte-Sur bajo luz de longitudes de onda larga y ensayadas bajo el mismo tipo de iluminación ($\lambda \geq 500$ nm) sí siguieron una orientación magnética bimodal coincidente con la dirección de eje-Y entrenada (eje medio: 0.522° - 180.522° ; figura 5.15b). Aquellas larvas entrenadas con iluminación de onda larga en el acuario Este-Oeste siguieron también un comportamiento análogo, con una distribución bimodal de rumbos de orientación magnética coherente con la dirección este-oeste entrenada (figura 5.15d). De nuevo, la combinación de los dos grupos de entrenamiento (larvas de uno y otro acuario entrenadas y ensayadas bajo iluminación de banda ancha) en una única distribución de rumbos magnéticos normalizados respecto a la dirección de la orilla da resultados altamente significativos, con orientación a lo largo de un eje medio de 179.932° - 359.932° (figura 5.15f), coincidente con el eje-Y de 0 - 180° entrenado. Esta respuesta de orientación magnética mostrada por las larvas entrenadas y ensayadas bajo luz de $\lambda \geq 500$ nm es, por lo tanto, claramente diferente a la seguida por aquellas larvas entrenadas bajo esa misma iluminación pero ensayadas bajo luz de espectro total, tal como prueban los test de Watson- U^2 efectuados (ver figura 5.15). Asimismo, esta orientación respecto a lo largo del eje-Y seguida por larvas entrenadas y ensayadas bajo longitudes de onda larga es perpendicular y estadísticamente diferente a la seguida en un experimento anterior por larvas ensayadas bajo el mismo tipo de iluminación monocromática pero que previamente fueron entrenadas bajo iluminación natural de espectro total ($U^2 = 0.867$, $p < 0.001$, test de Watson- U^2 aplicado a las distribuciones de rumbos magnéticos agrupados respecto a la dirección de la orilla -combinación de rumbos de uno y otro acuario para una misma condición de iluminación-), mientras que resulta estadísticamente indistinguible de la orientación tomada por larvas entrenadas y

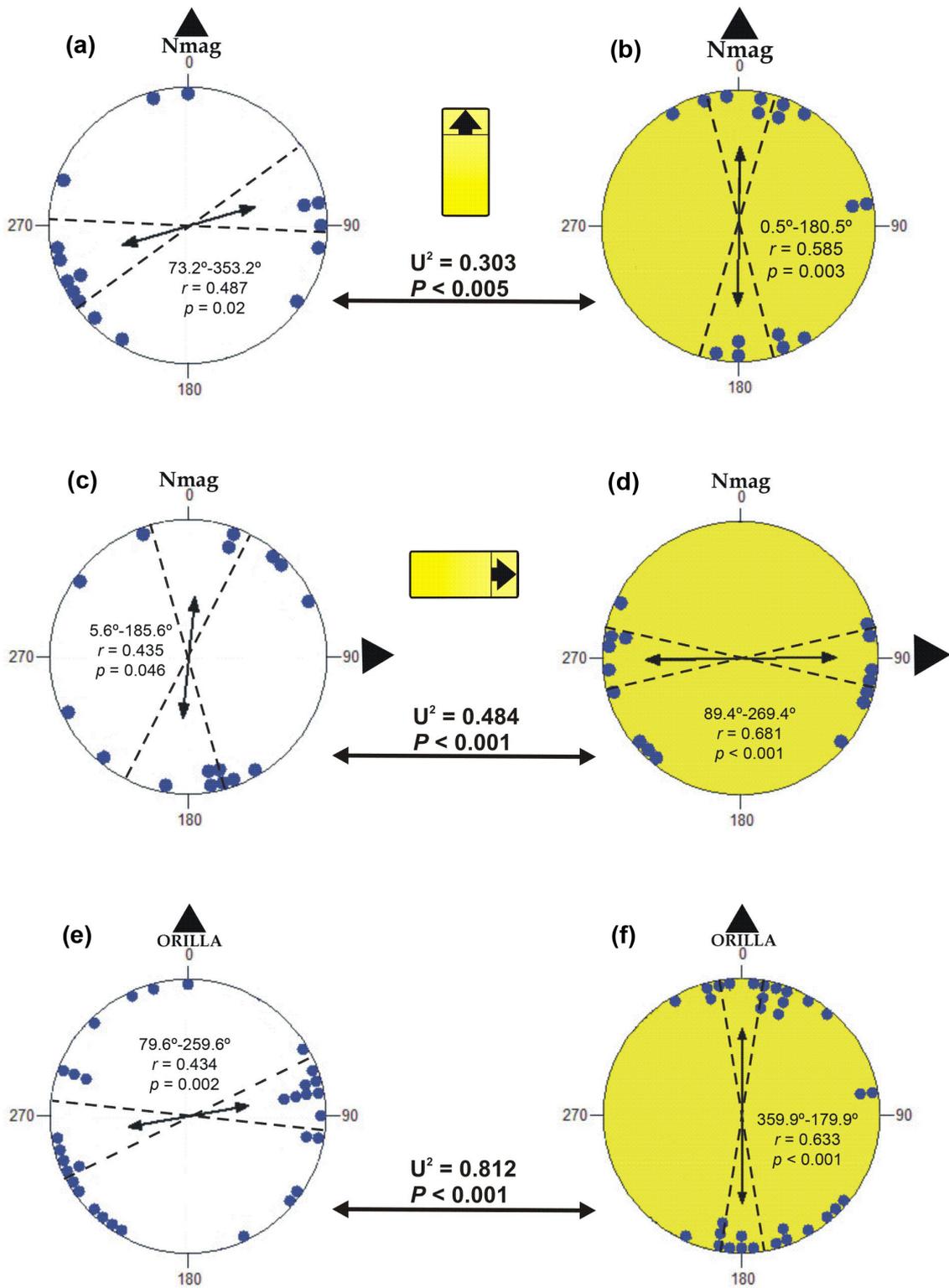


ensayadas bajo luz de espectro total ($U^2 = 0.055$, $p > 0.5$, test de Watson- U^2 entre distribuciones de rumbos magnéticos agrupados respecto a la orilla).

| Entrenamiento $\lambda \geq 500$ nm | vector medio | r | n | p | IC 95% |
|---|--|----------|----------|-----------------------|---------------------|
| | Ensayos bajo espectro total | | | | |
| Norte-Sur | 73.229°- 253.229° | 0.487 | 16 | 0.02 | 54°-92°,234°-272° |
| Este-Oeste | 5.602°-185.602° | 0.435 | 16 | 0.046 | 343 °-27°,163°-207° |
| Rumbos combinados | 79.62°-259.62° | 0.434 | 32 | 0.002 | 64°-94°, 244°-274° |
| | Ensayos bajo $\lambda \geq 500$ nm | | | | |
| Norte-Sur | 0.522°-180.522° | 0.585 | 16 | 0.003 | 345°-15°,165°-195° |
| Este-Oeste | 89.426°-269.426° | 0.681 | 16 | 2.5×10^{-4} | 77°-101°, 257°-281° |
| Rumbos combinados | 179.932°-359.932° | 0.633 | 32 | 7.37×10^{-7} | 170°-189°,350°-9° |

Tabla 5.5 Resultados estadísticos correspondientes a las distribuciones de rumbos magnéticos seguidos por larvas de tritón ibérico entrenadas bajo longitudes de onda largas y ensayadas bajo diferentes condiciones de iluminación

Figura 5.15 (PÁGINA SIGUIENTE) Orientación magnética respecto al eje-Y por parte de larvas de tritón ibérico entrenadas bajo iluminación de longitud de onda larga, $\lambda \geq 500$ nm, y ensayadas bajo luz natural de espectro total (a, c, e, -izquierda, diagramas de fondo blanco-) o luz de longitud de onda larga, $\lambda \geq 500$ nm (b, d, f, -derecha, diagramas de fondo amarillo-). Se representan los diagramas circulares correspondientes a las distribuciones de rumbos magnéticos y la simbología utilizada corresponde a la descrita con anterioridad. **(a, b):** Rumbos magnéticos de las larvas entrenadas en una dirección de eje-Y Norte-Sur (orilla en N). **(c, d):** Rumbos magnéticos de las larvas entrenadas en el acuario Este-Oeste (orilla en E). **(e):** Combinación de rumbos magnéticos obtenidos bajo luz de espectro total (agrupación de rumbos de a y c respecto a la dirección magnética de la orilla). **(f):** Combinación de rumbos magnéticos bajo luz de onda larga (agrupación de rumbos de b y d respecto a la dirección magnética de la orilla). Se muestran también los resultados de las pruebas de Watson- U^2 aplicadas a la comparación de distribuciones de rumbos.



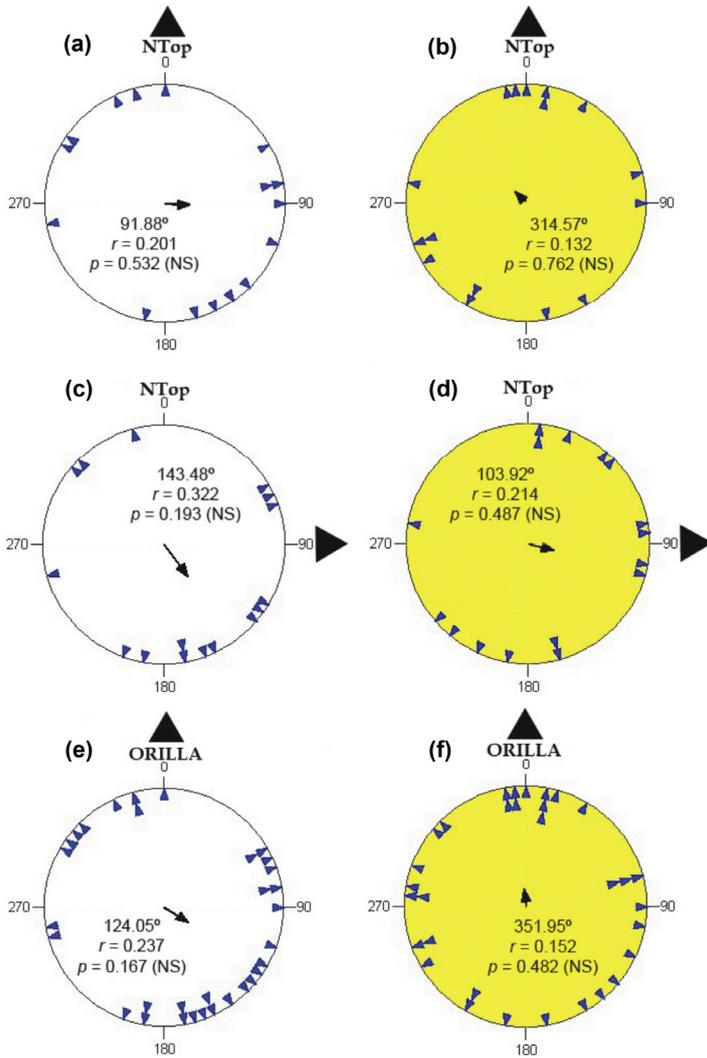


Los rumbos topográficos seguidos por las larvas entrenadas bajo iluminación de longitudes de onda larga se distribuyen de forma estadísticamente uniforme o aleatoria, de acuerdo a los resultados no significativos obtenidos. Los resultados del test de Rayleigh para los rumbos topográficos de las larvas entrenadas en el acuario N-S sugieren una orientación aleatoria tanto en ensayos bajo luz de espectro total (vector medio: 91.887° ; $r = 0.201$; $p = 0.532$; figura 5.16a) como en ensayos bajo luz de longitud de onda larga (314.579° , $r = 0.132$; $p = 0.762$; figura 5.16b). Igualmente, obtenemos similares resultados no significativos para los rumbos topográficos correspondientes a las larvas del acuario Este-Oeste entrenadas bajo luz de banda ancha y ensayadas bajo espectro total (vector medio: 143.482° ; $r = 0.322$; $p = 0.193$; figura 5.16c) o bajo iluminación de longitud de onda larga (103.925° ; $r = 0.214$; $p = 0.487$; figura 5.16d). Asimismo, la combinación de rumbos topográficos pertenecientes a larvas entrenadas bajo longitudes de onda larga en ambos acuarios de entrenamiento (normalizados respecto a la dirección de la orilla) y ensayadas bajo espectro total resulta también no significativa (124.055° ; $r = 0.237$; $p = 0.167$; figura 5.16e), al igual que la distribución de rumbos combinados respecto a la orilla para larvas ensayadas bajo luz monocromática de banda ancha (351.955° ; $r = 0.152$; $p = 0.482$; figura 5.16f).

Los análisis de distribuciones de rumbos topográficos considerados como desviaciones de los valores de acimut solar en el momento de los ensayos resultan también en distribuciones aleatorias o uniformes, tanto para las larvas entrenadas bajo iluminación de onda larga y ensayadas bajo luz de espectro total (acuario N-S: 42.453° , $r = 0.249$, test de Rayleigh $p = 0.376$; acuario E-O: 51.932° , $r = 0.319$, $p = 0.199$; figura 5.17a-b-c) como para aquellas ensayadas bajo la misma iluminación de longitudes de onda larga experimentada en el proceso de entrenamiento (acuario N-S: 245.803° , $r = 0.062$, test de Rayleigh $p = 0.942$; acuario E-O: 97.471° , $r = 0.173$, $p = 0.628$; figura 5.17d-e-f). Por lo tanto, de forma similar a lo ocurrido en otros experimentos, no se aprecia ningún indicio de orientación topográfica o sesgo no magnético en los resultados.



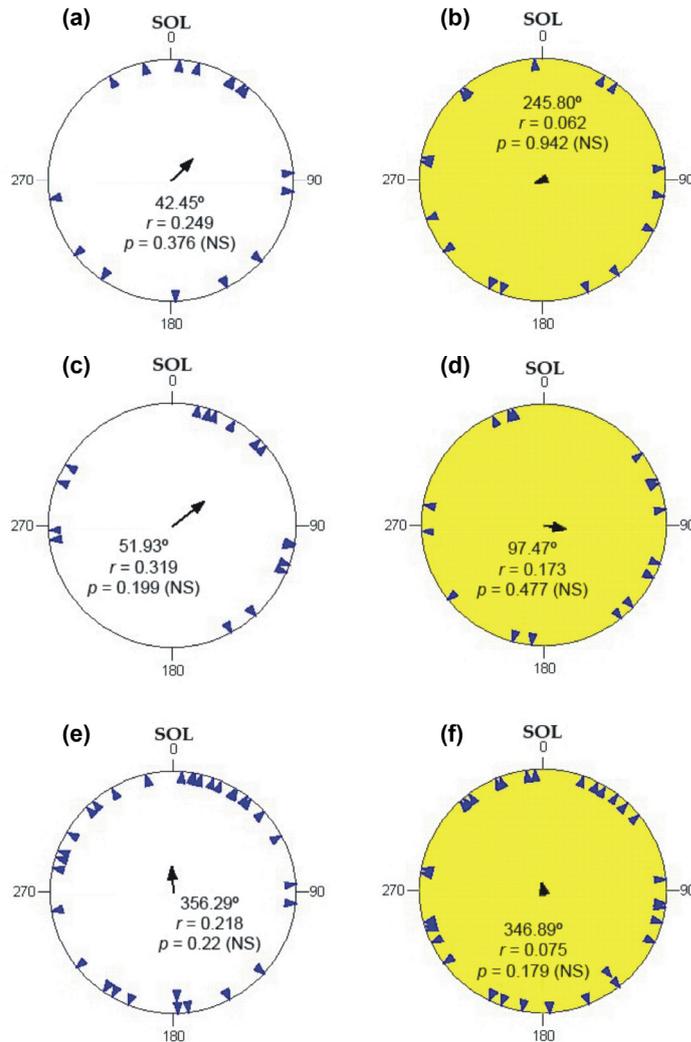
Figura 5.16 Distribuciones de rumbos topográficos seguidos por larvas de tritón ibérico entrenadas bajo iluminación de longitud de onda larga, $\lambda \geq 500 \text{ nm}$, y ensayadas bajo luz de espectro total (a, c, e, -izquierda, diagramas de fondo blanco-) o luz de longitud de onda larga, $\lambda \geq 500 \text{ nm}$ (b, d, f, -derecha, diagramas de fondo amarillo-)



(a, b): Rumbos topográficos de las larvas entrenadas en dirección de eje-Y Norte-Sur. (c, d): Rumbos topográficos de las larvas entrenadas en el acuario Este-Oeste. (e): Combinación de rumbos topográficos de a y c respecto a la dirección de la orilla. (f): Combinación de rumbos topográficos de b y d respecto a la dirección de la orilla



Figura 5.17 Desviaciones respecto al acimut solar de los rumbos topográficos seguidos por las larvas de tritón ibérico entrenadas bajo iluminación de longitud de onda larga, $\lambda \geq 500 \text{ nm}$, y ensayadas bajo luz de espectro total (a, c, e, -izquierda, diagramas blancos) o luz de longitud de onda larga, $\lambda \geq 500 \text{ nm}$ (b, d, f, -derecha, diagramas amarillos-)



(a, b): Acuario N-S. (c, d): Acuario E-O.

(e): Distribución combinada de rumbos topográficos de a y c, agrupados respecto a la dirección de la orilla y la posición del acimut solar. (f): Distribución combinada de b y d (rumbos topográficos agrupados respecto a la dirección de la orilla y acimut solar).

3. Sensibilidad a la luz polarizada en el tritón ibérico y su uso en la orientación respecto al eje-Y

3.1 Metodología

Si bien los experimentos descritos con anterioridad en este trabajo no detectaron evidencia alguna a favor del uso de un compás solar ni en la orientación respecto al eje-Y ni en la orientación de regreso al hogar del tritón ibérico, hay que tener en cuenta que



las metodologías experimentales seguidas no permiten la detección de todos los posibles mecanismos de compases celestes. Así, un compás solar asociado a un reloj interno en fase con el movimiento aparente del sol en el cielo (ADLER, 1976) no sería por ejemplo detectable mediante análisis como los efectuados de los rumbos de orientación tomados como desviaciones respecto al acimut solar, ya que las direcciones de arrumbamiento seguidas por los tritones serían corregidas en cada momento para mantener una orientación constante, resultando en ángulos respecto al acimut solar diferentes en función de la hora del día. Por consiguiente, aunque a lo largo de esta investigación se ha destacado el empleo del campo geomagnético como señal direccional básica y preferente en el comportamiento de orientación de *L. boscai*, aún cabe la posibilidad de que en esta especie exista algún tipo de compás celeste oculto como mecanismo de orientación secundario, cuyo uso estaría limitado a aquellas situaciones en las que las señales magnéticas fueran débiles o poco fiables. Un compás solar compensado con un reloj interno podría, por otra parte, funcionar mediante dos tipos de señales: la posición del acimut solar o el ángulo de polarización de la luz, siendo probablemente la sensibilidad a la luz polarizada el mecanismo responsable de la mayoría de conductas de orientación celeste en animales, tal como se ha demostrado en el caso concreto de la orientación respecto al eje-Y de otras especies de anfibios (ADLER, 1976; TAYLOR & AUBURN, 1978; SINSCH, 1992). Por lo tanto, se planteó contrastar el uso del ángulo de polarización de la luz como señal direccional en la orientación respecto al eje-Y de *L. boscai*, aprovechando las ventajas metodológicas del estudio de este comportamiento y entrenando a tritones ibéricos adultos en el aprendizaje de direcciones de orilla en condiciones de laboratorio y bajo una fuente artificial de luz linealmente polarizada.

Un total de 36 tritones ibéricos adultos (capturados en la fuente nº 2 durante la mañana del 28 de mayo de 2007) fueron entrenados durante una semana en el aprendizaje de una dirección de eje-Y bajo iluminación con luz 100% polarizada, utilizándose los mismos acuarios de entrenamiento empleados en los experimentos de orientación magnética (figura 5.1). De forma también similar a otros experimentos, los tritones fueron entrenados en dos direcciones de eje-Y distintas, siendo 18 de ellos (11 hembras y 7 machos) mantenidos en el interior de un acuario alineado con su longitud mayor a lo largo del eje magnético 0°-180° (orilla situada en el Norte), mientras que los otros 18 (10 hembras, 8 machos) fueron introducidos en un acuario de dirección de eje-Y coincidente con el eje 90°-270° (orilla en el Este). Al igual que en otros experimentos,



los últimos 30 cm del extremo de aguas profundas de cada acuario fueron sombreados mediante cartulinas y tablas de madera, y el acuario se llenó de agua de grifo convenientemente tratada de forma que la profundidad en el extremo de la orilla fuera de 1 cm. En este caso, el periodo de entrenamiento y los ensayos de orientación posteriores se llevaron a cabo en el interior de un edificio de experimentación (situado en la localidad de Linares de Riofrío, 40° 34' 47.9" N 5° 54' 56.9" O) y cada acuario de entrenamiento se colocó en una habitación individual, bajo una fuente de luz linealmente polarizada. Cada fuente de luz polarizada se construyó con una bombilla de luz blanca de 75 W (Osram Superlux[®]), encerrada en el interior de una caja de madera de pino (30 cm ancho x 30 cm fondo x 20 cm alto) con un agujero de 28 cm de diámetro en su cara inferior. La bombilla se colocó suspendida en la cara superior interna de la caja, quedando a 5 cm de distancia de un cristal difusor (5mm de ancho), situado directamente sobre un filtro polarizador lineal (Polarizador Rosco[®] gris neutro, 38% transmisión) que ocupaba la totalidad del fondo de la caja. De esta forma, se consiguió un haz de luz linealmente polarizada con una dirección de vector eléctrico única, que constituyó el único tipo de iluminación que llegó a los tritones durante el aprendizaje de las direcciones de eje-Y, puesto que las salas de entrenamiento se mantuvieron en todo momento con las ventanas y puertas cerradas y sin ningún tipo de luz artificial adicional. La fuente de luz polarizada se dispuso en cada caso suspendida mediante un sistema de soporte (figura 5.18) a 1.4 m de altura sobre el correspondiente tanque de entrenamiento, centrada en posición media del acuario.

En cada acuario de entrenamiento se utilizó una posición de vector eléctrico respecto al eje-Y diferente, de forma que en el acuario de eje Norte-Sur el plano de polarización de la fuente de luz fuera exactamente perpendicular a la dirección de eje-Y (e-vector de 90°-270° frente al eje-Y de dirección 0°-180°, figura 5.19A), mientras que en el acuario Este-Oeste se utilizó en cambio un ángulo de luz polarizada paralelo al eje del acuario (90°-270°; figura 5.19B). Los tritones ibéricos permanecieron en los acuarios de entrenamiento durante una semana, desde la mañana del 28 de mayo a la mañana del 4 de junio de 2007, cuando dieron comienzo los ensayos de orientación. Durante ese tiempo se mantuvo un fotoperiodo de iluminación con luz polarizada coincidente con el fotoperiodo natural existente en la zona, gracias al empleo de programadores eléctricos (casi 10 horas de luz diaria, con encendido y apagado de las luces coincidente con la salida de sol, entre 4:58-4:55 horas GMT, y la puesta de sol, entre 19:45-19:48 GMT).



Con el objetivo de imposibilitar el escape de los tritones sujeto de experimentación, pero evitando asimismo una posible reflexión de la luz polarizada sobre superficies de cristal, se utilizó una red mosquitera de plástico (luz de malla de 3mm) para cubrir toda la cara superior de los acuarios. Durante la semana de entrenamiento los tritones fueron alimentados una vez al día con larvas de mosquito rojo y se realizó un cambio parcial de agua diario en cada acuario. La temperatura del agua osciló entre los 16 °C y los 21 °C (media = 17.56 °C ± 0.28). El pH del agua se mantuvo igualmente en valores próximos a los de la fuente de origen de los tritones (pH = 6.5).

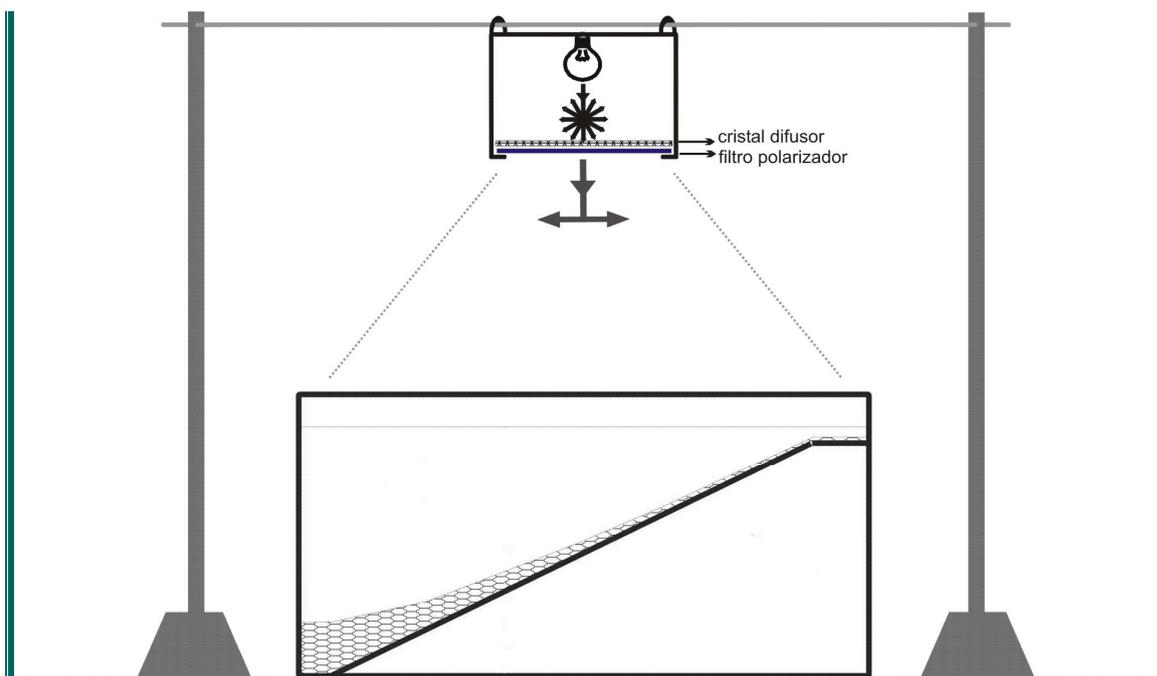


Figura 5.18 Entrenamiento de direcciones de eje-Y bajo luz polarizada

La fuente de luz polarizada se construyó en el interior de una caja de madera suspendida sobre el acuario de entrenamiento, gracias a un sistema de soporte consistente en una barra de aluminio, en cuyo centro fue enganchada la caja. La barra era soportada a su vez por dos pilares de madera y se colocó en todo caso siguiendo el eje mayor del acuario. La luz despolarizada procedente de la bombilla eléctrica era polarizada linealmente al atravesar el cristal difusor y el filtro polarizador situados en el fondo de la caja, pasando a tener una única dirección de vector eléctrico, con la que era iluminado el acuario.

Tras la semana de entrenamiento, la respuesta direccional de los tritones fue estudiada bajo campo magnético ambiental en una arena circular similar a la utilizada en otros experimentos, llena de agua convenientemente tratada hasta una profundidad de 1 cm, situada en una habitación distinta del edificio de experimentación (al oeste de las dos salas de entrenamiento) y con una fuente de luz polarizada idéntica a la empleada en los acuarios de entrenamiento (caja de madera y sistema de soporte) suspendida a 1.4 m



de altura sobre su centro. La dirección de e-vector se dispuso girada 45° respecto a la dirección de e-vector utilizada en los acuarios (de forma que en este caso fuera de 315° a 125°), mientras que el sistema de soporte de la fuente de luz polarizada se colocó a lo largo del eje 45° - 225° (figura 5.19C). Esta metodología de ensayos, con el giro del ángulo de polarización respecto al utilizado en los entrenamientos, ha sido empleada con anterioridad en trabajos con el reptil *Tiliqua rugosa* (FREAKE, 1999) y posee la ventaja de que permite distinguir una orientación mediante luz polarizada de otro tipo de mecanismos de orientación, como por ejemplo el uso de señales magnéticas u otras referencias topográficas (ver figura 5.19D-E). Los ensayos de orientación se llevaron a cabo alternando tritones procedentes de uno y otro acuario de entrenamiento, los cuales eran llevados directamente desde su acuario hasta el centro de la arena circular, donde permanecían durante un minuto encerrados en un cilindro de liberación, para posteriormente ser libres de moverse por el interior de la arena. El criterio de toma de direcciones de arrumbamiento fue análogo al de otros experimentos, con un tiempo máximo de respuesta establecido en 5 minutos y registrándose el rumbo tomado mediante observación directa (el observador permaneció en todo caso inmóvil y oculto, a una distancia de 3 m de la arena, para no influir en el comportamiento del individuo ensayado). Los ensayos de orientación se llevaron a cabo de 7:20 a 10:45 horas GMT del día 4 de junio de 2007 y la temperatura del agua en la arena circular se mantuvo entre 16°C y 19°C . Los análisis estadísticos de los datos recogidos se realizaron siguiendo metodologías y pruebas estadísticas ya descritas.



Macho de tritón ibérico en el interior de un tanque de entrenamiento

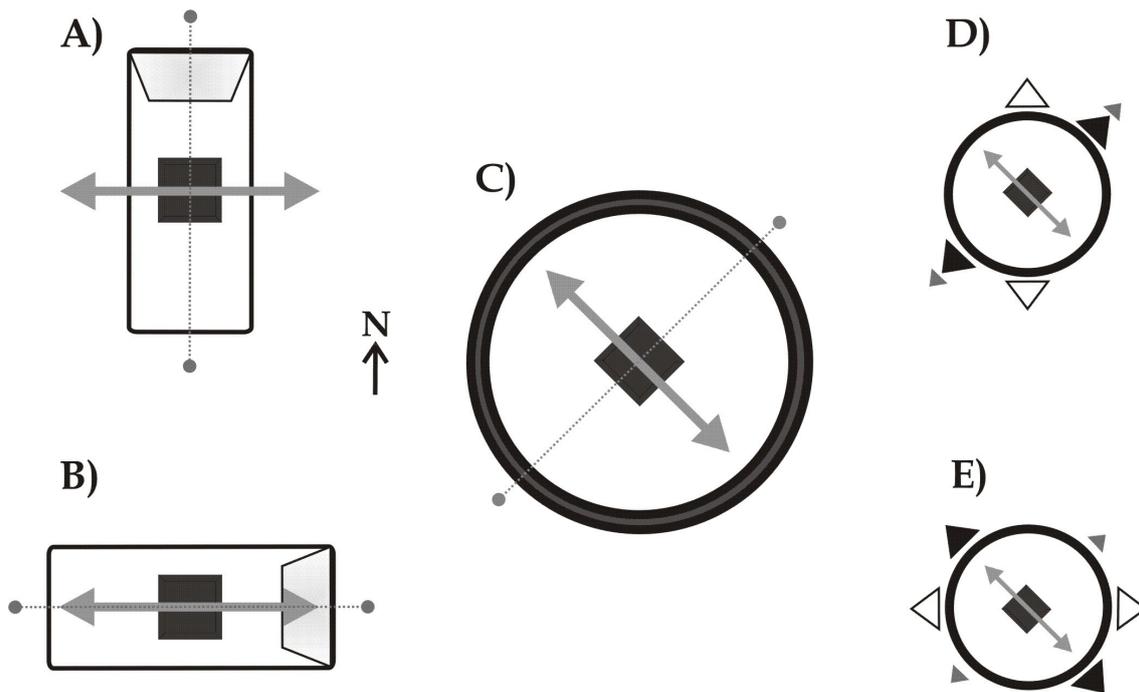


Figura 5.19 Metodología de entrenamiento y ensayos de orientación respecto al eje-Y bajo luz linealmente polarizada

(A, B): Esquemas mostrando la disposición de la dirección de vector eléctrico respecto a la dirección de eje-Y de los acuarios de entrenamiento. La fuente de luz polarizada (cuadrado negro en el centro de cada acuario) se colocó de forma que la dirección de vector eléctrico resultante (flecha doble de color gris) fuera perpendicular al eje-Y del acuario Norte-Sur **(A)** y paralela al eje-Y del acuario Este-Oeste **(B)**. En ambos casos, el sistema de soporte de la fuente de luz polarizada (barra de aluminio y pilares de madera) se dispuso a lo largo del eje-Y (representado en los esquemas por la línea punteada de color gris). **(C):** Arena de ensayos, con la fuente de luz polarizada girada en este caso 45° respecto a los acuarios de entrenamiento. La dirección de vector eléctrico en la arena circular seguía, por lo tanto, el eje 135° - 315° , perpendicular a la dirección del sistema de soporte. Teniendo en cuenta que la información proporcionada por la luz polarizada es axial, este sistema de ensayos nos permite esperar una orientación de tipo bimodal distinguible del uso de otras señales direccionales, tal como se muestra en los diagramas **(D)** y **(E)**. Los triángulos blancos indican la orientación esperable en caso de uso de un compás magnético, mientras que los triángulos de color negro indican la orientación bimodal que seguirían los animales si utilizaran el vector eléctrico de la luz polarizada para orientarse. Por último, los triángulos de color gris y menor tamaño señalan un eje de orientación que podría aparecer como resultado del empleo como referencia topográfica del sistema de soporte de la fuente de luz. **(D): Posibles respuestas de orientación respecto al eje-Y seguidas por tritones entrenados en el acuario Norte-Sur.** Si los tritones usan un compás de polarización, deberían orientarse de forma perpendicular a la dirección de vector eléctrico. **(E): Posibles respuestas de orientación respecto al eje-Y seguidas por tritones entrenados en el acuario Este-Oeste.** El uso de un compás de polarización llevaría a una orientación paralela a la dirección de vector eléctrico.



3.2 Resultados

Los tritones entrenados en el aprendizaje de una dirección de eje-Y Norte-Sur y que durante el periodo de entrenamiento experimentaron una iluminación con luz polarizada de dirección de vector eléctrico perpendicular al eje-Y se orientaron también de forma perpendicular a la dirección de polarización presentada en el momento de los ensayos (figura 5.20A). Los rumbos de orientación seguidos por estos tritones se distribuyeron, por lo tanto, de forma bimodal a lo largo de un eje medio de 30.43° - 210.43° ($n = 18$, $r = 0.439$, test de Rayleigh para datos axiales: $p = 0.029$; intervalos de confianza del 95% para la media: 10.227° - 50.633° , 190.227° - 230.633°), prácticamente perpendicular al vector eléctrico presente en la arena circular (45° - 225°). Si bien el conjunto de los rumbos de orientación seguidos por tritones entrenados en el acuario Norte-Sur se ajusta por lo tanto a una distribución bimodal, en la distribución de datos se observa cierta preferencia direccional unimodal, que hace que el test de Rayleigh aplicado a datos angulares proporcione resultados igualmente significativos (vector medio de 27.108° , $r = 0.452$, $p = 0.023$; intervalos de confianza del 95% para la media: 347.946° - 66.27°). Por su parte, aquellos tritones entrenados en el acuario de dirección Este-Oeste y que durante el periodo de entrenamiento experimentaron una iluminación polarizada de vector eléctrico paralelo a la propia dirección de eje-Y tomaron rumbos de orientación también paralelos al ángulo de polarización presentado en el momento de los ensayos (figura 5.20B). Es decir, siguieron una orientación bimodal estadísticamente significativa a lo largo de un eje medio de $122,434^\circ$ - $302,434^\circ$ ($n = 18$, $r = 0.668$, test de Rayleigh para datos axiales: $p = 1.27 \times 10^{-4}$), aproximadamente coincidente con la dirección de vector eléctrico de 135° - 315° que iluminaba la arena experimental (intervalos de confianza del 95% para el eje medio: 110.45° - 134.419° , 290° - 314.419° ; intervalos de confianza del 99%: 106.685° - 138.184° , 286.685° - 318.184°).

Las distribuciones de rumbos pertenecientes a tritones entrenados en uno y otro acuario son significativamente diferentes entre sí de acuerdo a los resultados del test de Watson- U^2 ($U^2 = 0.572$, $p < 0.001$). La combinación de ambas distribuciones de datos, normalizando el conjunto de los rumbos registrados respecto a la posición de la orilla, resulta en una distribución bimodal altamente significativa ($n = 36$, $r = 0.554$, test de Rayleigh para datos axiales: $p = 7.04 \times 10^{-6}$; figura 5.20C) en la que la dirección del eje



medio (31.64° - 211.64°) se aproxima de forma coherente al giro de 45° producido en la dirección de vector eléctrico en el momento de los ensayos respecto al vector eléctrico presente en los acuarios de entrenamiento (intervalos de confianza de 95% para la media: 20.74° - 42.539° , 200.74° - 222.539° ; intervalos de confianza del 99% para la media: 17.317° - 45.962° , 197.74° - 225.539°).

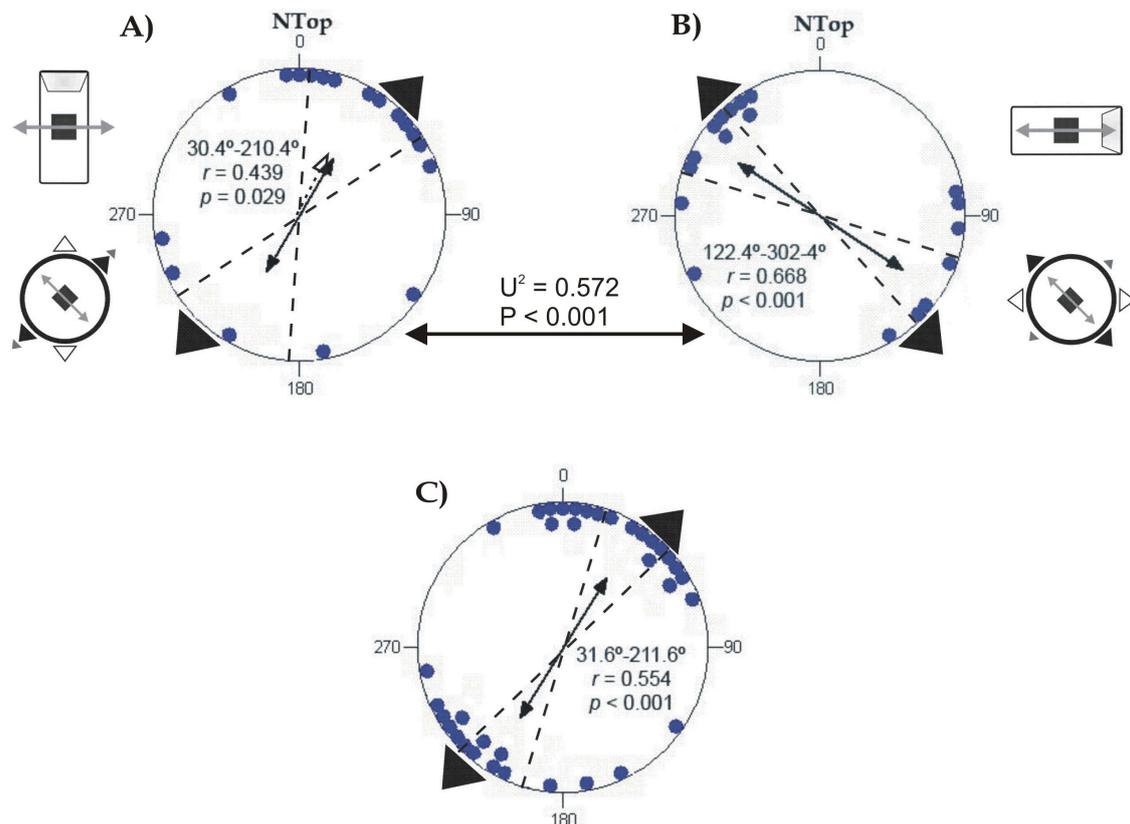


Figura 5.20 Orientación respecto al eje-Y del tritón ibérico mediante el uso del e-vector de la luz polarizada

Se representan los diagramas circulares correspondientes a las distribuciones de rumbos seguidos por los tritones al ser ensayados bajo una dirección de vector eléctrico de 135° - 315° (rumbos topográficos, obtenidos bajo campo magnético ambiental). Para cada distribución se representa el eje medio (con longitud proporcional a r) y los intervalos de confianza del 95% (líneas punteadas). En este caso, los triángulos exteriores de color negro marcan el eje de orientación esperable en caso de uso de un compás de polarización **(A): Rumbos seguidos por tritones entrenados en una dirección de eje-Y Norte-Sur (orilla en N)**. De acuerdo a lo esperado, el uso del ángulo de polarización como señal direccional en el aprendizaje del eje-Y lleva a una orientación bimodal perpendicular al vector eléctrico. En este caso se representa también en el diagrama circular el vector medio correspondiente a la distribución unimodal de los datos, que resultó igualmente significativa. **(B): Rumbos seguidos por tritones entrenados en el acuario Este-Oeste (orilla en E)**. **(C): Combinación del conjunto de rumbos, seguidos por tritones entrenados en uno y otro acuario, normalizados respecto a una única dirección de eje-Y (marcada por el eje 0° - 180°).**



4. Discusión acerca de la orientación respecto al eje-Y en el tritón ibérico

Los resultados obtenidos prueban la existencia de una capacidad de orientación a lo largo del eje-Y en *Lissotriton boscai*, existiendo un comportamiento de aprendizaje de la dirección orilla-aguas profundas propia del medio acuático habitado por los tritones. Tanto individuos larvarios, metamórficos, como tritones ibéricos adultos demostraron ser capaces de orientarse respecto al eje-Y entrenado experimentalmente, empleando para ello de manera preferente un sentido de compás magnético dependiente de la luz, si bien los resultados también prueban la existencia de sensibilidad a la luz polarizada y su uso como mecanismo de compás alternativo en tritones ibéricos adultos.

El comportamiento de orientación a lo largo del eje-Y seguido por larvas y tritones ibéricos adultos es similar en todos los casos estudiados, tomando los individuos ensayados rumbos magnéticos que resultan en distribuciones de tipo bimodal. Es decir, larvas y adultos se orientan hacia ambos extremos del eje-Y aprendido, tomando algunos individuos rumbos de orientación correspondientes a la dirección de la orilla mientras que otros se orientan hacia aguas profundas, sin que pueda hallarse ninguna tendencia preferente hacia uno de los dos extremos. Este tipo de comportamiento de orientación bimodal puede ser causado por una incapacidad para distinguir entre los extremos del eje-Y, bien debido a limitaciones propias del mecanismo sensorial utilizado en la orientación (AUBURN & TAYLOR, 1979), o bien debido al tipo de metodología experimental empleada (variaciones en el protocolo de entrenamiento o ensayos; ADLER & TAYLOR, 1980; DEUTSCHLANDER *et al.*, 2000; FREAKE & PHILLIPS, 2005). En nuestro caso, la orientación bimodal presentada por tritones ibéricos adultos tras entrenamiento y ensayos bajo luz linealmente polarizada en condiciones de laboratorio puede considerarse un efecto lógico derivado del empleo del plano de polarización de la luz como señal direccional, ya que este sólo proporciona información de tipo axial (TAYLOR & ADLER, 1973). Sin embargo, la orientación bimodal magnética respecto al eje-Y detectada en larvas y adultos de *L. boscai* es más difícil de explicar como resultado de limitaciones sensoriales; aunque los tritones empleasen un mecanismo de magnetorrecepción insensible a la polaridad magnética, distinto al sentido de compás magnético que parecen emplear durante sus migraciones hacia los medios de reproducción (PHILLIPS, 1986a), un compás axial de ese tipo permitiría discernir de



forma secundaria la polaridad de campo teniendo en cuenta variaciones en el ángulo de inclinación (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005). Por otro lado, la aparente incapacidad para distinguir entre el extremo de aguas profundas y la dirección de la orilla entrenada pudiera también deberse a la metodología empleada en nuestro estudio, con tiempos máximos de una semana de entrenamiento en los acuarios, que podrían ser suficientes para el aprendizaje del eje-Y correspondiente pero no para que larvas y tritones ibéricos adultos aprendieran a diferenciar entre un extremo y otro del eje magnético (FREAKE *et al.*, 2002). Sin embargo, aunque no se puede descartar la influencia de la longitud del periodo de entrenamiento en la orientación bimodal observada, la aplicación de protocolos de entrenamiento intensivo no parece, en el presente caso, repercutir en el grado o capacidad de aprendizaje, o al menos no conduce a orientaciones unimodales. Así, en individuos larvarios de *L. boscai*, las larvas entrenadas de forma activa (obligándolas manualmente a recorrer la longitud del eje-Y) presentaron idénticas distribuciones bimodales de rumbos de orientación magnética que las larvas entrenadas siguiendo el protocolo general.

Las orientaciones bimodales observadas podrían, de forma adicional, no deberse en realidad a una incapacidad para discernir entre ambos extremos del eje-Y entrenado, sino originarse simplemente como resultado de la ausencia de motivación direccional especial hacia un determinado extremo del eje-Y por parte de las larvas y tritones adultos estudiados (DEUTSCHLANDER *et al.*, 2000). Así, los resultados obtenidos en cada grupo experimental también podrían explicarse por la existencia, en el momento de los ensayos, de mezclas de individuos con distintas preferencias direccionales (FREAKE *et al.*, 2002), presentando, como norma general en nuestros resultados, la mitad de los individuos una orientación preferente hacia la orilla, mientras que aproximadamente una misma proporción de tritones mostraron preferencia hacia el extremo de mayor profundidad de agua, bien debido a variaciones individuales en la motivación o en la capacidad de aprendizaje.



4.1 Aprendizaje y orientación respecto al eje-Y a lo largo del desarrollo de *L. boscai*: papel del campo magnético terrestre

El uso del vector de campo magnético parece ser, al igual que lo encontrado en el estudio de la orientación de regreso al hogar, el mecanismo principal de referencia utilizado por el tritón ibérico en el aprendizaje de direcciones de orilla y orientación en relación a estas. Así, en todos los experimentos llevados a cabo al aire libre y con entrenamiento en condiciones naturales se observó una preferencia clara por el uso del sentido de compás magnético dependiente de la luz, mientras que no se detectó el uso de posibles mecanismos de orientación topográfica, siendo únicamente observado el empleo de un compás de polarización en condiciones artificiales de laboratorio con iluminación con luz 100% polarizada. El uso del sentido de compás magnético en la orientación respecto al eje-Y ha sido también descrito en otra especie de urodelo (*Notophthalmus viridescens*; PHILLIPS, 1986b; DEUTSCHLANDER *et al.*, 2000), y en dos especies de anuros (*Rana catesbeiana* -FREAKE *et al.*, 2002- y *Pelophylax perezi* -DIEGO-RASILLA & PHILLIPS, 2007-), lo que de nuevo pone en evidencia la importancia de las señales magnéticas en la orientación y movimientos de los anfibios. Cabe destacar como resultado de esta investigación la primera descripción del uso de un compás magnético por parte de urodelos larvarios (RODRÍGUEZ-GARCÍA & DIEGO-RASILLA, 2006a, b).

Durante los procesos de entrenamiento llevados a cabo con larvas, metamórficos y adultos de *L. boscai* observamos claras diferencias en las preferencias de los individuos, que se segregaban en los acuarios de entrenamiento de un modo relacionado con su grado de desarrollo; las larvas más jóvenes tendían a ocupar el extremo sombreado de aguas profundas, mientras que las larvas metamórficas y adultos mostraban generalmente una mayor preferencia por la orilla. Sin embargo, los resultados indican que tanto larvas jóvenes de *L. boscai* como individuos en proceso de metamorfosis y tritones adultos siguen una orientación similar, tomando distribuciones de rumbos magnéticos bimodales. No parecen existir, por lo tanto, a tenor de los resultados, diferencias en las preferencias direccionales derivadas del grado de desarrollo de las larvas de tritón ibérico, a diferencia de lo encontrado en estudios previos llevados a cabo con otras especies de anfibios (GOODYEAR & ALTIG, 1971;



TOMSON, 1972; ADLER & TAYLOR, 1980), que pusieron de manifiesto un giro o inversión en la orientación respecto al eje-Y en el momento de la metamorfosis. Según dichas investigaciones, las larvas de anfibios en estados de desarrollo tempranos, previos a la metamorfosis y, por lo tanto, totalmente acuáticas se orientarían preferentemente hacia el extremo de aguas profundas del eje-Y, mientras que los individuos recién metamorfoseados pasarían a orientarse hacia la orilla, mostrando una tendencia, aparentemente muy adaptativa, a salir del agua. Sin embargo, este comportamiento no puede confirmarse que ocurra en el caso de *L. boscai* ya que, aunque la orientación bimodal de individuos ensayados durante la metamorfosis podría explicarse por una mezcla de larvas tanto con preferencia hacia la orilla como hacia el extremo más acuático, las larvas más jóvenes, ensayadas antes del comienzo de la metamorfosis no muestran una preferencia más acusada hacia el extremo de aguas profundas, sino que mantienen la misma orientación bimodal que las metamórficas. De forma adicional, la orientación no significativa del pequeño grupo de juveniles recién metamorfoseados obtenidos en el experimento realizado con larvas metamórficas probablemente sea debida al bajo tamaño de muestra (4 tritones juveniles en el acuario N-S y 3 en el acuario E-O), por lo que esta no debería considerarse como un resultado concluyente.

La preferencia direccional hacia la orilla o aguas profundas parece estar regulada en anfibios por niveles hormonales, fundamentalmente de prolactina y tiroxina (FREAKE *et al.*, 2002), pero ADLER & TAYLOR (1980) descubrieron que, aunque la administración de tiroxina desencadenaba la metamorfosis en larvas de *Ambystoma tigrinum*, no provocaba de forma simultánea la inversión en la orientación respecto al eje-Y, sino que en esa especie de salamandra el desencadenamiento del cambio de preferencia direccional variaba en el tiempo entre un individuo y otro. Este dato podría explicar la existencia de una misma orientación bimodal en las larvas de *L. boscai*, tanto en las ensayadas durante el proceso de metamorfosis (estadio VI), como las estudiadas en estadios previos a la metamorfosis, (estadio V). Por lo tanto, si consideramos que la hipotética preferencia por la zona de orilla puede desencadenarse en algunos individuos en estadios anteriores al comienzo de la metamorfosis, se podría explicar la obtención de resultados idénticos y la orientación bimodal en las larvas de *L. boscai* ensayadas en estados de desarrollo V y VI. Sin embargo, aunque la realización de experimentos similares con larvas de *L. boscai* recién eclosionadas (buscando estudiar la orientación en estadios II y III) pudiera dar lugar a resultados diferentes, como una mayor



preferencia hacia el extremo de aguas profundas, el comportamiento bimodal observado también en tritones ibéricos adultos sugiere que la orientación bimodal depende de otros factores, no sólo de los ontogenéticos. Por lo tanto, los resultados presentados (similares a los encontrados por FREAKE *et al.*, 2002, con larvas de *Rana catesbeiana* siguiendo el mismo esquema metodológico) parecen indicar que la incapacidad y/o la ausencia de motivación (siendo esta última hipótesis la más probable) para distinguir entre ambos extremos del eje-Y son las causantes de la respuesta bimodal.

El aprendizaje de la dirección de eje-Y se realiza, tal como indican los resultados, de forma relativamente rápida, al menos en individuos adultos, ya que los tritones ibéricos adultos estudiados fueron capaces de aprender el eje magnético orilla-aguas profundas tras dos noches (48 horas) de permanencia en los acuarios de entrenamiento, sin que fuera efectuado en ese tiempo ningún entrenamiento intensivo ni protocolo especial diferente al llevado a cabo en experimentos similares. Este corto periodo de entrenamiento parece, pues, suficiente para el desarrollo de la conducta de orientación respecto al eje-Y, puesto que un mayor tiempo de permanencia de los tritones en los acuarios (hasta 6 días) dio lugar a resultados idénticos a los iniciales, manteniéndose la orientación bimodal observada a las 48 horas.

Como se ha comentado previamente, la existencia de orientación bimodal puede ser debida a diferentes factores, entre los que se encuentran aspectos relacionados con el proceso metodológico experimental. Para el caso concreto de orientación magnética respecto al eje-Y en tritones adultos, en la especie *Notophthalmus viridescens* se ha constatado la importancia de la longitud del periodo de entrenamiento en el aprendizaje del eje-Y. En dicha especie, los tritones ensayados a las 12-16 horas del comienzo del entrenamiento presentan una orientación bimodal, con igual preferencia hacia ambos extremos del eje-Y (DEUTSCHLANDER *et al.*, 2000), mientras que los tritones entrenados durante un periodo de 5-7 días muestran una orientación unimodal hacia la dirección de la orilla (PHILLIPS, 1986b), por lo que un mayor tiempo de entrenamiento parece influir en la capacidad para distinguir entre un extremo y otro del eje, o bien en un aumento de la motivación o preferencia hacia el extremo de orilla. En el presente caso, los tritones ibéricos tendrían la capacidad de aprender de forma muy rápida el eje-Y entrenado (en menos de 48 horas, al igual que en *N. viridescens*), pero, como ya se ha mencionado anteriormente, podrían necesitar de un tiempo mucho más prolongado de entrenamiento



(más de una semana) para adquirir la capacidad o la motivación necesaria para discriminar el extremo de orilla del extremo de aguas profundas. La ausencia de relación entre el primer rumbo tomado por cada tritón a las 48 horas de entrenamiento y el rumbo final (a los seis días), detectada gracias al reconocimiento individual de los tritones, indica que lo sucedido en los ensayos de orientación iniciales no parece influir en los ensayos de orientación finales, lo que apunta igualmente a una falta de motivación para discernir extremos de eje-Y. De forma alternativa al tiempo de aprendizaje, cambios en la metodología de entrenamiento podrían igualmente dar lugar a cambios en la motivación resultantes en una orientación unimodal preferente hacia uno de los extremos. Así, la influencia de la temperatura del agua en la orientación respecto al eje-Y en tritones adultos ha sido estudiada en *N. viridescens* (PHILLIPS, 1986b; DEUTSCHLANDER *et al.*, 2000), donde se ha constatado que elevar la temperatura en los acuarios de forma inmediatamente anterior a los ensayos de orientación aumenta de forma significativa la tendencia hacia el extremo de orilla, presumiblemente como una respuesta de escape de los tritones frente a condiciones adversas. De esta manera, tritones entrenados con temperaturas de agua moderadas muestran una orientación bimodal, mientras que aquellos tritones expuestos a altas temperaturas (31-32°C) durante los momentos finales de entrenamiento desarrollan una orientación unimodal hacia la orilla (PHILLIPS, 1986b). Sin embargo, la temperatura máxima alcanzada en el agua de los acuarios nunca sobrepasó los 23°C, valores posiblemente insuficientes como para desencadenar una respuesta clara de salida del agua. Por lo tanto, los tritones entrenados durante una semana podrían sí ser capaces de distinguir la polaridad del eje-Y, pero no tomar sentidos de orientación preferentes hacia la orilla debido a la metodología empleada.

4.2 Efecto directo de la longitud de onda de la luz sobre el compás magnético de larvas de tritón ibérico

Los resultados obtenidos mediante la aplicación de filtros específicos a determinadas longitudes de onda durante los ensayos de la conducta de orientación y el proceso de entrenamiento de larvas de *Lissotriton boscai* indican una clara influencia de las características de la luz sobre el mecanismo de magnetorrecepción implicado en la orientación respecto al eje-Y. Las larvas de tritón entrenadas bajo iluminación natural de

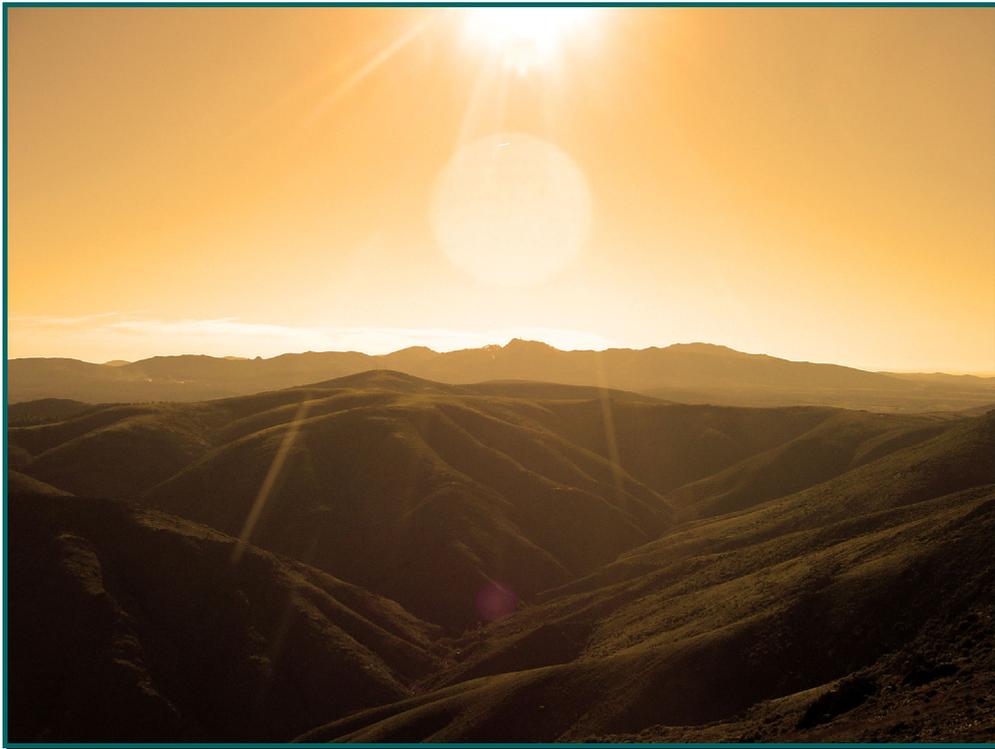


espectro total y ensayadas bajo luz de longitudes de onda largas ($\lambda \geq 500$ nm) mostraron un giro de 90° en su orientación mediante compás magnético, tomando rumbos magnéticos perpendiculares a la dirección de eje-Y correspondiente a su acuario, a diferencia de aquellos individuos entrenados también bajo iluminación natural pero ensayados bajo luz de espectro total o longitudes de onda cortas ($\lambda \leq 450$ nm), que sí respondieron orientándose de forma adecuada a la dirección entrenada. Este tipo de respuesta de dependencia de la luz sobre la orientación por brújula magnética es idéntica a la observada en larvas de *Rana catesbeiana* (FREAKE & PHILLIPS, 2005) y en larvas de *Pelophylax perezi* (DIEGO-RASILLA & PHILLIPS, 2007) y similar a la encontrada en experimentos realizados con tritones adultos de la especie *N. viridescens* (PHILLIPS & BORLAND, 1992B; DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999a, b), donde los tritones ensayados bajo luz de espectro total y luz de longitud de onda corta (400-450 nm) se orientaron correctamente hacia la dirección magnética de la orilla, pero al ser ensayados bajo longitudes de onda largas (550-560 nm) tomaban un rumbo rotado 90° en sentido contrario al de las agujas del reloj con respecto a la dirección de la orilla (PHILLIPS & BORLAND, 1992b).

La rotación sobre la dirección de eje-Y entrenada observada bajo iluminación de onda larga parece ser consecuencia de un efecto directo de la luz sobre el sentido de compás magnético, tal y como demuestran los resultados del experimento realizado con entrenamiento de las larvas de *L. boscai* bajo luz de onda larga, en lugar de luz natural de espectro total. En ese caso, las larvas de tritón ibérico mantuvieron la dirección magnética entrenada al ser ensayadas bajo la misma iluminación de onda larga presentada durante el periodo de entrenamiento ($\lambda \geq 500$ nm), pero, en cambio, sus rumbos de orientación magnética tomaron direcciones perpendiculares a las entrenadas al ser ensayadas bajo luz de espectro total. Estos resultados hacen que el giro de la dirección de orientación observado en el primer experimento (con entrenamiento bajo espectro total y ensayos bajo longitudes de onda largas) no pueda explicarse por un cambio en la motivación de los animales. En cambio, la exposición a longitudes de onda larga en los acuarios parece provocar un giro en su percepción del vector de campo geomagnético, y por lo tanto de la dirección de la orilla en relación a la dirección percibida de este vector. Como puede observarse en la figura 5.21 (pag. 277), los giros en la orientación magnética encontrados sólo pueden ser explicados por un efecto directo de la luz sobre el mecanismo de magnetorrecepción empleado por los tritones. Hasta la



fecha, este efecto directo de la luz sobre el compás magnético encontrado en *L. boscai* sólo ha podido demostrarse en *Notophthalmus viridescens* (DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999a, b), donde se detectaron idénticas respuestas ante las longitudes de onda de la luz tras emplear un protocolo de entrenamiento-ensayos similar y, recientemente, en larvas de *Pelophylax perezi* (DIEGO-RASILLA & LUENGO, 2008), constituyendo el conjunto de los resultados obtenidos con estas tres especies la principal prueba comportamental encontrada en cualquier grupo animal a favor de la implicación de fotorreceptores en el mecanismo de magnetorrecepción (JOHNSEN & LOHMANN, 2005), tal como proponen las teorías de magnetorrecepción química (RITZ *et al.*, 2000). El hallazgo de idénticas respuestas de orientación magnética ante las diferentes longitudes de onda de la luz en especies de anfibios tan dispares hace pensar en la existencia de un único mecanismo de compás magnético común a urodelos y anuros, posiblemente de aparición ancestral en la evolución (FREAKE & PHILLIPS, 2005).



Vistas de la sierra de Quilamas desde el Pico Cervero

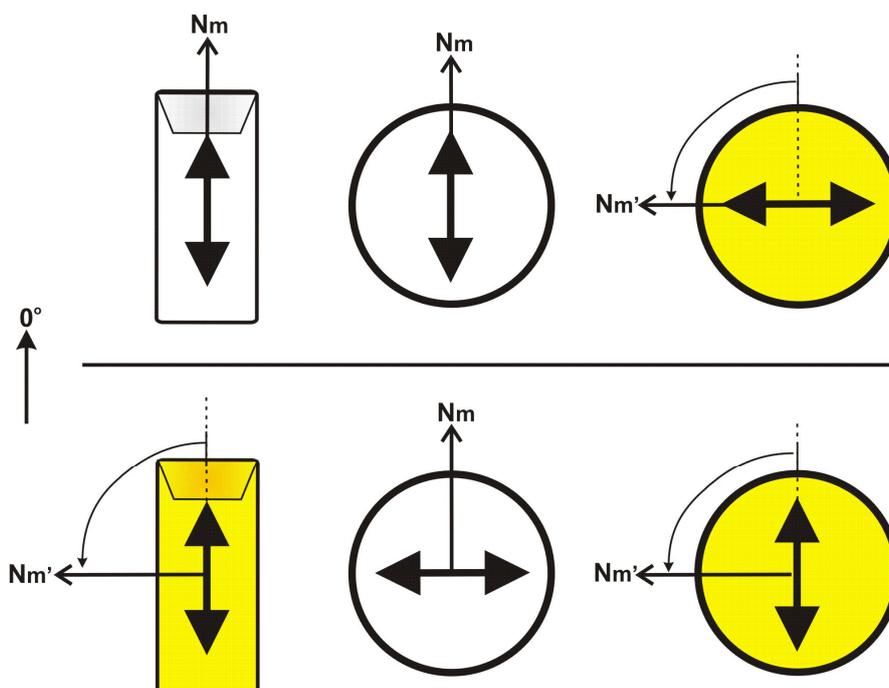


Figura 5.21 Giro en la percepción del vector geomagnético bajo iluminación de longitudes de onda larga

A la izquierda se representan diagramas esquemáticos correspondientes a un acuario de entrenamiento de dirección de eje-Y Norte-Sur (con orilla en el Norte magnético, situado hacia la parte superior de la página). La parte superior del gráfico explica los resultados obtenidos en el experimento con entrenamiento bajo iluminación de espectro total, mientras que la parte inferior corresponde al experimento con entrenamiento bajo luz de longitud de onda larga ($\lambda \geq 500$ nm, color amarillo). Los diagramas circulares representan las situaciones de iluminación y orientación obtenida en la arena tras el correspondiente entrenamiento. La luz de longitudes de onda larga causa que la dirección percibida del norte magnético (Nm') sea perpendicular a la verdadera posición del norte magnético (Nm). Si bien en los experimentos con *L. boscai*, la orientación bimodal obtenida no permite establecer el sentido de este giro de 90° en la percepción del campo magnético, en los diagramas se supone una rotación contraria al sentido de las agujas del reloj bajo longitudes de onda larga, tal y como ha sido comprobado en experimentos con *N. viridescens* (DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999b). Al percibir de forma incorrecta la dirección del vector geomagnético, aquellos individuos entrenados bajo longitud de onda larga percibirán la posición de la orilla igualmente rotada (abajo, izquierda), por lo que al ser ensayados en la arena circular bajo luz de espectro total la información direccional obtenida del campo magnético estará girada 90° en el sentido de las agujas del reloj respecto a la percepción del vector geomagnético en los acuarios, provocando una orientación perpendicular a la dirección de eje-Y real (abajo, centro). En cambio, los ensayos bajo las mismas condiciones de iluminación de onda larga experimentadas durante el entrenamiento producen una percepción del vector magnético idéntica a la experimentada en los acuarios (giro de 90° en sentido opuesto a las agujas del reloj respecto a la dirección real). En consecuencia, la orientación a lo largo de la dirección de eje-Y aprendida durante el entrenamiento producirá una orientación correcta en la arena circular, al mantenerse el mismo ángulo de relación aprendido entre el campo magnético percibido y el sentido de orientación aprendido (abajo, derecha).



Basándose en los resultados obtenidos con *N. viridescens*, PHILLIPS & BORLAND (1992b) propusieron un modelo para explicar cómo un cambio en la longitud de onda de la luz podría alterar la respuesta direccional de un sentido de compás magnético, que también podría aplicarse a los resultados de dependencia de la luz obtenidos con *L. boscai* (figura 5.22). De acuerdo a este modelo, el comportamiento observado se debería a la existencia de dos mecanismos espectrales, conectados y posiblemente componentes del mismo proceso bioquímico, que actuarían de forma antagónica en el proceso de magnetorrecepción. El mecanismo de compás magnético recibiría dos entradas de información, una correspondiente a la longitud de onda corta (con un pico de sensibilidad ≤ 450 nm) y otra activa bajo longitud de onda larga (≥ 500 nm), indicando cada entrada direcciones perpendiculares de orientación respecto a la otra. Puesto que la iluminación con longitudes de onda corta origina respuestas de orientación idénticas a las obtenidas bajo iluminación natural y coherentes con la dirección de eje-Y aprendida, los mencionados autores propusieron que sólo la entrada de información correspondiente a la onda corta indicaría las direcciones magnéticas correctas. Igualmente, ya que la orientación obtenida bajo luz de onda corta es idéntica a la obtenida bajo espectro total, la respuesta de dicho mecanismo sensible a las ondas cortas de la luz debería imponerse al dominar sobre la entrada de onda larga (figura 5.22). Así, bajo iluminación de espectro total ambas entradas se activarían, pero la de onda corta sería más sensible, permitiendo la lectura adecuada del campo magnético. Según este modelo, longitudes de onda monocromáticas intermedias, que estimularan las dos entradas por igual, deberían hacer que los patrones complementarios de ambas entradas se contrarrestaran, provocando la desorientación de los animales, tal y como se constató en *N. viridescens* al ensayar los tritones bajo luz de 475 nm de longitud de onda (DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999b).

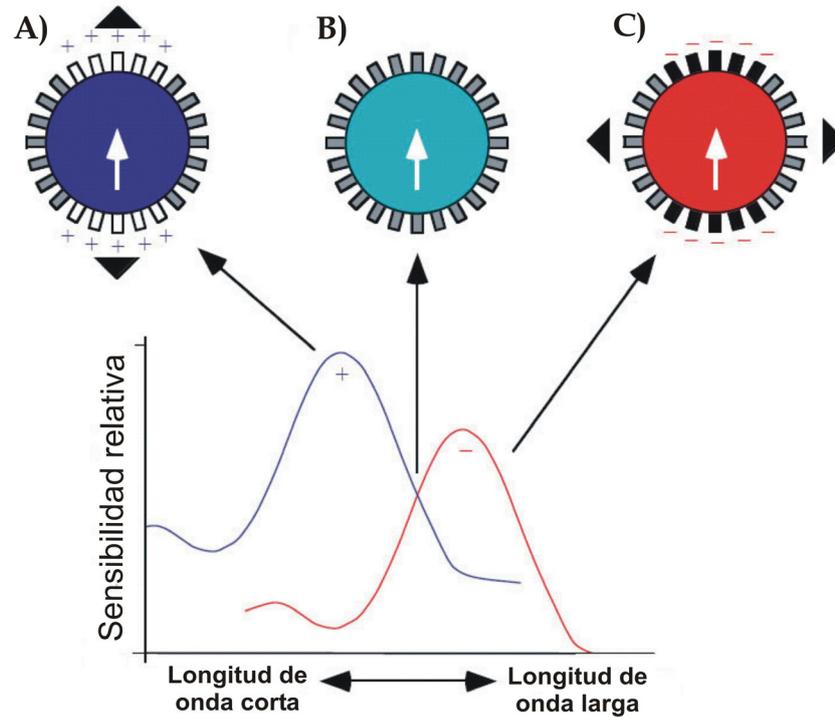


Figura 5.22 Modelo de dos mecanismos antagonísticos de magnetorrecepción dependiente de la luz (modificado de DEUTSCHLANDER et al., 1999b)

En "A", "B" y "C" se representa un sistema de magnetorrecepción basado en una disposición circular de fotorreceptores (tal y como proponen los modelos de compás químico; RITZ *et al.*, 2000), representados en el dibujo por pequeños rectángulos. La gráfica inferior representa el espectro de absorción de luz de dos mecanismos hipotéticos: uno sensible a las longitudes de onda corta de la luz y otro activado por longitudes de onda largas. Los dos mecanismos espectrales tendrían efectos antagonísticos, tal como indican los símbolos "+" y "-" bajo las curvas de absorción. **(A)**: Bajo longitudes de onda corta, los fotorreceptores colocados en un determinado alineamiento respecto al eje de campo magnético (representado por la flecha blanca) serían excitados de forma diferencial y producirían un aumento en su respuesta (rectángulos blancos) en relación a aquellos fotorreceptores en otras posiciones (rectángulos grises). Los triángulos negros exteriores al diagrama indican el eje de máximo nivel de respuesta. **(C)**: Bajo iluminación con longitudes de onda largas, los receptores alineados con el campo magnético producirían en este caso una disminución en su respuesta (representado por el color negro de los rectángulos alineados con el vector magnético) en relación a los receptores no alineados con el campo magnético (color gris), debido al efecto antagonístico del mecanismo sensible a ondas largas. Por lo tanto, en ese caso, el eje de máxima sensibilidad magnética sería perpendicular al presentado en la misma situación por el mecanismo sensible a longitudes de onda cortas, lo que explicaría el giro de 90° producido por iluminaciones monocromáticas de longitud de onda larga. Una iluminación con luz de espectro total, como la luz natural, activaría los dos mecanismos espectrales, pero la mayor sensibilidad del mecanismo de onda corta primaría su respuesta frente a la obtenida por el mecanismo de onda larga, mientras que una iluminación monocromática con longitudes de onda intermedias podría producir una ausencia de orientación magnética al activar con el mismo nivel de sensibilidad ambos mecanismos **(B)**.



La razón por la que coexistirían dos mecanismos espectrales en la magnetorrecepción dependiente de la luz en anfibios, y en otros animales (puesto que también se han encontrado efectos similares de dependencia de longitudes de onda de la luz en otros grupos; ver sección I-4.1D) no está aún clara. Así, de acuerdo a PHILLIPS *et al.* (2001), el mecanismo sensible a las longitudes de onda largas de la luz podría haber aparecido de forma secundaria en la evolución y su función original podría haber sido la de cancelar o impedir el uso de la magnetorrecepción bajo ciertas condiciones. Por ejemplo, esto podría ocurrir si el organismo estuviera expuesto a luz solar directa (rica en longitudes de onda largas) y explicaría, de acuerdo a los mencionados autores, por qué algunas especies de anfibios utilizan brújulas solares cuando el sol está visible, en lugar de recurrir a una orientación magnética que, por otra parte, es poco fiable durante las horas diurnas debido a la influencia solar sobre el campo geomagnético. Sin embargo, en el caso del tritón ibérico no hemos detectado el uso de un compás solar, sino que el uso del compás magnético parece preferente incluso en condiciones de iluminación solar directa. Por otro lado, en trabajos posteriores, FREAKE & PHILLIPS (2005) sugieren que la iluminación exclusiva con longitudes de onda superiores a 500 nm (pico máximo de sensibilidad del mecanismo de onda larga) empleada en los estudios experimentales difícilmente podría ser experimentada por los anfibios en condiciones naturales, puesto que incluso la luz solar rojiza del amanecer o atardecer posee todavía longitudes de onda inferiores a 500 nm (HERNÁNDEZ-ANDRÉS *et al.*, 2001). Asimismo, otros autores sostienen que el giro de 90° en la orientación magnética podría ser en realidad un subproducto del mecanismo biofísico responsable de la magnetorrecepción (EDMONDS, 1996; RITZ *et al.*, 2000). Por lo tanto, la significación biológica de una supuesta magnetorrecepción química basada en dos mecanismos espectrales diferentes, como la sugerida por nuestros resultados, aún es desconocida.

Si bien la influencia de la luz sobre el sentido magnético no ha sido estudiada en todas las especies de anfibios, en la actualidad, y con los resultados de este trabajo de tesis, ya existen evidencias de capacidad de orientación magnética en ocho especies de anfibios: *Lissotriton boscai*, *Triturus marmoratus*, *Eurycea lucifuga* (PHILLIPS 1977), *Notophthalmus viridescens* (PHILLIPS, 1986a), *Rana catesbeiana* (FREAKE *et al.*, 2002), *Mesotriton alpestris* (DIEGO-RASILLA, *et al.*, 2005), *Pelophylax perezi* (DIEGO-RASILLA & PHILLIPS, 2007) y *Lissotriton helveticus* (DIEGO-RASILLA *et al.*, 2008). Por lo tanto, es probable que la magnetorrecepción sea un sentido universal dentro de este grupo animal,



posiblemente basado en un mismo mecanismo o mecanismos en todas las especies, incluyendo el compás dependiente de la luz descrito en *L. boscai* y *N. viridescens*. Asimismo, es interesante destacar que investigaciones llevadas a cabo con esta última especie han propuesto la existencia en tritones de dos sistemas de magnetorrecepción distintos: el citado compás químico dependiente de la luz (basado probablemente a su vez en los dos mecanismos espectrales descritos) y un detector de gradientes de mapa magnético no dependiente de la luz, posiblemente basado en partículas de magnetita (PHILLIPS & BORLAND, 1994). Ambos sistemas de magnetorrecepción interactuarían entre sí en la conducta de orientación de los tritones, de forma que tareas de orientación sencillas, tales como la orientación respecto al eje-Y, precisarían únicamente del uso del sentido de compás dependiente de la luz, mientras que tareas más complejas, como la verdadera navegación (orientación de mapa y compás) detectada en estas especies, requerirían también el empleo del sentido de mapa magnético en combinación con el sentido de compás.

La interacción entre mapa y compás magnético explicaría las diferentes propiedades encontradas en las conductas de orientación magnética de los tritones (como la dependencia de la luz, debida al uso del compás químico, o la sensibilidad polar y capacidad de detectar mínimas variaciones en gradientes magnéticos en la navegación de regreso al hogar que permitiría el uso de un sistema basado en magnetita, PHILLIPS & BORLAND, 1994), así como explicaría también las distintas respuestas provocadas por la iluminación con longitudes de onda largas en la orientación seguida por los tritones. Tanto en los resultados obtenidos con el tritón ibérico como en estudios previos con la especie *Notophthalmus viridescens* se ha encontrado que el giro de 90° en la orientación magnética respecto al eje-Y bajo luz de $\lambda \geq 500$ nm no se corresponde con un giro similar en la dirección tomada por los tritones cuando la conducta estudiada es una orientación de regreso al hogar. En cambio, los tritones iluminados con longitudes de onda largas en el momento de localizar la posición de su hogar fallaron completamente al orientarse y siguieron rumbos distribuidos al azar (ver sección IV-1, figura 4.7, pag. 160). De acuerdo a Phillips y colaboradores, este diferente efecto de las longitudes de onda largas en la orientación de regreso al hogar se explicaría por la interacción del sentido de compás magnético con el sentido de mapa magnético (no utilizado en la orientación respecto al eje-Y, pero sí en la navegación de regreso al hogar), ya que los tritones utilizarían el compás magnético para alinear el detector de mapa y así obtener



medidas más precisas de los parámetros magnéticos utilizados para navegar. El giro en la percepción del norte magnético provocado por la luz de $\lambda \geq 500$ nm provocaría que el eje magnético indicado por el sentido de compás químico fuera perpendicular a la polaridad de campo indicada por el detector de mapa, impidiendo así a los tritones tomar lecturas correctas de su posición y dirección de medio acuático y provocando la desorientación completa observada (PHILLIPS *et al.*, 2002).

Si bien en *L. boscai* no podemos demostrar completamente la existencia de dos sistemas de magnetorrecepción como los propuestos para *N. viridescens* (sentido de mapa basado en magnetita y sentido de compás basado en dos mecanismos espectrales), la coincidencia en las respuestas obtenidas en una y otra especie sugiere unas bases fisiológicas similares. Igualmente, aunque en el presente trabajo no se haya estudiado la orientación respecto al eje-Y de *Triturus marmoratus*, la otra especie aquí considerada, en la orientación de regreso al hogar sí encontramos respuestas respecto a la longitud de onda de la luz idénticas a las obtenidas en el tritón ibérico, y otros estudios han detectado también el uso del compás magnético para la orientación respecto al eje-Y de esa especie (DIEGO-RASILLA, datos no publicados) por lo que podemos pensar en un comportamiento de orientación magnética idéntico. Aunque la localización del supuesto detector de mapa basado en partículas de magnetita aún no está clara (BRASSART *et al.*, 1999), sí existe un gran número de evidencias que apuntan a que el sentido de compás magnético dependiente de la luz está localizado en el órgano pineal de tritones (o al menos ésa sería la zona de recepción del estímulo luminoso que desencadenaría el funcionamiento del sentido de compás químico, DEUSTCHLANDER *et al.*, 1999a, b). Asimismo, DODT & HEERD (1966) identificaron en el órgano frontal (prolongación de la glándula pineal) de ranas (*Rana temporaria* y *R. esculenta*) unidades que reciben entradas espectrales antagónicas con propiedades coincidentes con las sugeridas por el modelo de dos mecanismos de magnetorrecepción antagónicos propuesto para tritones (PHILLIPS & BORLAND, 1992b). Respuestas similares frente a las características de la luz se han detectado también en el órgano parietal de reptiles (homólogo al órgano frontal de anfibios anuros; SOLESSIO & ENGBRETSON, 1993), así como en las conductas de orientación magnética de moscas de la fruta (PHILLIPS & SAYEED, 1993) y aves (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 1996), por lo que los mecanismos de magnetorrecepción de los distintos grupos animales podrían haber evolucionado a partir de un único sistema de compás magnético dependiente de la luz ancestral (WILTSCHKO & WILTSCHKO, 2005).



4.3 Sensibilidad a la luz polarizada en el tritón ibérico y su uso en la orientación respecto al eje-Y

El experimento realizado bajo iluminación con luz linealmente polarizada en el interior de un laboratorio demuestra por primera vez que los tritones ibéricos adultos tienen la capacidad de percibir el plano de polarización de la luz, así como de usarlo, al menos en la orientación respecto al eje-Y, gracias a la asociación de la dirección de vector eléctrico experimentada durante el entrenamiento con la dirección del eje orilla-aguas profundas. Teniendo en cuenta la metodología de entrenamiento y ensayos empleada, el conjunto de las distribuciones de rumbos de orientación seguidos por los tritones estudiados sólo puede explicarse de forma satisfactoria por el uso de la dirección de vector eléctrico como mecanismo de compás, ya que las orientaciones tomadas por los tritones respecto a la dirección del plano de polarización presentado en la arena circular fueron coherentes con la relación entre las direcciones de vector eléctrico experimentadas en el entrenamiento y el eje-Y. Es decir, aquellos individuos entrenados en el acuario de eje-Y norte-sur bajo una dirección de vector eléctrico perpendicular a su eje-Y siguieron también un eje de orientación bimodal perpendicular al vector eléctrico presentado en la arena experimental, mientras que los tritones entrenados en el acuario de dirección este-oeste, con una iluminación de vector eléctrico paralelo al eje-Y durante el entrenamiento, siguieron en su caso los predecibles rumbos paralelos a la dirección de vector eléctrico presentada en la arena.

La metodología de ensayos empleada, con el giro de la dirección de vector eléctrico respecto a las configuraciones utilizadas en los acuarios de entrenamiento, nos permite descartar el uso por parte de los tritones de otras fuentes potenciales de información direccional, distintas a la luz polarizada, que estuvieran disponibles en la habitación de ensayos. Por ejemplo, las distribuciones de rumbos de orientación no son explicables por un posible uso de referencias topográficas, como pudiera ser la referencia proporcionada por el sistema de soporte de la fuente de luz polarizada empleado en los acuarios de entrenamiento y arena circular (ver figura 5.18, pag. 264). Aunque *a priori* se podría pensar que la barra de soporte podría funcionar como referencia visual útil para los tritones, al constituir un eje lineal paralelo al eje-Y de entrenamiento, los rumbos seguidos por los tritones entrenados en el acuario este-oeste,



que se orientaron de forma paralela al vector eléctrico (lo esperable en caso de uso de un compás de polarización) pero perpendicularmente al eje referencial marcado por el sistema de soporte, descartan esa posibilidad (ver figura 5.19, pag. 266). Asimismo, el sentido de compás magnético dependiente de la luz no parece ser el mecanismo mayoritario empleado por los tritones en el caso concreto de este experimento, puesto que los individuos ensayados en la arena circular no siguieron las direcciones magnéticas de eje-Y presentadas durante el entrenamiento (lo cual hubiera dado lugar a distribuciones de rumbos con eje medio orientado en dirección norte-sur o este-oeste; figura 5.19), sino que tomaron rumbos únicamente dependientes de la posición del plano de polarización de la luz.

Si bien los análisis efectuados sobre los rumbos de los tritones entrenados en el acuario norte-sur (figura 5.20A, pag. 268) muestran, además de la orientación bimodal perpendicular al vector eléctrico esperable, una significación estadística unimodal con los intervalos de confianza del 95% para el vector medio (27°) incluyendo la dirección norte magnética, este efecto puede únicamente ser consecuencia de que un mayor número de individuos eligieran de forma casual uno de los extremos marcados por el plano de polarización. Debido a sus características, un compás basado en el vector eléctrico sólo proporciona información direccional de tipo axial, por lo que, aunque las orientaciones bimodales obtenidas serían el efecto esperable derivado de su uso, la incapacidad sensorial para distinguir una polaridad de orientación podría también llevar, simplemente por azar, a que un mayor número de individuos eligieran uno de los extremos del eje marcado por el plano de polarización, tal como parece ocurrir en el caso de los tritones pertenecientes al acuario norte-sur. Por otra parte, la tendencia unimodal encontrada para el acuario norte-sur, próxima a la dirección norte, también podría ser debida al uso del sentido de compás magnético por parte de un grupo mínimo de tritones; pero, en cualquier caso, el uso del vector eléctrico como señal direccional parece ser la señal preferida para la gran mayoría de los tritones estudiados bajo las condiciones presentadas, ya que en el acuario norte-sur también encontramos la esperable distribución de rumbos bimodal, perpendicular al vector eléctrico, a un nivel de significación estadístico similar al correspondiente a los análisis unimodales. Asimismo, el uso del plano de polarización de la luz es la única causa capaz de explicar la orientación bimodal seguida por los tritones entrenados en el acuario este-oeste. De forma adicional, el conjunto de rumbos (suma de tritones de uno y otro acuario),



normalizados respecto a una misma dirección de orilla, sigue un eje medio girado aproximadamente 45° respecto al eje-Y, coherente con el giro de 45° efectuado durante los ensayos en la dirección de vector eléctrico respecto a la presente durante el periodo de entrenamiento (figura 4.20C). En conclusión, los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que el tritón ibérico posee los mecanismos sensoriales y cognitivos requeridos por un compás de polarización; es decir, capacidad de discriminar planos de vector eléctrico y asociarlos con direcciones espaciales, si bien no podemos probar que los tritones ibéricos utilicen dicho compás de polarización durante sus tareas de orientación en la naturaleza, puesto que esta capacidad únicamente ha sido observada en condiciones artificiales (experimentos en interior de un laboratorio, con entrenamiento y aplicación de luz 100% linealmente polarizada). *L. boscai* es, de esta forma, la primera especie de urodelo europea en la que se demuestra la capacidad de detectar y utilizar el plano de polarización de la luz, siendo a nivel global la tercera especie de anfibio en la cual se ha detectado esta habilidad, junto a las salamandras de la especie *Ambystoma tigrinum* (ADLER & TAYLOR, 1973; TAYLOR & ADLER, 1973, 1978) y las larvas del anuro *Rana catesbeiana* (TAYLOR & AUBURN, 1978; AUBURN & TAYLOR, 1979), tratándose en todos los casos de estudios en los que se ha probado el uso de este tipo de compás en conductas de orientación respecto al eje-Y.

En el presente estudio, al igual que en anteriores experimentos de orientación respecto al eje-Y, los tanques de entrenamiento permanecieron llenos de agua durante todo el periodo de aprendizaje de las direcciones de eje-Y, por lo que la luz linealmente polarizada utilizada para iluminar los acuarios tuvo que atravesar cierta profundidad de agua antes de ser percibida por los tritones, pudiendo existir, por lo tanto, un proceso de polarización adicional producido por la dispersión de la luz en la columna de agua (WEHNER, 2001). Sin embargo, aunque el porcentaje de polarización bajo el agua descende con la profundidad, el grado de variación en el ángulo de polarización respecto a la luz a nivel atmosférico es mínimo, y más en aguas someras, donde encontramos una fracción de agua correspondiente a la llamada “ventana de Snell”, próxima a la superficie, donde se mantiene el patrón de polarización atmosférico, (WEHNER, 2001). Asimismo, tal como demuestran varios estudios (TIMOFEEVA, 1970; WATERMAN, 1981; CRONIN & SHASHAR, 2001; SHASHAR *et al.*, 2007), el efecto polarizador debido a la dispersión de la luz en columnas de agua sólo es reseñable a partir de varios metros de profundidad. Por lo tanto, teniendo en cuenta la baja



profundidad de agua utilizada en los acuarios de entrenamiento (con una profundidad máxima en torno a los 30 cm en el extremo de aguas profundas), podemos considerar que tanto el grado como el ángulo de polarización de la fuente de luz polarizada se mantuvieron inalterables, o al menos no sufrieron variaciones significativas de cara a los propósitos del estudio, y que la luz percibida por los tritones mantuvo las mismas características independientemente del nivel en la columna de agua en que se encontraran. En conclusión, teniendo igualmente en cuenta que los ensayos se realizaron en una arena circular con una profundidad de agua mínima (1 cm), podemos considerar que los tritones ibéricos utilizaron el patrón de polarización atmosférico para orientarse.

Esta capacidad para detectar el plano de polarización de la luz celeste, de aplicarse por los tritones en sus movimientos en la naturaleza, tendría la ventaja de ser un mecanismo útil incluso en medios o situaciones en los que no fuera posible una visión directa del disco solar (por ejemplo al estar oculto el sol por la vegetación o tras el horizonte), puesto que diversos estudios demuestran que el patrón de vector eléctrico se mantiene constante sin necesidad de iluminación solar directa e incluso en situaciones de nubosidad extrema (POMOZI *et al.*, 2001, WEHNER, 2001; HEGEDÜS *et al.*, 2007). En cualquier caso, el uso de este compás de polarización en las conductas de orientación de *L. boscai* parece un mecanismo secundario frente al empleo del compás magnético, ya que no se detectaron indicios del uso de señales celestes en otros experimentos de orientación respecto al eje-Y, llevados a cabo con tritones ibéricos adultos y larvas, realizados en condiciones más naturales y donde los tritones mostraron en todo caso una clara preferencia por el campo geomagnético como señal direccional de referencia (ver apartados anteriores). En cambio, la ausencia de una orientación magnética en los tritones estudiados bajo luz linealmente polarizada podría explicarse por las condiciones artificiales en las que se desarrolló este último experimento, con entrenamiento y ensayos en el interior de un edificio, donde los acuarios y arena de ensayos se encontraban próximos a diversas posibles fuentes de distorsión del campo magnético ambiental (estructuras de hierro e instalaciones y aparatos eléctricos). En estas condiciones, el uso del sentido de compás magnético podría resultar más dificultoso o menos fiable en comparación con el empleo del vector eléctrico, constituyendo en cambio la fuente de luz polarizada una señal fuerte (100% de la iluminación con una única dirección de e-vector) y homogénea, de uso sencillo como referencia direccional por aquellos animales capaces de percibirla. Esta capacidad de detectar y usar el vector



eléctrico de la luz polarizada resultaría, sin embargo, de aplicación más compleja en la naturaleza, donde los porcentajes de polarización atmosférica son relativamente bajos y los patrones de polarización bastante variables, así como dependientes de la posición del sol, por lo que el uso de un compás de este tipo requeriría complejos mecanismos de compensación en fase con un reloj interno (WEHNER, 2001). Así, el uso del compás magnético dependiente de la luz se impondría como mecanismo preferente en la orientación respecto a la orilla de los medios acuáticos en condiciones naturales, tal como indican los resultados obtenidos, mientras que el compás de polarización podría estar limitado a aquellas condiciones en las que el campo magnético proporcionara una lectura poco fiable. Por otra parte, la ausencia de indicios de orientación celeste en el estudio de la orientación de regreso al hogar de *L. boscai* sugiere que la percepción del vector eléctrico podría estar limitada como mecanismo de compás secundario a la conducta de orientación respecto al eje-Y, o emplearse únicamente a determinadas horas del día (por ejemplo, al amanecer o atardecer, cuando el patrón de polarización celeste es más útil de cara a la orientación espacial; MUHEIM *et al.*, 2006c) o como señal de referencia para calibrar el compás magnético, tal como se ha probado en estudios con aves (MUHEIM *et al.*, 2006b, c, 2007). Por último, una opción que no se puede descartar es que la capacidad de detección del ángulo de polarización de la luz constituya en el tritón ibérico un mecanismo de orientación potencial no empleado en la naturaleza, o incluso esta capacidad podría haber aparecido como subproducto del propio mecanismo de compás magnético y estar mediada por los mismos fotorreceptores, tal como sugieren varios autores (DEUTSCHLANDER *et al.*, 1999b; PHILLIPS *et al.*, 2001). Diversos estudios han demostrado la implicación del órgano pineal en la orientación por luz polarizada en anfibios, así como la existencia de respuestas a la longitud de onda de la luz en la orientación por luz polarizada de otros grupos de vertebrados similares a las descritas para conductas de orientación magnética (PHILLIPS *et al.*, 2001). En cualquier caso, la posible interacción de la percepción del patrón de polarización con el sentido de compás magnético dependiente de la luz queda más allá de los objetivos del presente estudio, por lo que debería ser analizada en trabajos futuros.

VI

CONCLUSIONES





VI. CONCLUSIONES

1. Tanto el tritón ibérico (*Lissotriton boscai*) como el tritón jaspeado (*Triturus marmoratus*) son capaces de orientarse de regreso al medio acuático en el que se reproducen después de haber sido transportados experimentalmente a otro lugar. Ésta es la primera vez que se demuestra dicha conducta de orientación en el tritón ibérico.
2. Los mecanismos y estrategias empleados en la conducta de regreso al hogar son similares en ambas especies. Tanto *Lissotriton boscai* como *Triturus marmoratus* son capaces de percibir el campo magnético de la Tierra, utilizando un compás magnético como sentido básico en la conducta de orientación de regreso al hogar.
3. Ambas especies de tritones poseen una alta fidelidad por los medios acuáticos que utilizan para reproducirse y son capaces de orientarse de regreso a su hogar incluso desde distancias notablemente superiores a las que recorren en sus movimientos habituales (distancias de al menos 12 km en el caso del tritón ibérico y de al menos 9,6 km en el caso del tritón jaspeado).
4. La orientación de regreso al hogar mediante compás magnético se mantiene de forma efectiva en las dos especies estudiadas incluso tras desplazamientos experimentales hasta lugares desconocidos, en ausencia de estímulos direccionales durante el transporte y de cualquier tipo de información sobre la ruta de desplazamiento seguida. Estos resultados sugieren la implicación de un mecanismo de verdadera navegación en la orientación de regreso al hogar de ambas especies, con la existencia de un sentido de mapa de navegación adicional al sentido de compás magnético.
5. El sentido de mapa de navegación de *L. boscai* y *T. marmoratus* está basado en algún factor o factores de lectura preferentemente nocturna. A diferencia de los tritones cuya conducta fue estudiada durante la noche, aquellos tritones que no tuvieron acceso a información nocturna en el lugar de experimentación no pudieron determinar de forma adecuada su posición geográfica relativa al hogar,



orientándose aleatoriamente o con rumbos de orientación erróneos. Los animales que pasaron la noche en un lugar diferente al lugar de ensayos tomaron al día siguiente rumbos de orientación respecto al hogar correspondientes al lugar de mantenimiento nocturno, y no a su posición geográfica real en ese momento.

6. Aunque los tritones realicen medidas de mapa nocturnas, no necesitan una exposición nocturna prolongada al factor o factores implicados en el mapa de navegación para realizar lecturas adecuadas del mismo. Al menos en el caso de *Lissotriton boscai*, los tritones mantenidos durante 24 horas en un lugar diferente al de los ensayos sí fueron capaces de orientarse de forma correcta desde el lugar de ensayos cuando dispusieron únicamente de información recopilada durante dos horas de mantenimiento nocturno previo.
7. Los datos sugieren la implicación de al menos algún gradiente geomagnético (como la inclinación o la intensidad de campo) tanto en el sentido de mapa de *T. marmoratus* como en el de *L. boscai*, si bien el tipo de estudio realizado no permite identificar los factores de mapa concretos utilizados. El uso de un mapa magnético explicaría la totalidad de respuestas obtenidas en los experimentos, así como la navegación efectiva en noches nubladas y sin estrellas visibles o la toma nocturna de las medidas de mapa.
8. Encontramos una respuesta de regreso al hogar peculiar en una población concreta de *Lissotriton boscai*, donde los tritones siguieron orientaciones de regreso al hogar bimodales al ser desplazados a determinadas localizaciones geográficas. Estas respuestas bimodales no pueden explicarse por el empleo de ningún tipo de compás con sensibilidad axial, ni por ningún comportamiento de orientación distinto a la conducta de regreso al hogar. En cambio, parecen ser debidas al empleo del sentido de mapa de navegación cuando los tritones no tuvieron posibilidad de registrar el rumbo de desplazamiento experimental previo. Esta conducta podría deberse a una mayor dificultad en la lectura de los gradientes magnéticos utilizados como coordenadas de mapa en ciertas orientaciones respecto al hogar, o bien al propio alineamiento de gradientes en las cercanías del medio acuático, que llevara a la imposibilidad de determinar de forma inequívoca la posición relativa al hogar cuando los tritones intentasen



- extrapolar esos gradientes aprendidos. Serán necesarios estudios futuros con el uso de magnetómetros para confirmar o rechazar estas hipótesis.
9. *Lissotriton boscai* es una especie capaz de orientarse de forma perpendicular a la línea de orilla propia de su medio acuático (orientación respecto al eje-Y). Esta capacidad se encuentra tanto en larvas como en tritones ibéricos adultos y se desarrolla mediante experiencia o aprendizaje de la dirección de eje-Y propia del medio habitado, ya sea natural o artificial.
 10. Para orientarse respecto al eje-Y, las larvas y adultos de *L. boscai* utilizan de forma preferente el campo geomagnético. En esta especie se ha demostrado por primera vez la existencia de un sentido de compás magnético en urodelos larvarios.
 11. La orientación magnética respecto al eje-Y del tritón ibérico, analizada tras una semana de aprendizaje, es de tipo bimodal, no existiendo en los ensayos experimentales preferencia por ninguno de los extremos del eje-Y entrenado (orilla-aguas profundas). La aplicación de protocolos de entrenamiento activo (obligando a las larvas a recorrer diariamente toda la longitud del tanque de entrenamiento) no produjo variaciones en la respuesta bimodal observada.
 12. No se han detectado diferencias derivadas del grado de desarrollo larvario en el comportamiento de orientación respecto al eje-Y del tritón ibérico. Tanto larvas jóvenes como larvas analizadas en el momento de la metamorfosis muestran una orientación bimodal idéntica.
 13. Los tritones ibéricos adultos son capaces de aprender direcciones de eje-Y artificiales en menos de 48 horas. Un periodo de entrenamiento de hasta seis días no repercute en una mejora de la motivación o de la capacidad de orientación detectada a las 48 horas, ya que se mantiene una orientación de tipo bimodal. Los rumbos de orientación tomados por cada tritón a las 48 horas no están relacionados con los seguidos a los seis días de entrenamiento.
 14. Los tritones ibéricos adultos, entrenados bajo fuentes de luz 100% linealmente polarizadas, fueron capaces de asociar la dirección del plano de polarización de



la luz que iluminaba los acuarios con el eje-Y de los mismos. Esta capacidad de orientación respecto a la luz polarizada no ha podido detectarse en experimentos realizados en condiciones naturales, donde las señales magnéticas parecen representar un estímulo más fiable. Por lo tanto, el compás de polarización puede tratarse de un sistema de orientación secundario poco utilizado en la naturaleza.

15. El sentido de compás magnético utilizado por *L. boscai* y *T. marmoratus* es altamente dependiente de la luz. Aquellos tritones ensayados bajo condiciones de oscuridad total fueron incapaces de orientarse correctamente de regreso al hogar. Sin embargo, los tritones son capaces de orientarse en noches de cielo nublado y luna no visible, recurriendo a una mínima iluminación natural nocturna.
16. Las longitudes de onda de la luz necesarias para el correcto funcionamiento del sentido de compás magnético se encuentran en la zona azul del espectro, puesto que los tritones ensayados bajo luz monocromática de $\lambda \leq 450$ nm mostraron una orientación magnética adecuada e indistinguible de la obtenida bajo condiciones de iluminación natural de espectro total, tanto en la conducta de regreso al hogar como al estudiar la orientación respecto al eje-Y de larvas de *Lissotriton boscai*.
17. La exposición de los tritones a longitudes de onda larga ($\lambda \geq 500$ nm) en el momento de los ensayos provocó respuestas de orientación erróneas, tanto en la orientación de regreso al hogar de *L. boscai* y *T. marmoratus* como en la orientación respecto al eje-Y del tritón ibérico.
18. El efecto provocado por la luz de onda larga fue distinto dependiendo de la conducta estudiada: los tritones ibéricos y jaspeados iluminados con luz de onda larga en el momento de orientarse de regreso a su hogar tomaron direcciones al azar, mientras que las larvas de *L. boscai* entrenadas bajo iluminación natural y ensayadas bajo luz de $\lambda \geq 500$ nm siguieron rumbos de orientación magnética significativa, pero de dirección perpendicular al eje-Y entrenado.
19. El giro de 90° en la dirección de orientación magnética, respecto al eje-Y entrenado, observado bajo longitudes de onda larga se debe a un efecto directo de la luz sobre el mecanismo de magnetorrecepción, puesto que las larvas de *L. boscai* entrenadas y ensayadas bajo longitudes de onda larga tomaran rumbos de



orientación coherentes con el eje-Y magnético de entrenamiento, mientras que aquellas entrenadas bajo luz de onda larga y ensayadas bajo espectro total giraron 90° su orientación magnética.

- 20.** La desorientación producida por las longitudes de onda largas ($\lambda \geq 500$ nm) aplicadas durante el comportamiento de regreso al hogar de *L. boscai* y *T. marmoratus* puede deberse a la interacción entre el sistema de magnetorrecepción encargado del sentido de compás magnético, dependiente de la luz, y el sistema encargado del sentido de mapa de navegación. Mientras que la orientación respecto al eje-Y sólo precisa del uso del compás, en la orientación de regreso al hogar los tritones usan además un sentido de mapa. El giro en la percepción del norte magnético provocado por la luz de $\lambda \geq 500$ nm originaría que el eje magnético indicado por el sentido de compás fuera perpendicular a la polaridad indicada por el detector de mapa, conduciendo estas respuestas contradictorias a la desorientación observada.
- 21.** La influencia de las características de la luz observada sobre la orientación magnética de *L. boscai* y *T. marmoratus* es idéntica a las respuestas encontradas en otras especies de anuros y urodelos sugiere la existencia de un mecanismo de magnetorrecepción ancestral y común en anfibios modernos.
- 22.** Los experimentos realizados no han detectado indicios de mecanismos de orientación de regreso al hogar basados en estímulos no magnéticos, en ninguna de las dos especies de tritones estudiadas. Aunque no se puede descartar la existencia de sensibilidad a factores topográficos, estímulos celestes o señales químicas, estos mecanismos en todo caso actuarían de forma secundaria, bajo condiciones no detectadas en esta investigación y dentro de un hipotético sistema multisensorial, estando subordinado su uso a las señales geomagnéticas, cuya accesibilidad y utilidad explicaría su uso preferente como referencia básica en las conductas de orientación de los tritones.



VII. REFERENCIAS

- ABLE, K.P. (1980) Mechanisms of orientation, navigation and homing. En: Gauthreaux, S.A. (ed) Animal Migration, Orientation and Navigation. Academic Press, New York: 283-373
- ABLE, K. P. (1995) Orientation and navigation: a perspective of fifty years of research. The Condor, 97: 592-604
- ABLE, K.P. (1996) The debate over olfactory navigation by homing pigeons. Journal of Experimental Biology, 199: 121-124
- ABLE K. (2000). The concepts and terminology of bird navigation. Journal of Avian Biology 32:174-183
- ABLE, K. P. & ABLE, M.A (1995) Interactions in the flexible orientation system of a migratory bird. Nature, 375: 230-232
- ABLE, K.P. & ABLE, M.A. (1996) The flexible migratory orientation system of the savannah sparrow (*Passerculus sandwichensis*). Journal of Experimental Biology, 1999: 3-8
- ADLER, K. (1970) The role of extraoptic photoreception in amphibian rhythms and orientation: a review. Journal of Herpetology, 4: 99-112
- ADLER, K. (1976) Extraocular photoreception in amphibians. Photochemistry and Photobiology, 23: 275-298
- ADLER, K. (1980) Individuality in the use of orientation cues by green frogs. Animal Behaviour, 28: 413-425
- ADLER, K. & PHILLIPS, J.B. (1985) Orientation in a desert lizard (*Uma notata*): time compensated compass movement and polarotaxis. Journal of Comparative Biology, 156: 547-552
- ADLER, K. & TAYLOR, D.H. (1973) Extraocular perception of polarized light by orienting salamanders. Journal of Comparative Physiology, 87: 203-212
- ADLER, K. & TAYLOR, D.H. (1980) Melatonin and thyroxine: influence on compass orientation in salamanders. Journal of Comparative Physiology A, 136: 235-241
- ÅKESSON, S. & HEDENSTRÖM, A (2007) How migrants get there: migratory performance and orientation. BioScience, 57(2): 123-133.
- ALBERT, E. M. & GARCÍA-PARÍS, M. (2002). *Triturus marmoratus*. En: Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España (Pleguezuelos, J. M.; Márquez, R. & Lizana, M., eds.) Dirección General de Conservación de la Naturaleza-Asociación Herpetológica Española (2ª impresión). Madrid: 67-69
- ALERSTAM, T.; HEDENSTRÖM, A. & ÅKESSON, S. (2003) Long-distance migration: evolution and determinants. Oikos, 103: 247-260



- AUBURN, J.S. & TAYLOR, D.H. (1979) Polarized light perception and orientation in larval bullfrogs *Rana catesbeiana*. Animal Behaviour, 27: 658-668
- ARAGÓN, P., LÓPEZ, P. & MARTÍN, J. (2000). Conspecific chemical cues influence pond selection by male newts *Triturus boscai*. Copeia, 2000: 874-878
- ARENDSE, M.C. (1978) Magnetic field detection is distinct from light detection in invertebrates *Tenebrio* and *Talitrus*. Nature, 274: 357-362
- AVENS, L. & LOHMANN, K. J. (2003) Use of multiple orientation cues by juvenile loggerhead sea turtles *Caretta caretta*. Journal of Experimental Biology, 206: 4317-4325
- BAINBRIDGE, R. & WATERMAN, T. H. (1957) Polarized light and the orientation of two marine crustacea. Journal of Experimental Biology 34,342-364
- BAKER, R.R. (1978) The evolutionary ecology of animal migration. Holmes & Meier Publishers, Inc, New York
- BALCELLS, E. (1979) Aspectos ecológicos generales y estado del conocimiento de los recursos. En: Estudio integrado y multidisciplinario de la dehesa salmantina. 1, Estudio fisiográfico y descriptivo. CSIC, Centro de Biología y Edafología Aplicada de Salamanca y Centro Pirenaico de Biología Experimental. Salamanca-Jaca, 1979
- BALDOCCHI, D.D. (1989) Turbulent transfer in a deciduous forest. Tree Physiology, 5: 357-377
- BANKS, A.N. & SRYGLEY, R.B. (2003) Orientation by magnetic field in leaf-cutter ants, *Atta colombica* (Hymenoptera: Formicidae). Ethology, 109: 835-846
- BARBADILLO, L.J.; LACOMBA, J.I.; PÉREZ-MELLADO, V.; SANCHO, V. & LÓPEZ-JURADO, L.F. (1999) Anfibios y reptiles de la Península Ibérica, Baleares y Canarias. Editorial GeoPlaneta, Barcelona
- BARLOW, J.S. (1996) Inertial navigation in relation to animal navigation. Journal of the Institute of Navigation, 19(3): 302-316
- BATSCHELET, E. (1981) Circular statistics in biology. Academic Press, London
- BATTSTROM, B.H. (1962) Homing in the giant toad, *Bufo marinus*. Herpetologica 18: 176-180
- BEASON, R.C.; WILTSCHKO, R. & WILTSCHKO, W. (1997) Pigeon homing: effects of magnetic pulses on initial orientation. Auk, 114: 405-415
- BECK, W. & WILTSCHKO, W. (1988) Magnetic factors control the migratory direction of pied flycatchers, *Ficedula hypoleuca*. En: Acta XIX Congress of International Ornithology, Quelet, H. (ed): 1955-1962. Ottawa, Canada. University of Ottawa Press
- BENNETT, A.T.D. (1996) Do animal have cognitive maps? Journal of Experimental Biology, 199: 219-224
- BINGMAN, V.P. & CHENG, K. (2005) Mechanisms of animal global navigation: comparative perspectives and enduring challenges. Ethology, Ecology & Evolution, 17: 295-318



- BISCH-KNADEN, S. & WEHNER, R. (2001) Egocentric information helps desert ants to navigate around familiar obstacles. Journal of Experimental Biology, 204: 4177-4188
- BLAKEMORE, R.P. (1975) Magnetotactic bacteria. Science, 190: 377-379
- BOLES L.C. & LOHMANN K.J. (2003) True navigation and magnetic maps in spiny lobsters. Nature, 421: 60-63
- BRAÑA, F. (1980) Notas sobre el género *Triturus*, Rafinesque 1815 (Amphibia, Caudata) I- Observaciones fenológicas y sobre el desarrollo larvario de *T.marmoratus*, *T.alpestris* y *T. helveticus*. Bolentín de Ciencias Naturales I.D.E.A., 26: 211-220
- BRASSART, J.; KIRSCHVINK, J.L.; PHILLIPS, J.B. & BORLAND, S.C. (1999) Ferromagnetic material in the eastern red-spotted newt *Notophthalmus viridescens*. Journal of Experimental Biology, 202: 3155-3160
- BUDZYNSKI, C. A.; DYER, F. C. & BINGMAN, V. P. (2000) Partial experience with the arc of the sun is sufficient for all-day sun compass orientation in homing pigeons, *Columba livia*. The Journal of Experimental Biology, 203: 2341-2348
- CAETANO, M.H. & LECLAIR, R. (1999) Comparative phenology and demography of *Triturus boscai* from Portugal. Journal of Herpetology, 33(2): 192-202
- CAMERON, D. A. & POUGH, E. N. (1991) Double cones as a basis for a new type of polarization vision in vertebrates. Nature, 252: 161-164.
- CAMLITEPE, Y. & STRADLING, D.J. (1995) Wood ants orient to magnetic fields. Proceedings of the Royal Society of London Series B- Biological Sciences, 261: 37-41
- CAMPBELL, W.H. (2003) Introduction to Geomagnetic Fields, second edition. Cambridge University Press
- CHENG, K. & NEWCOMBE, N.S. (2005) Is there a geometric module for spatial orientation? Squaring theory and evidence. Psychonomic Bulletin & Review, 12 (1): 1-23
- CHIANDETTI, C.; REGOLIN, L.; SOVRANO, V.A. & VALLORTIGARA, G. (2007). Spatial reorientation: the effects of space size on the encoding of landmark and geometry information. Anim Cognition, 10: 159-168
- COLLET, T.S. (2000). Animal navigation: Birds as geometers? Current Biology, 10: R718-R721
- COLLET, T.S. & GRAHAM, P. (2004) Animal Navigation: Path Integration, Visual Landmarks and Cognitive Maps. Current Biology, 14: R475-R477
- COLLET, T.S.; GRAHAM, P. & HARRIS, R.A. (2007) Novel landmark-guided routes in ants. The Journal of Experimental Biology, 210: 2025-2035
- CRONIN, T. W. & SHASHAR, N. (2001) The linearly polarized light field in clear, tropical marine waters: spatial and temporal variation of light intensity, degree of polarization and e-vector angle. The Journal of Experimental Biology, 204: 2461-2467



- DALL'ANTONIA, P. & SINCH, U. (2001) In search of water: orientation behaviour of dehydrated natterjack toads, *Bufo calamita*. Animal Behaviour, 61: 617-629
- DARWIN, C. (1873) Origin of certain instincts. Nature, 7: 417-418
- DE JONG, D. (1982) Orientation of comb building by honeybees. Journal of Comparative Physiology, 147: 495-501
- DELIUS, J.D.; PERCHARD, R.J. & EMMERTON, J. (1979) Polarized light discrimination by pigeons and an electroretinographic correlate. Journal of Comparative Physiology and Psychology, 90: 560-571
- DEMIAN, J.J. & TAYLOR, D.H. (1977) Photoreception and locomotor rhythm entrainment by the pineal body of the newt, *Notophthalmus viridescens* (Amphibia, Urodela, Salamandridae). Journal of Herpetology, 11 : 131-139
- DERBY, C.D. & STEULLET, P. (2001). Why do animals have so many receptors? The role of multiple chemosensors in animal perception. Biological Bulletin, 200: 211-215.
- DEUTSCHLANDER, M.E.; BORLAND, S.C. & PHILLIPS, J.B. (1999a) Extraocular magnetic compass in newts. Nature, 400
- DEUTSCHLANDER, M.E.; PHILLIPS, J.B. & BORLAND, C. (1999b) The case for light-dependent magnetic orientation in animals. Journal of Experimental Biology., 202: 891-908
- DEUTSCHLANDER, M.E.; FREAKE, M.J.; BORLAND, S.C.; PHILLIPS, J.B.; MADDEN, R.C.; ANDERSON, L.E. & WILSON, B.W. (2003) Learned magnetic compass orientation by the Siberian hamster, *Phodopus sungorus*. Animal Behaviour, 65: 779-786
- DEUTSCHLANDER, M.E.; PHILLIPS, J.B. & BORLAND, S.C. (2000) Magnetic compass orientation in the eastern red-spotted newt, *Notophthalmus viridescens*: rapid acquisition of the shoreward axis. Copeia, 2000(2):413-419
- DÍAZ-PANIAGUA, C. (1983) Influencia de las características del medio acuático sobre las poblaciones de larvas de anfibios en la Reserva Biológica de Doñana (Huelva, España). Doñana Acta Vertebrata, 10 (1): 41-53.
- DÍAZ-PANIAGUA, C. (1986) La variación del diseño natural como método de reconocimiento individual en *Triturus boscai*. Doñana Acta Vertebrata, 13: 175-179
- DÍAZ-PANIAGUA, C. (2002). *Triturus boscai*. En: Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España (Pleguezuelos, J. M.; Márquez, R. & Lizana, M., eds.). Dirección General de Conservación de la Naturaleza-Asociación Herpetológica Española (2ª impresión). Madrid: 61-63.



- DÍAZ-PANIAGUA, C. (2004) Tritón ibérico –*Triturus boscai*. En: Carrascal LM, Salvador A (eds) Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org>
- DÍAZ-PANIAGUA, C. & MATEO, J.A. (1999) Geographic variation in body size and life history traits in *Triturus boscai*. Herpetological Journal, 9: 21-27
- DIEGO-RASILLA, F.J. (2003) Homing ability and sensitivity to the geomagnetic field in the alpine newt, *Triturus alpestris*. Ethology Ecology & Evolution, 15:251-259
- DIEGO-RASILLA, F.J. (2004) El sentido magnético y su uso en la orientación de los animales. En: Bárcena, MA, Pereira, MD (eds) Aproximación a las Ciencias Planetarias. Colección Aquilafuente, Ediciones Universidad de Salamanca, Salamanca: 269-297
- DIEGO-RASILLA, F.J. & LUENGO, R.M. (2002) Celestial orientation in the marbled newt (*Triturus marmoratus*). Journal of Ethology, 20:137-141
- DIEGO-RASILLA, F.J. & LUENGO, R.M. (2004a) Mecanismos de orientación durante la migración reproductora del tritón alpino en Cantabria. Locustella, 2: 11-23
- DIEGO-RASILLA, F.J. & LUENGO, R.M. (2004b) Heterospecific call recognition and phonotaxis in the orientation behavior of the marbled newt, *Triturus marmoratus*. Behavioral Ecology and Sociobiology, 55: 556-560
- DIEGO-RASILLA, F.J. & LUENGO, R.M. (2006) Orientación acústica en el tritón palmeado, *Lissotriton helveticus*. Resúmenes del IX Congreso Luso-Español, XIII Congreso Español de Herpetología. San Sebastián: 145-146
- DIEGO-RASILLA, F.J. & LUENGO, R.M. (2007) Acoustic orientation in the palmate newt, *Lissotriton helveticus*. Behavioral Ecology and Sociobiology, 61: 1329-1335
- DIEGO-RASILLA F. J. & LUENGO, R. M. (2008) Orientación mediante compás magnético dependiente de la luz en renacuajos de *Pelophylax perezi*. Libro de resúmenes del X Congreso Luso Español (XIV Congreso Español) de Herpetología.
- DIEGO-RASILLA, F.J.; LUENGO, R.M. & PHILLIPS, J.B. (2005) Magnetic compass mediates nocturnal homing by the alpine newt, *Triturus alpestris*. Behavioral Ecology and Sociobiology, 58: 361-365
- DIEGO-RASILLA, F.J.; LUENGO, R.M. & PHILLIPS, J.B. (2006) Evidencia de orientación nocturna mediante compás magnético en el tritón palmeado, *Lissotriton helveticus*. Resúmenes del IX Congreso Luso-Español, XIII Congreso Español de Herpetología. San Sebastián: 147
- DIEGO-RASILLA, F. J., LUENGO, R. M. & PHILLIPS, J. B. (2008). Use of a magnetic compass for nocturnal homing orientation in the palmate newt, *Lissotriton helveticus*. Ethology, 114(8): 808-815



- DIEGO-RASILLA, F.J. & PHILLIPS, J.B. (2004) Obtención nocturna de la información para el mapa de navegación en el tritón alpino (*Triturus alpestris*). Resúmenes del VIII Congreso Luso-Español, XII Congreso Español de Herpetología. Málaga: 21-22
- DIEGO-RASILLA, F.J. & PHILLIPS, J.B. (2007) Magnetic compass orientation in larval iberian green frogs, *Pelophylax perezi*. Ethology, 113(5): 474-479
- DIEGO-RASILLA, F.J. & RODRÍGUEZ-GARCÍA, L. (2007) Orientación magnética y magnetorrecepción en anfibios. Revista Española de Herpetología, 21: 19-39
- DINGLE, H. (1980) Ecology and evolution of migration. En: Gauthreaux SA (ed) Animal Migration, Orientation and Navigation. Academic Press, New York: 283-373
- DINGLE, H (1996) Migration. The Biology of Life on the Move. Oxford University Press, New York
- DINGLE, H. & DRAKE, A. (2007) What is migration? BioScience, 57(2): 113-121.
- DODT, E. & HEERD, E. (1962) Mode of action of pineal nerve fibers in frogs. Journal of Neurophysiology, 25: 405-429
- DOLE, J.W. (1965) Summer movements of adult leopard frogs, *Rana pipiens*, in northern Michigan. Ecology, 46: 236-255
- DOMMER, D. H.; GAZZOLO, P. J.; PAINTER, M. S. & PHILLIPS, J. B. (2008) Magnetic compass orientation by larval *Drosophila melanogaster*. Journal of Insect Physiology, 54: 719-726.
- DOUGLAS, M.E. (1979). Migration and selection in *Ambystoma jeffersonianum*. Canadian Journal of Zoology, 57: 2303-2310
- EDMONDS, D.T. (1996) A sensitive optically detected magnetic compass for animals. Proc. R. Soc. Lond. B., 263: 295-298
- EMLLEN, S.T. (1972) The ontogenetic development of orientation capabilities. En: Animal Orientation and Navigation, SP-262 (NASA): 191-210
- EMLLEN, S.T. (1975) The stellar orientation system of a migratory bird. Scientific American, 233: 102-111
- ENDLER, J. (1970) Kinesthetic orientation in the California newt (*Taricha torosa*). Behaviour, 37: 15-23
- ENGSTRÖM, S. & FITZSIMMONS, R. (1999) Five hypotheses to examine the nature of magnetic field transduction in biological systems. Bioelectromagnetics, 20: 423-430



- ETTIENE, A.S.; MAURER, R.; BERLIE, J.; DERIVAZ, V.; GEORGAKOPOULOS, J.; GRIFFIN, A. & ROWE, T. (1998) Cooperation between dead reckoning (path integration) and external position cues. The Journal of Navigation, 51: 23-34
- FERGUSON, D.E. (1971) The sensory basis of orientation in amphibians. Annals of the New York Academy of Science, 188:30-36.
- FERGUSON, D.E. & LANDRETH, H.F. (1966) Celestial orientation of the fowler's toad *Bufo fowleri*. Behaviour, 26:105-123
- FERGUSON, D.E.; LANDRETH, H.F. & TURNIPSEED, M.R. (1965) Astronomical orientation of the Southern cricket frog, *Acris gryllus*. Copeia, 1: 58-66
- FERGUSON, D.E., LANDRETH, H.F. & MCKEON, J.P. (1967) Sun compass orientation of the northern cricket frog, *Acris crepitans*. Animal Behaviour, 15:45-53
- FERRERAS, C. & AROZENA, M.A. (1987) Guía Física de España, 2: Los Bosques. Alianza Editorial, Madrid
- FISCHER, J.H.; FREAKE, M.J.; BORLAND, S.C. & PHILLIPS, J.B. (2001) Evidence for the use of magnetic map information by an amphibian. Animal Behaviour, 62:1-10
- FISCHER, J.H.; MUNRO, U. & PHILLIPS, J.B. (2002) Magnetic navigation by an avian migrant? En: P. Berthold, E. Gwinner & E. Sonnenschein (eds), Avian Migration. Springer-Verlag, Heidelberg, New York
- FISET, S.; BEAULIEU, C.; LEBLANC, V. & DUBÉ, L. (2007). Spatial memory of domestic dogs (*Canis familiaris*) for hidden object in a detour task. Journal of Experimental Psychology: Animal Behaviour Processes, 33 (4): 497-508
- FISET, S., & DORÉ, F. Y. (1996). Spatial encoding in domestic cats (*Felis catus*). Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes, 22: 420-437
- FLAMARIQUE, I. N. & BROWMAN, H. I (2000) Wavelength-dependent polarization orientation in *Daphnia*. Journal of Comparative Physiology A, 186: 1073-1087
- FLORISTÁN SAMANES, A. (1991) España, país de contrastes geográficos naturales. Ed. Síntesis, Madrid
- FLEISSNER, G.; FLEISSNER, G.; STAHL, B. & FALKENBERG, G. (2007a) Iron-mineral-based magnetoreception in birds: the stimulus conducting system. Journal of Ornithology, 148 (2): 643-648
- FLEISSNER, G.; HOLTkamp-RÖTZLER, E.; HANZLIK, M.; WINKLHOFER, M.; FLEISSNER, G.; PETERESEN, N. & WILTSCHKO, W. (2003) Ultrastructural Analysis of a Putative Magnetoreceptor in the Beak of Homing Pigeons. The Journal of Comparative Neurology, 458: 350-360
- FLEISSNER, G.; STAHL, B.; THALAU, P.; FALKENBERG, G. & FLEISSNER, G. (2007b) A novel concept of Fe-mineral-based magnetoreception: histological and



- physicochemical data from the upper beak of homing pigeons. Naturwissenschaften, 94 (8): 631-642
- FONTANET, X. (1986) Étude descriptive du comportement de *Triturus boscai* Lataste, 1879 (Amphibia, Salamandridae): postures statiques. Alytes, 4 (4): 139-146
- FONTANET, X. (1991). Estudio sobre la capacidad de orientación de *Triturus marmoratus* (Latreille 1800) y *Triturus alpestris* (Laurenti 1768) (Amphibia, Salamandridae). (1991) Revista Española de Herpetología, 6: 91-100
- FRANSSON, T.; JAKOBSSON, S.; JOHANSSON, P; KULLBERG, C.; LIND, J. & VALLIN, A (2001). Magnetic cues trigger extensive refuelling. Nature, 414: 35.
- FREAKE, M. J. (1999) Evidence for orientation using the e-vector direction of polarised light in the sleepy lizard *Tiliqua rugosa*. The Journal of Experimental Biology, 202: 1159-1166
- FREAKE, M. J. (2001) Homing behaviour in the sleepy lizard (*Tiliqua rugosa*): the role of visual cues and the parietal eye. Behavioral Ecology & Sociobiology, 50: 563-569
- FREAKE, M.J.; BORLAND, S.C. & PHILLIPS, J.B. (2002) Use of magnetic compass for Y-axis orientation in larval bullfrogs, *Rana catesbeiana*. Copeia 2002(2): 466-471
- FREAKE, M.J., MUHEIM, R. & PHILLIPS, J.B. (2006) Magnetic maps in animals: a theory comes of age? The Quarterly Review of Biology, 81(4): 327-347
- FREAKE, M.J. & PHILLIPS, J.B. (2005) Light-dependent shift in bullfrog tadpole magnetic compass orientation: evidence for a common magnetoreception mechanism in anuran and urodele amphibians. Ethology, 111: 241-254
- FREIRE, R.; MUNRO, U.H.; ROGERS, L.J.; WILTSCHKO, R. & WILTSCHKO, K. (2005) Chickens orient using a magnetic compass. Current Biology, 15(16): R620-R621
- FRIER, H.J.; EDWARDS, E.; SMITH, C.; NEALE, S. & COLLET, T.S. (1996) Magnetic compass cues and visual pattern learning in honeybees. Journal of Experimental Biology, 199: 1353-1361
- GALLISTEL, C.R. (1990) The organization of behaviour. New York: Wiley
- GANZHORN, J. U. (1990) Towards the map of the homing pigeon. Animal Behaviour, 40: 65-78
- GARCÍA-PARÍS, M.; MONTORI, A. & HERRERO, P. (2004) Fauna Ibérica, vol. 24. Amphibia. Lissamphibia. Ramos, M.A. *et al.* (eds). Museo Nacional de Ciencias Naturales-CSIC, Madrid
- GARCÍA RODRÍGUEZ, A.; FORTEZA-BONNIN, J.; PRAT-PÉREZ, L.; GALLARDO-LANCHO, J. & LORENZO-MARTÍN, L.F. (1979) Suelos. En: Estudio integrado y multidisciplinario de la dehesa salmantina. 1, Estudio fisiográfico y descriptivo. CSIC, Centro de Biología y Edafología Aplicada de Salamanca y Centro Pirenaico de Biología Experimental. Salamanca-Jaca, 1979



- GAUTIER, P.; LÉNA, J. P. & MIAUD, C. (2004) Responses to conspecific scent marks and the ontogeny of territorial parking in immature terrestrial salamanders. Behavioral Ecology & Sociobiology, 55: 447-453
- GAUTIER, P.; OLGUN, K.; UZUM, N & MIAUD, C. (2006) Gregarious behaviour in a salamander: attraction to conspecific chemical cues in burrow choice. Behavioural Ecology & Sociobiology, 59: 836-841
- GEGEAR, R. J.; CASSELMAN, A.; WADDELL, S. & REPERT, S. M. (2008) Cryptochrome mediates light-dependent magnetosensitivity in *Drosophila*. Nature, 454: 1014-1018
- GOODYEAR, C.P. & ALTIG, R. (1971) Orientation of bullfrogs (*Rana catesbeiana*) during metamorphosis. Copeia, 1971:362-364
- GOULD, J.L (1980) The case for magnetic sensitivity in birds and bees (such as it is). American Scientist, 68: 256-267.
- GOULD, J.L. (1982) The map sense of pigeons. Nature, 296:205-211
- GOULD, J.L. (1985) Are animal maps magnetic? En: Magnetite Biomineralization and Magnetoreception in Organisms: a New Biomagnetism (Kirschvink, J.L.; Jones, D.S & MacFadden, B.J., eds). New York & London Plenum Press: 257-268
- GOULD, J.L. (1998) Sensory bases of navigation. Current Biology, 8: R731-R738
- GOULD, J.L. (2004) Animal navigation. Current Biology, 14: R221-R224
- GRANT, D.; ANDERSON, O & TWITTY, V. (1968) Homing orientation by olfaction in newts (*Taricha rivularis*). Science, 160: 1354-1355
- GRAY, E.R. & SPETCH, M.L. (2006). Pigeons encode absolute distance but relational direction from landmarks and walls. Journal of Experimental Psychology. Animal Behaviour Processes, 32(4): 474-480
- GREINER, B.; CRONIN, T.W.; RIBI, W.A.; WCISLO, W.T. & WARRANT, E. J. (2007) Anatomical and physiological evidence for polarisation vision in the nocturnal bee *Megalopta genalis*. Journal of Comparative Physiology A, 193:591–600
- GRIFFIN, D.R. (1952a) Bird navigation. Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society, 27: 359-400
- GRIFFIN, D.R. (1952b) Airplane observations of homing pigeons. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology, 107, 411-440
- GRIFFIN, D.R. (1955) En: A. Wolson (ed.) Recent Studies in Avian Biology, 154-197. Univ. of Illinois Press, Urbana
- GRILLAS, P.; GAUTHIER, P.; YAVERKOVSKI, N. & PERENNOU, C. (2004) Mediterranean temporary ponds. Volume 1: Issues relating to conservation, functioning and management. Station biologique de la Tour du Valat. Le sambuc, Arles



- GRUBB, J.C. (1973) Olfactory orientation in *Bufo woodhousei fowleri*, *Pseudacris clarki* and *Pseudacris streckeri*. Animal Behaviour, 21:726–732
- GRUBB, J.C. (1975) Olfactory orientation in southern leopard frogs, *Rana utricularia*. Herpetologica, 31: 219-221
- GRUBB, J.C. (1976) Maze orientation of Mexican toads, *Bufo valliceps* (Amphibia, Anura, Bufonidae) using olfactory and configurational cues. Journal of Herpetology, 10: 97-104
- GUILFORD, T.; GAGLIARDO, A.; CHAPPELL, J.; BONADONNA, F.; BURT DE PERERA, T. & HOLLAND, R. (1998) Homing pigeons use olfactory cues for navigation in England. Journal of Experimental Biology, 201: 895-900
- HANZLIK, M.; HEUNEMANN, C.; HOLTKAMP-RÖTZLER, E.; WINKLHOFER, M.; PETERSEN, N. & FLEISSNER, G. (2000) Superparamagnetic Magnetite in the Upper Beak Tissue of Homing Pigeons. BioMetals, 13: 325–331
- HARRIS, R.A.; GRAHAM, P & COLLET, T.S. (2007). Visual cues for the retrieval of landmark memories by navigating wood ants. Current Biology, 17: 93-102
- HAWRYSHY, C. W. & BOLGER, A. E. (1990) Spatial orientation of the trout to partially polarized light. Journal of Comparative Physiology A, 167: 691-697
- HAYWARD, R.; OLDHAM, R.S.; WATT, P.J. & HEAD, S.M. (2000) Dispersion patterns of young great crested newts (*Triturus cristatus*). Herpetological Journal, 10(4): 130-136
- HEGEDÜS, R.; ÅKESSON, S. & HORVÁTH, G. (2007) Polarization patterns of thick clouds: overcast skies have distribution of the angle of polarization similar to that of clear skies. Journal of the Optic Society of America A, 24(8): 2347-2356
- HENSHAW, I.; FRANSSON, T.; JAKOBSSON, S.; LIND, J.; VALLIN, A. & KULLBERG, C. (2008). Food intake and fuel deposition in a migratory bird is affected by multiple as well as single-step changes in the magnetic field. The Journal of Experimental Biology, 211: 649-653
- HERNÁNDEZ-ANDRÉS, J.; ROMERO, J. & NIEVES, J.L. (2001) Color and spectral analysis of daylight in southern Europe. Journal of the Optical Society of America A, 18: 1325—1335
- HERSEY, J.L. & FORESTER, D.C. (1980) Sensory orientation in *Notophthalmus viridescens* (Amphibia: Salamandridae). Canadian Journal of Zoology, 58: 266-276
- HEUSSER H. (1969) Die Lebensweise der Erdkröte (*Bufo bufo* L.): Das Orientierungsproblem. Revue Suisse de Zoologie, 76:444–517.
- HOANG, N.; SCHELICHER, E.; KACPRZAK, S.; BOULY, J. P.; PICOT, M.; WU, W.; BERNDT, A.; WOLF, E; BITTL, R- & AHMAD, M. (2008) Human and *Drosophila* cryptochromes are light activated by flavin photoreduction in living cells. PLOS Biology, 6(7):0001-0011



- HOLLAND, R.A.; THORUP, K.; VONHOF, M.J.; COCHRAN, W.W. & WIKELSKI, M. (2006). Bat orientation using Earth's magnetic field. Nature, 444: 702
- HORTA, N & FONTANET, X. (1988). Algunos aspectos de la capacidad de orientación de *Euproctus asper* (Duges 1852) (Amphibia; Salamandridae) en condiciones de laboratorio. Revista Española de Herpetología, 3(1):83-95.
- HORVÁTH, G. & VARJÚ, D. (2004) Polarized light in animal vision: polarization patterns in Nature. Berlin: Springer
- HUTCHISON, B. A. & HICKS, D. D. (1985) The forest-atmosphere interaction: proceedings of the Forest Environmental Measurements Conference, Oakridge Tennessee. Dordrecht: D. Reidel.
- IOALÈ, P. (1984) Magnets and pigeon orientation. Monitore Zoologico Italiano (NS),18: 347-358
- IOALÈ, P.; SAVINI, M. & GAGLIARDO, A. (2007). Pigeon homing: the navigational map developed in adulthood is based on olfactory information. Ethology, 114: 95-102
- JACKLYN, P.M. & MUNRO, U. (2002) Evidence for the use of magnetic cues in mound construction by the termite *Amitermes meridionalis* (Isoptera, Termitinae). Australian Journal of Zoology, 50: 357-368
- JACOBS, L.F. (2003) The evolution of the cognitive map. Brain, Behavior and Evolution, 62: 128-139
- JAKOB, C.; POIZAT, G.; VEITH, M.; SEITZ, A. & CRIVELLI, A.J. (2003) Breeding phenology and larval distribution of amphibians in a Mediterranean pond network with unpredictable hydrology. Hydrobiologia, 499: 51–61.
- JAMMALAMADAKA, S. RAO & SENGUPTA, A. (2001) Topics in circular statistics. Series on Multivariate Analysis 5, World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., Singapore
- JEHLE, R. (2000) The terrestrial summer habitat of radio-tracked great crested newts (*Triturus cristatus*) and marbled newts (*T. marmoratus*). Herpetological Journal, 10: 137-142
- JEHLE, R. & ARNTZEN, J.W. (2000) Post-breeding migrations of newts (*Triturus cristatus* and *T. marmoratus*) with contrasting ecological requirements. Proceedings of the Zoological Society of London, 251: 297-306
- JIMÉNEZ, E. & ARRIBAS, A. (1979) Esquema geomorfológico de la provincia de Salamanca. En: Estudio integrado y multidisciplinario de la dehesa salmantina. 1, Estudio fisiográfico y descriptivo. CSIC, Centro de Biología y Edafología Aplicada de Salamanca y Centro Pirenaico de Biología Experimental. Salamanca-Jaca, 1979
- JOHNSEN, S. (1994) Extraocular sensitivity to polarized light in an echinoderm. Journal of Experimental Biology, 195, 281–291



- JOHNSEN, S. & LOHMANN, K.J. (2005) The physics and neurobiology of magnetoreception. Nature Reviews. Neuroscience, 6: 703-712
- JOHNSON, S.A. (2003) Orientation and migration distances of a pond-breeding salamander (*Notophthalmus perstriatus*, Salamandridae). Alytes, 21 (1-2): 3-22
- JOLY, P. & MIAUD, C. (1989) Fidelity to the breeding site in the alpine newt *Triturus alpestris*. Behavioural Processes, 19:47-56
- JOLY, P. & MIAUD, C. (1993) How does a newt find its pond? The role of chemical cues in migrating newts (*Triturus alpestris*). Ethology, Ecology & Evolution, 5:447-455
- JUSTIS, C.S. & TAYLOR, D.H. (1976) Extraocular photoreception and compass orientation in larval bullfrogs, *Rana catesbeiana*. Copeia, 1976: 98-105
- KALMIJN, A.J. (1984) Theory of electromagnetic orientation: a further analysis. En: Bolis, L. et al. (eds), International Conference of Comparative Physiology: 525-560. Cambridge University Press
- KAMIL, A.C. & CHENG, C. (2001) Way-finding and landmarks: the multiple-bearings hypothesis. The Journal of Experimental Biology, 204:103-113
- KEETON, W.T. (1974) The orientational and navigational basis of homing in birds. Advances in the Study of Behavior, 5: 47-132
- KEETON, W.T.; LARKIS, T.S. & WINDSOR, D.M. (1974) Normal fluctuation in the earth's magnetic field influence pigeon orientation. Journal of Comparative Physiology, 95: 95-103
- KNADEN, M. & WEHNER, R. (2006) Ant navigation: resetting the path integrator. Journal of Experimental Biology, 209: 26-31
- KIMCHI, T. & TERKEL, K. (2001) Magnetic compass orientation in the blind mole rat *Spalax ehrenbergi*. Journal of Experimental Biology, 204: 751-758
- KIMCHI, T.; ETTIENNE, A.S. & TERKEL, J. (2004) A subterranean mammal uses the magnetic compass for path integration. Proceedings of the National Academy of Sciences, 101 (4): 1105-1109
- KINOSHITA, M.; PFEIFFER, K. & HOMBERG, U. (2007) Spectral properties of identified polarized-light sensitive interneurons in the brain of the desert locust *Schistocerca gregaria*. The Journal of Experimental Biology, 210, 1350-1361
- KIRSCHVINK, J. L. (1989): Magnetite biomineralization and geomagnetic sensitivity in animals: an update and recommendations for future study. Bioelectromagnetics, 10: 239-259
- KIRSCHVINK, J.L. (1992) Uniform magnetic fields and double-wrapped coil systems: Improved techniques for the design of bioelectromagnetic experiments. Bioelectromagnetics, 13: 401-411



- KIRSCHVINK, J.L.; JONES, D.S. & MACFADDEN, B.J. (eds.) (1985) *Magnetite Biomineralization and Magnetoreception in Organisms*. Plenum Press, New York, London
- KIRSCHVINK, J.L.; PADMANABHA, S.; BOYLE, C.K. & OGLESBY, J. (1997) Measurement of the threshold sensitivity of honeybees to weak, extremely low-frequency magnetic fields. *Journal of Experimental Biology*, 200: 1363-1368
- KIRSCHVINK, J.L.; WALKER, M.M. & DIEBEL, C.E. (2001) Magnetite-based magnetoreception. *Current Opinion in Neurobiology*, 11: 462-467
- KRAMER, G. (1953) Wird die Sonnenhöhe bei der Heimfindeorientierung verwertet? *Journal für Ornithologie*, 94: 201-219
- KRAMER, G. (1957) Experiments in bird orientation and their interpretation. *Ibis*, 99: 196-227
- LAHOZ BELTRÁ, R.; ORTEGA, J. & FERNÁNDEZ-MONTRAVETA, C. (1994) *Métodos Estadísticos en Biología del Comportamiento*. Editorial Complutense, Madrid
- LANDRETH, H.F. & FERGUSON, D.E. (1967) Newts: sun compass orientation. *Science*, 158: 1459-1461
- LANDRETH, H.F. & FERGUSON, D.E. (1968) The sun compass of Fowler's toad, *Bufo woodhousei fowleri*. *Behaviour*, 30:27-43
- LARSON, A.; WEISROCK, D.W. & KOZAK, K. H. (2003): Phylogenetic systematics of salamanders (Amphibia: Urodela), a review. En: *Reproductive biology and phylogeny of Urodela*. Sever, D.M. (ed). Science Publications. Enfield: 31-108
- LEASK, M.J.M. (1977) A physicochemical mechanism for magnetic field detection in migratory birds and homing pigeons. *Nature*, 267: 144-145
- LEDNOR, A. J. & WALCOTT, C. (1988) Orientation of homing pigeons at magnetic anomalies. *Behavioral Ecology & Sociobiology*, 22 (1): 3-8
- LIEDVOGEL, M.; MAEDA, K.; HENBEST, K.; SCHLEICHER, E.; SIMON, T.; TIMMEL, C.R.; HORE, P.J. & MOURITSEN, H. (2007). Chemical magnetoreception: Bird cryptochrome 1a is excited by blue light and forms long-lived radical-pairs. *PLoS ONE* 2, e1106
- LIZANA, M.; CIUDAD, M.J. & PÉREZ-MELLADO, V. (1989) Actividad, reproducción y uso del espacio en una comunidad de anfibios. *Treballs Societat Catalana d'Ictiologia i Herpetologia*, 2: 92-127
- LIZANA, M.; PÉREZ-MELLADO, V. & CIUDAD, M.J. (1990) Analysis of the structure of an amphibian community in the Central System of Spain. *Herpetological Journal*, 1: 435-446
- LOHMANN, K.J. (1991). Magnetic orientation by hatchling loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) *Journal of Experimental Biology*, 155: 37-49



- LOHMANN, K.J. (1993) Magnetic compass orientation. Nature, 362: 703
- LOHMANN, K.J. (2007). Sea turtles: navigating with magnetism. Current Biology, 17(3): R102-R104
- LOHMANN, K.J.; CAIN, S.D.; DODGE, S.A. & LOHMANN, C.M.F. (2001) Regional magnetic fields as navigational markers for sea turtles. Science, 294: 364-366
- LOHMANN, K.J.; HESTER, J.T. & LOHMANN, C.M.F. (1999). Long-distance navigation in sea turtles. Ethology, Ecology & Evolution, 11: 1-23
- LOHMANN, K.J. & JOHNSEN, S. (2000) The neurobiology of magnetoreception in vertebrate animals. Trends in Neurosciences, 23: 153-159
- LOHMANN, K.J. & LOHMANN, C.M.F. (1993) A light-independent magnetic compass in the leatherback sea turtle. Biological Bulletin, 185:149-151
- LOHMANN, K.J. & LOHMANN, C.M.F. (1994) Detection of magnetic inclination angle by sea turtles: a possible mechanism for determining latitudes. Journal of Experimental Biology, 194: 23-32
- LOHMANN, K.J. & LOHMANN, C.M.F. (1996) Detection of magnetic field intensity by sea turtles. Nature, 380: 59-61
- LOHMANN, K.J. & LOHMANN, C.M.F. (2006) Sea turtles, lobsters, and oceanic magnetic maps. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 39 (1): 49-64
- LOHMANN, K.J.; LOHMANN, C.M.F.; EHRHART, L.M.; BAGLEY, D.A. & SWING, T. (2004) Animal behaviour: Geomagnetic map used in sea-turtle navigation. Nature, 428: 909-910
- LOHMANN, K. J.; LOHMANN, C. M. F. & PUTMAN, N.F. (2007) Magnetic map in animals: nature's GPS. The Journal of Experimental Biology, 210: 3697-3705
- LOHMANN, K.J.; PENTCHEFF, N.D.; NEVITT, G.A.; STETTEN, G.D.; ZIMMER-FAUST, R.K.; JARRAD, H.E. & BOLES, L.C. (1995) Magnetic Orientation of Spiny Lobsters in the Ocean: Experiments with Undersea Coil Systems. Journal of Experimental Biology, 198: 2041-2048
- LUIS-CALABUIG, E. & MONTSERRAT, P. (1979) Mapa fitoclimático de la provincia de Salamanca. En: Estudio integrado y multidisciplinario de la dehesa salmantina. 1. Estudio fisiográfico y descriptivo. CSIC, Centro de Biología y Edafología Aplicada de Salamanca y Centro Pirenaico de Biología Experimental. Salamanca-Jaca, 1979
- LUSCHI, P.; BENHAMOU, S.; GIRARD, C.; CICCIONE, S.; ROOS, D.; SUDRE, J. & BENVENUTI, S. (2007) Marine turtles use geomagnetic cues during open-sea homing. Current Biology, 17: 126-133.
- MADISON, D.M. (1998) Habitat-contingent reproductive behaviour in radio-implanted salamanders: a model and test. Animal Behaviour, 55: 1203-1210



- MAEDA, K.; HENBEST, K. B.; CINTOLESI, F.; KUPROV, I.; RODGERS, C. T.; LIDDELL, P. A.; GUST, D.; TIMMEL, C. R. & HORE, P. J. (2008) Chemical compass model of avian magnetoreception. Nature, 453: 387-391
- MALMGREN, J.C. (2002) How does a newt find its way from a pond? Migration patterns after breeding and metamorphosis in great crested newts (*Triturus cristatus*) and smooth newts (*T. vulgaris*). Herpetological Journal, 12: 29-35
- MARHOLD, S.; WILTSCSKO, W. & BURDA, H. (1997) A magnetic polarity compass for direction finding in a subterranean mammal. Naturwissenschaften, 84: 421-423
- MARHOLD, S.; BEILES, A.; BURDA, H. & NEVO, E. (2000) Spontaneous directional preference in a subterranean rodent, the blind mole rat, *Spalax ehrenbergi*. Folia Zoology, 49: 7-18
- MARSH D.M. & TRENHAM P.C. (2001) Metapopulation dynamics and amphibian conservation. Conservation Biology, 15: 40-49
- MARTÍNEZ-SOLANO, J. TEIXEIRA, D. BUCKLEY, M. GARCÍA-PARÍS (2006) Mitochondrial DNA phylogeography of *Lissotriton boscai* (Caudata, Salamandridae): evidence for old, multiple refugia in an Iberian endemic. Molecular Ecology, 15 (11): 3375-3388
- MARVIN, G.A. (2001) Age, growth, and long-term site fidelity in the terrestrial plethodontid salamander *Plethodon kentucki*. Copeia, 2001(1):108–117
- MARTOF, B. (1962) Some observations on the role of olfaction among salientian amphibian. Physiological Zoology, 35: 270-272.
- MARTY, P.; ANGÉLIBERT, S; GIANI, N. & JOLY, P. (2005) Directionality of pre- and post-breeding migrations of a marbled newt population (*Triturus marmoratus*): implications for buffer zone management. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems, 15: 215-225
- MATTHEWS, G.V.T. (1953) Sun navigation in homing pigeons. Journal of Experimental Biology, 30: 243-267
- MCGREGOR, J.H. & TESKA, W.R. (1989) Olfaction as an orientation mechanism in migrating *Ambystoma maculatum*. Copeia, 3: 779-781
- MCNAUGHTON, B.L.; BATTAGLIA, F.P.; JENSEN, O.; MOSER, E.I & MOSER, M. (2006) Path integration and the neural basis of the “cognitive map”. Nature reviews-Neuroscience, 7: 663-678
- MEADE, J.; BIRO, D. & GUILFORD, T. (2006). Route recognition in the homing pigeon, *Columba livia*. Animal Behaviour, 72: 975-980
- MEYER, C.G.; HOLLAND, K.N. & PAPASTAMATIOU, Y.P. (2005) Sharks can detect changes in the geomagnetic field. Journal of the Royal Society Interface, 2: 129-130



- MÖLLER, A.; SAGASSER, S.; WILTSCHKO, W. & SCHIERWATER, B. (2004) Retinal cryptochrome in a migratory passerine bird: a possible transducer for the avian magnetic compass. Naturwissenschaften, 91: 585-588
- MONTORI, A. & HERRERO, P. (2004) Caudata. En: Amphibia, Lissamphibia. García-París, M., Montori, A y Herrero, P. Fauna Ibérica, vol 24. Ramos M. A. et al. (eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales. CSIC. Madrid: 43-275
- MONTORI, A.; LLORENTE, G. A.; ALONSO-ZARAZAGA, M. A.; ARRIBAS, O.; AYLLÓN, E.; BOSCH, J.; CARRANZA, S.; CARRETERO, M. A.; GALÁN, P.; GARCÍA-PARÍS, M.; HARRIS, D. J.; LLUCH, J.; MÁRQUEZ, R.; MATEO, J. A.; NAVARRO, P.; ORTIZ, M.; PÉREZ-MELLADO, V.; PLEGUEZUELOS, J. M.; ROCA, V.; SANTOS, X. & TEJEDO, M. (2005): Conclusiones de nomenclatura y taxonomía para las especies de anfibios y reptiles de España. Montori, A. & Llorente, G. A. (coord.). Asociación Herpetológica Española, Barcelona.
- MOORE, F.R. (1987) Sunset and the orientation behaviour of migrating birds. Biological Review, 62: 65-86
- MOORE, F.R. & PHILLIPS, J.B (1988). Sunset, skylight polarization and the migratory orientation of yellow-rumped warblers, *Dendroica coronata*. Animal Behaviour, 36:1770-1778
- MORA, C.V.; DAVISON, M.; WILD, J.M. & WALKER, M.M (2004) Magnetoreception and its trigeminal mediation in the homing pigeon. Nature, 432: 508-511
- MORITZ, R.E.; BURDA, H.; BEGALL, S. & NĚMEC, P. (2007) Magnetic compass: a useful tool underground. En: Subterranean Rodents: News from Underground. (S. Begall, H. Burda, C.E. Schleich, eds). Springer-Verlag Berlín Heidelberg.
- MOURITSEN, H. (2000) Redstarts, *Phoenicurus phoenicurus*, can orient in a true-zero magnetic field. Animal Behaviour, 55, 1311–1324
- MUHEIM, R. (2004) Magnetic Orientation in Migratory Birds. PhD thesis. Department of Animal Ecology, Lund University, Sweden
- MUHEIM, R.; AKESSON, S. & PHILLIPS, J.B. (2007) Magnetic compass of migratory Savannah sparrows is calibrated by skylight polarization at sunrise and sunset. Journal of Ornithology, 148 (2): 1439-0361
- MUHEIM, R.; EDGAR, N.M; SLOAN, K. & PHILLIPS, J.B. (2006a) Magnetic compass orientation in C57BL/6J mice. Learning & Behavior, 34 (4): 366-373
- MUHEIM, R.; MOORE, F.R. & PHILLIPS, J.B. (2006b) Calibration of magnetic and celestial compass cues in migratory birds –a review of cue-conflict experiments. Journal of Experimental Biology, 209: 2-17
- MUHEIM, R.; PHILLIPS, J.B & AKESSON, S. (2006c) Polarized light cues underlie compass calibration in migratory songbirds. Science, 313:837-839



- MUNRO, U.; MUNRO, J.A.; PHILLIPS, J.B. & WILTSCHKO, W. (1997a) Evidence for a magnetite-based navigational 'map' in birds. Naturwissenschaften, 84: 26-28
- MUNRO, U.; MUNRO, J.A.; PHILLIPS, J.B. & WILTSCHKO, W. (1997b) Effects of wavelength of light and pulse magnetisation on different magnetoreception systems in a migratory bird. Australian Journal of Zoology, 45: 189-198
- MUÑOZ JIMÉNEZ, J. & SANZ HERRÁIZ, C. (1995) Guía Física de España, 5: Las Montañas. Alianza Editorial, Madrid
- NÊMEC, P.; BURDA, H. & OELSCHLÄGER, H.H.A (2005) Towards the neural basis of magnetoreception: a neuroanatomical approach. Naturwissenschaften, 92: 151-157
- NOVALES-FLAMARIQUE, L.; HARWRYSKYN, C. W. & HAROSI, F. I. (1998). Double-cone internal reflection as a basis for polarization detection in fish. Journal of the Optical Society of America A, 15: 349-358
- OLIVEIRA, E. G.; SRYGLEY, R. B. & DUDLEY, R. (1998) Do neotropical migrant butterflies navigate using a solar compass? The Journal of Experimental Biology, 201: 3317–3331
- OLIVER-MOSCARDÓ, S. & LUIS-CALABUIG, E. (1979) Factores termoplumiométricos. En: Estudio integrado y multidisciplinario de la dehesa salmantina. 1, Estudio fisiográfico y descriptivo. CSIC, Centro de Biología y Edafología Aplicada de Salamanca y Centro Pirenaico de Biología Experimental. Salamanca-Jaca, 1979
- OMLAND, K.S. (1998) Orientation based on ambient directional information by red-spotted newts. Behaviour, 135:757-775
- PAPI, F. (1960). Orientation by night: the moon. Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology, 25: 475-480
- PAPI, F. (1982) Olfaction and homing in pigeons: ten years of experiments. En: Avian Navigation (Papi, F. & Wallraff, H. G. ed.). Berlin: Springer Verlag: 149-159
- PAPI, F. (ed.) (1992) Animal Homing. Chapman and Hall, New York
- PAPI, F. (2001) Animal navigation at the end of the century: a retrospect and a look forward. Italian Journal of Zoology, 68: 171-180
- PAPI, F. & PARDI, L. (1953a) Ricerche sull'orientamento di *Talitrus saltator* (Montagu) Crustacea Amphipoda) II. Zeitschrift fur vergleichende physiologie, 35:490–518
- PAPI, F. & PARDI, L. (1953b) Ricerche sull'orientamento di *Talitrus saltator* (Montagu) Crustacea Amphipoda) Zeitschrift fur vergleichende physiologie. 35:459–489
- PARDI, L. & GRASSI, M. (1955) Experimental modification of direction finding in *Talitrus saltator* and *Talorchestia dehayesii*. Experientia, 11: 202-210
- PARDI, L.; UGOLINI, A.; FAQUI, A.S.; SCAPINI, F. & ERCOLINI, A. (1988) Zonal recovering in ecuatorial sandhoppers: Interaction between magnetic and solar



- orientation. En: Chelazzi, G.; Vannini, M. (eds), Behavioral adaptation to intertidal life. Proc of the NATO Sci Plenum. New York, London: 79-92
- PARKYN, D.C.; AUSTIN, J.D. & HAWRYSHYN, C.W. (2003) Acquisition of polarized-light orientation in salmonids under laboratory conditions. Animal Behaviour, 65, 893–904
- PAULIN, M.G. (1995) Electrorreception and the compass sense of sharks. Journal of theoretical biology, 174: 325-339
- PHILLIPS, J.B. (1977) Use of the earth's magnetic field by orienting cave salamanders (*Eurycea lucifuga*). Journal of Comparative Physiology A, 121:273-288
- PHILLIPS, J.B. (1986a) Two magnetoreception pathways in a migratory salamander. Science, 233:765-767
- PHILLIPS, J.B. (1986b) Magnetic compass orientation in the eastern red-spotted newt (*Notophthalmus viridescens*). Journal of Comparative Physiology A, 158 :103-109
- PHILLIPS, J.B. (1987) Homing orientation in the eastern red-spotted newt (*Notophthalmus viridescens*). Journal of Experimental Biology, 131: 215-229
- PHILLIPS, J.B. (1996) Magnetic Navigation. Journal of Theoretical Biology 180: 309-319
- PHILLIPS, J.B.; ADLER, K. & BORLAND, S. (1995) True navigation by an amphibian. Animal Behaviour, 50: 855–858
- PHILLIPS, J.B. & BORLAND, S.C. (1992a) Magnetic compass orientation is eliminated under near-infrared light in the eastern red-spotted newt *Notophthalmus viridescens*. Animal Behaviour, 44:796-797
- PHILLIPS, J.B. & BORLAND, S.C. (1992b) Behavioural evidence for use of a light-dependent magnetoreception mechanism by a vertebrate. Nature, 359: 142-144
- PHILLIPS, J.B. & BORLAND, S.C. (1994) Use of a specialized magnetoreception system for homing by the eastern red-spotted newt *Notophthalmus viridescens*. Journal of Experimental Biology 188:275-291
- PHILLIPS, J.B.; BORLAND, S.C.; FREAKE, M.J.; BRASSART, J. & KIRSCHVINK, J.L. (2002a) “Fixed-axis” magnetic orientation by an amphibian: non-shoreward-directed compass orientation, misdirected homing or positioning a magnetite-based map detector in a consistent alignment relative to the magnetic field? Journal of Experimental Biology, 205: 3903-3914
- PHILLIPS, J.B.; DEUTSCHLANDER, M.E.; FREAKE, M.J. & BORLAND, S.C. (2001) The role of extraocular photoreceptor in newt magnetic compass orientation: parallels between light-dependent magnetoreception and polarized light detection in vertebrates. Journal of Experimental Biology, 204: 2543-2552
- PHILLIPS, J.B.; FREAKE, M.J.; FISCHER, J.H. & BORLAND, S.C. (2002b) Behavioral titration of a magnetic map coordinate. Journal of Comparative Physiology A, 188: 157-160



- PHILLIPS, J.B. & MOORE, F.R. (1992) Calibration of the sun compass by sunset polarized light patterns in a migratory bird. Behavioral Ecology & Sociobiology, 31: 189-193
- PHILLIPS, J.B.; MUHEIM, R. & DIEGO-RASILLA, F.J. (2005a) Use of magnetic map information for local (< 5-10 km) movements: Deriving spatial information from magnetic gradients in a temporally and spatially noising environment. Orientation & Navigation-Birds, Humans & Other Animals. Royal Institute of Navigation. 5th Quadrennial Conference. University of Reading, Reading: 15
- PHILLIPS, J.B. & SAYEED, O. (1993) Wavelength-dependent effects of light on magnetic compass orientation in *Drosophila melanogaster*. Journal of Comparative Physiology A, 188: 157-160
- PHILLIPS, J.B., SCHMIDT-KOENING, K. & MUHEIM, R. (2005b) True Navigation: Sensory Bases of Gradient Maps. En: Brown, M.F. & Cook, R.E. (eds.) Animal Spatial Cognition: Behavioral, Comparative, Computational & Neural Approaches
- PHILLIPS, J.B. & WALDVOGEL, J.A. (1988) Celestial polarized patterns as a calibration reference for sun compass of homing pigeons. Journal of Theoretical Biology, 131: 55-67
- PLASA, L. (1979) Heimfideverhalten bei *Salamandra salamandra* (L.). Zeitschrift fur Tierpsychologie, 51: 113-125
- PLEGUEZUELOS, J.M.; MARQUEZ, R. & LIZANA, M. (2002) Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España. Asociación Herpetologica Española- Ministerio de Medio Ambiente (eds)
- POMOZI, I.; HORVATH, G. & RUDIGER, W. (2001) How the clear-sky angle of polarization pattern continues underneath clouds: full-sky measurements and implications for animal orientation Journal of Experimental Biology, 204: 2933-2942
- POUGH, F.H.; ANDREWS, R.M.; CADLE, J.E.; CRUMP, M.L.; SAVITZKY, A.H. & WELLS, K.D. (2004) Herpetology. Pearson Prentice Hall. Upper Saddle River, N. J.
- PRAVOSUDOV, V.V.; KITAYSKY, A.S. & OMANSKA, A (2006) The relationship between migratory behaviour, memory and the hippocampus: an intraspecific comparison. Proceedings of the Royal Society B., 273: 2641-2649
- PRATO, F.S.; KAVALIERS, M.; THOMAS, A.W. & OSSENKOPP, K.P. (1998) Modulatory actions of light on the behavioural responses to magnetic fields by land snails probably occur at the magnetic field detection stage. Proceedings of the Royal Society of London. B., 265: 367-373
- PUPIN, F.; SACCHI, R.; GENTILLI, A.; GALEOTTI, P. & FASOLA, M (2006) Discrimination of toad calls by smooth newts: support for the heterospecific attraction hypothesis. Animal Behaviour, 74: 1683-1690



- QUINE, D.B. (1982) Infrasound: a potential cue for homing pigeons. En: Papi, F. & Wallraff, H.G. (eds), Avian Navigation: 373-376. Springer, Berlin, Heidelberg, New York
- QUINN, T.P. (1980) Evidence for celestial and magnetic compass orientation in lake migrating sockeye salmon fry. Journal of Comparative Physiology, 137: 243-248
- QUINN, T. P. & BRANNON, E.L. (1982) The use of celestial and magnetic cues by orienting sockeye salmon smolts. Journal of Comparative Physiology, 147: 547-552
- RAMENOFSKY, M. & WINGFIELD, J.C. (2007). Regulation of migration. BioScience, 57(2): 135-143
- RESHETNIKOV, A. N. (1996) Hygrotactic and olfactory orientation in juvenile common toads (*Bufo bufo*) during the postmetamorphic period. Advances in Amphibian Research in the Former Soviet Union, 1 : 181-190
- RITZ, T.; ADEM, S. & SCHULTEN, K. (2000) A model for photoreceptor-based magnetoreception in birds. Biophysical Journal, 78: 707-718
- RITZ, T.; DOMMER, D.H. & PHILLIPS, J.B. (2002) Shedding light on vertebrate magnetoreception. Neuron, 34: 503-506
- RITZ, T.; THALAU, P; PHILLIPS, J.B.; WILTSCHKO, R. & WILTSCHKO, W. (2004) Resonance effects indicate a radical-pair mechanism for avian magnetic compass. Nature, 429: 177-180
- RIVAS-MARTÍNEZ, S. (2005) Avances en Geobotánica. Discurso de apertura de la Real Academia Nacional de Farmacia del año 2005
- ROBALO, J.I. & ALMADA, V.C. (2002) Some features of the behaviour of the marbled newt *Triturus marmoratus* (Latreille 1800) in captivity. Acta Ethologica, 4: 81-84
- RODDA, G.H. (1984) The orientation and navigation of juvenile alligators: evidence of magnetic sensitivity. Journal of Comparative Physiology, 154: 649-658
- RODDA, G.H. (1985) Navigation in juvenile alligators. Zietschrift für Tierpsychologie, 68: 65-77
- RODDA, G.H. & PHILLIPS, J.B. (1992) Navigational systems develop along similar lines in amphibians, reptiles and birds. Ethology, Ecology & Evolution., 4: 43-51
- RODGERS, C. T. & HORE, P. J. (2009) Chemical magnetoreception in birds: The radical pair mechanism. PNAS, 106 (2): 353-360
- RODRIGO, T. (2002) Navigational strategies and models. Psicológica, 23: 3-32
- RODRÍGUEZ-GARCÍA, L. & DIEGO-RASILLA, F.J. (2006a) Use of a magnetic compass for Y-axis orientation in premetamorphic newts (*Triturus boscai*). Journal of Ethology, 24: 111-116
- RODRIGÚEZ-GARCÍA, L. & DIEGO-RASILLA, F.J. (2006b) Orientación magnética respecto al eje-Y en larvas de tritón ibérico (*Lissotriton boscai*). Resúmenes del IX Congreso Luso-Español, XIII Congreso Español de Herpetología. San Sebastián: 221-222



- RODRÍGUEZ-GARCÍA, L. & DIEGO-RASILLA, F.J. (2006c) Orientación mediante compás magnético en el tritón jaspeado (*Triturus marmoratus*). Resúmenes del IX Congreso Luso-Español, XIII Congreso Español de Herpetología. San Sebastián: 222-223
- RODRÍGUEZ-GARCÍA, L. & LIZANA, M. (2008) Uso de fuentes, abrevaderos y otras estructuras artificiales como medio reproductor de anfibios en Sierra de Quilamas (Salamanca) En: X Congresso Luso-Espanhol de Herpetología / XIV Congreso Espanhol de Herpetologia. Programa e Resumos: 74
- RUBENS, S.M. (1945) Cube surface coil for producing uniform magnetic field. Review of Scientific Instruments, 16: 243-245
- RUSSELL, A.P., A.M. BAUER AND M.K. JOHNSON (2005) Migration in Amphibians and Reptiles: An Overview of Patterns, and Orientation Mechanisms. En: Migration of Organisms: Climate, Geography, Ecology. (A.M.T. Elewa ed.). Springer-Verlag, Heidelberg, Germany: 151-203
- SANDBERG, R.; BACKMAN, J.; MOORE, F.R. & LOHMUS, M. (2000) Magnetic information calibrates celestial cues during migration. Animal Behaviour, 60: 453-462
- SANTSCHI, F. (1923) L'orientation sidérale des fourmis, et quelques considerations sur leurs différents possibilités d'orientation. Memoires de la Societe Vaudoise des Sciences Naturelles, 1: 137-176
- SCAPINI, F. (2006) Keynote papers on sandhopper orientation and navigation (2006). Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 39(1): 73-85
- SCHLEGEL, P.A. (2007) Spontaneous preferences for magnetic compass direction in the American red-spotted newt, *Notophthalmus viridescens* (Salamandridae, Urodela). Journal of Ethology, 25: 177-184
- SCHLEGEL, P.A.; RENNER, H. (2007). Innate preference for magnetic compass direction in the Alpine newt, *Triturus alpestris* (Salamandridae, Urodela). Journal of Ethology, 25 (2): 185-193
- SCHMIDT-KOENING, K. (1965) Current problems in bird orientation. Advances in the Study of Behaviour, 1: 217-276
- SCHULTEN, K. (1982) Magnetic field effects in Chemistry and Biology. En: Treusch, J. (ed), Festkörperprobleme (Advanced in Solid State Physics), volume XXII. Visweg, Braunschweig: 61-83
- SCHULTEN, K. (1986) Magnetic field effects on radical pair processes in Chemistry and Biology. En: Biological Effects on Static and Extremely Low Frequency Magnetic Fields, BGA Schriften 3/86. MMV Medizin Verlag, München: 133-140



- SCHULTEN, K. & WINDEMUTH, A. (1986) Model for a physiological magnetic compass. En: Maret, G.; Boccara, N. & Kiepenheuer, J. (eds), Biophysical Effects of Steady Magnetic Fields. Springer Proceedings in Physics, 11. Berlin: 99-106
- SERWAY, R. A. (1997) Física. McGrawHill Interamericana.
- SHASHAR, N; SABBAH, S. & CRONIN, T.W. (2004) Transmission of linearly polarized light in seawater: implications for polarization signalling. The Journal of Experimental Biology, 207: 3619-3628
- SIEGRIST, C.; ETIENNE, A.S.; BOULENS, V.; MAURER, R. & ROWE, T. (2003) Homing by path integration in a new environment. Animal Behaviour, 65: 185-194
- SINSCH, U. (1987) Orientation behaviour of the toad *Bufo bufo* displaced from the breeding site. Journal of Comparative Physiology A, 161:715–727
- SINSCH, U. (1990a) Migration and orientation in anuran amphibians. Ethology, Ecology & Evolution, 2 :65-79
- SINSCH, U. (1990b) The orientation behaviour of three toad species (genus *Bufo*) displaced from the breeding site. En: Hanke, W. (ed) Biology and Physiology of Amphibians. G. Fischer Verlag, Fortschritte der Zoologie 38: 73-83
- SINSCH, U. (1991) The orientation behaviour of amphibians. Herpetological Journal, 1:541-544
- SINSCH, U. (1992) Amphibians. En: Papi, F. (ed.) Animal Homing: 213-233. Champman and Hall, New York
- SINSCH, U. (2006) Orientation and navigation in Amphibia. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 39(1): 65-71
- SINSCH, U.; SCHÄFER, R. & SINSCH, A. (2006) The homing behaviour of displaced smooth newts *Triturus vulgaris*. En: Herpetologia Bonnensis II -Proceedings of the 13th Congress of the Societas Europaea Herpetologica. Vences, M.; Köhler, J.; Ziegler, T. & Böhme, W. (eds) : 163-1666
- SKILES, D.D. (1985) The geomagnetic field: its nature, history and biological relevance. En: Kirschvink, J.L.; Jones, D.S. & MacFadden, B.J. (eds), Magnetite Biomineralization and Magnetoreception by Living Organisms: A New Biomagnetism. Plenum Publishing Corporation, New York: 43-102
- SOLESSIO, E. & ENGBRETSON, G.A. (1993) Antagonistic chromatic mechanisms in photoreceptors of the parietal eye of lizards. Nature, 364: 442-445
- SOMMER, S.; VON BEEREN, C. & WEHNER, R. (2008). Multiroute memories in desert ants. PNAS, 105 (1): 317-322
- SUMUSA, I.; KIKUSHI, M. & NISHIO, H. (1995) Orientation of the toad, *Bufo japonicus* toward the breeding pond. Zoological Science, 12: 475-484



- SUTHERLAND, W.J. (1998) The importance of behavioural studies in conservation biology. Animal Behaviour, 56: 801-809
- TAYLOR, D.H. (1972) Extra-optic photoreception and compass orientation in larval and adult salamanders (*Ambystoma tigrinum*). Animal Behaviour, 20:233-236
- TAYLOR, D.H. & ADLER, K. (1973) Spatial orientation by salamanders using plane-polarized light. Science, 181:285-287
- TAYLOR, D.H. & ADLER, K. (1978) The pineal body: site of extraocular perception of celestial cues for orientation in the tiger salamander (*Ambystoma tigrinum*). Journal of Comparative Physiology A, 124: 357-361
- TAYLOR, D.H. & AUBURN, J.S. (1978) Orientation of amphibians to linearly polarized light. En: Koenig, K.S. & Keenton, W.T. (eds) Animal migration, navigation, and homing. Springer, Berlin Heidelberg New York: 334–346
- TAYLOR, D.H. & FERGUSON, D.E. (1970) Extraoptic celestial orientation in the southern cricket frog *Acris gryllus*. Science, 168:390-392
- TESCH, F.W.; WENDT, T. & KARLSSON, L. (1992) Influence of geomagnetism and salinity on orientation of the eel *Anguilla anguilla* L., as evident from laboratory experiments. Ecology of Freshwater Fish., 1(1): 52-60
- THALAU, P.; HOLTKAMP-RÖTZLER, E.; FLEISSNER, G. & WILTSCHKO, W. (2007). Homing pigeons (*Columba livia f. domestica*) can use magnetic cues for locating food. Naturwissenschaften, 94:813–819
- THALAU, P.; RITZ, T.; STAPPUT, K.; WILTSCHKO, R. & WILTSCHKO, W. (2005) Magnetic compass orientation of migratory birds in the presence of a 1.315 MHz oscillating field. Naturwissenschaften, 92:86-90
- THOMSON, A.L. (1926) Problems of bird-migration.. H.F. & G. Witherby (ed)
- TIMMEL, C.R. & HENBEST, K.B. (2004): A study of spin chemistry in weak magnetic fields. Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences, 362: 2573-2589
- TIMOFEEVA, V. A. (1970). The degree of polarization of light in turbid media. Izvestiya Atmos. Ocean. Physics 5: 513-522
- TOMSON, O.H. (1972) Y-axis orientation in larvae and juveniles of three species of *Ambystoma*. Herpetologica, 28:6-9
- TRACY, C.R. & DOLE J.W. (1969) Evidence of celestial orientation by California toads (*Bufo boreas*) during breeding migration. Bulletin of the Southern California Academy of Sciences, 68(1):10–18
- TWITTY, V.C. (1966) Of Scientists and Salamanders. Freeman, San Francisco, C. A.



- TWITTY, V.C.; GRANT, D.; ANDERSON, O. (1967) Initial homeward orientation after long-distance displacements in the newt *Taricha rivularis*. Proceedings of the National Academy of Science, USA 57: 342
- UGOLINI, A.; CASTELLINI, C. & MERCATELLI, L. (2007) Moon orientation on moonless nights. Animal Behaviour, 73: 453-456
- UGOLINI, A.; MELIS, C. & INNOCENTI, R. (1999a) Moon orientation in adult and young sandhoppers. Journal of Comparative Physiology A, 184: 9-12
- UGOLINI, A.; MELIS, C.; INNOCENTI, R.; TIRIBILLI, B. & CASTELLINI, C. (1999b) Moon and sun compasses in sandhoppers rely on two separate chronometric mechanisms. Proceedings of the Royal Society of London B, 266: 749-752
- UGOLINI, A.; FANTINI, T. & INNOCENTI, R. (2003) Orientation at night: an innate moon compass in sandhoppers (Amphipoda: Talitridae). Proceedings of the Royal Society of London B, 270: 279-281
- UGOLINI, A.; MELIS, C.; TIRIBILLI, B. & CASTELLINI, C. (2002). The sun, the moon, and the sandhopper. En: Crustacean Experimental Systems in Neurobiology (K. Wiese, ed.). Springer Verlag. Berlin: 247-260
- VÁCHA, M.; PUZOVÁ, T & DRSTKOVÁ, D. (2008) Effect of Light wavelength spectrum on magnetic compass orientation in *Tenebrio molitor*. Journal of Comparative Physiology A, 194: 853-859
- VÁCHA, M. & SOUKOPOVÁ, H. (2004) Magnetic orientation in the mealworm beetle *Tenebrio* and the effect of light. Journal of Experimental Biology, 207: 1241-1248
- VIGUIER, C. (1882) Le sens de l'orientation et ses organes chez les animaux et chez l'homme. Revue Philosophique de la France et de l'Etranger, 14: 1-36
- VISALBERGHI, E. & ALLEVA, E. (1979) Magnetic influences on pigeon homing. Biologica Bulletino, 125: 246-256
- VON MIDDENDORFF, A. (1859) Die Isepiptesen Rußlands. Extract des Memoires de l'Academie imperiale des sciences de St. Pétersbourg VI Ser., Tome 8: 1-143
- WALCOTT, C. (1991) Magnetic maps in pigeons. En: Berthold, P. (ed.), Orientation in Birds: 128-165. Basel, Birkhauser
- WALCOTT, C. & GREEN, R.P. (1974) Orientation of homing pigeons altered by a change in the direction of an applied magnet field. Science, 184: 180-182
- WALDVOGEL, J. A. & PHILLIPS, J. B. (1982) Pigeon homing: new experiments involving permanent-resident deflector-loft birds. En: Avian Navigation (Papi/Wallraff eds). Springer Verlag. Berlin. Heildelberg
- WALKER, M.M. (1984) Learned magnetic field discrimination in yellowfin tuna, *Thunnus albacares*. Journal of Comparative Physiology A, 155: 573-679



- WALKER, M.M. (1998) On a wing and a vector: a model for magnetic navigation by homing pigeons. Journal of Theoretical Biology, 192: 341-349
- WALKER, M.M.; DENNIS, T.E. & KIRSCHVINK, J.L. (2002) The magnetic sense and its use in long-distance navigation by animals. Current Opinion in Neurobiology, 12: 735-744
- WALKER, M.M.; DIEBEL, C.E.; HAUGH, C.V.; PANKHURST, P.M.; MONTGOMERY, J.C. & GREEN, C.R. (1997) Structure and function of the vertebrate magnetic sense. Nature, 390: 371-376
- WALKER, M.M.; DIEBEL, C.E. & KIRSCHVINK, J.L. (2003) Detection and use of the Earth's magnetic field by aquatic vertebrates. En: Collin, S.P & Marshall, N.J. (eds), Sensory Processing in Aquatic Environments. Springer-Verlag, New York: 53-74
- WALKER, M.M.; KIRSCHVINK, J.L.; AHMED, G. & DICKSON, A.E. (1992) Evidence that fin whales respond to the geomagnetic field during migration. Journal of experimental biology, 171: 67-78
- WALLRAF, H.G. (1981) Clock-controlled orientation in space. En: J. Handbook of behavioral neurobiology, 4. Biological rhythms. (Aschoff, ed.). Plenum Press, New York, London: 299-309.
- WALLRAFF, H.G. (2004) Avian olfactory navigation: Its empirical foundation and conceptual basis. Animal Behaviour, 67: 189-204
- WANG, J.H.; CAIN, S.D. & LOHMANN, K.J. (2003) Identification of magnetically responsive neurons in the marine mollusc *Tritonia diomedea*. Journal of Experimental Biology, 206: 381-388
- WANG, Y.; PAN, Y.; PARSONS, S; WALKER, M. & ZHANG, S. (2007). Bats respond to polarity of a magnetic field. Proceedings of the Royal Society B. 274: 2901-2905
- WATERMAN, T. (1981) Polarization sensitivity. En: Invertebrate Visual Centers and Behaviour. I: Handbook of Sensory Physiology, vol. VII/6B (H. Autrum, ed.) Springer. Berlin, Heidelberg, New York: 281-469
- WATERMAN, T. H. & FORWARD, R. B. (1970) Field evidence for polarized light sensitivity in the fish *Zenarchopterus*. Nature, 288: 85-87
- WEAVER, J.C.; VAUGHAN, T.E. & ASTUMIAN, R.D. (2000) Biological sensing of small field differences by magnetically sensitive chemical reactions. Nature, 405: 707-709
- WEGNER, R.E.; BEGALL, S. & BURDA, H. (2006) Magnetic compass in the cornea: local anaesthesia impairs orientation in a mammal. The Journal of Experimental Biology, 209: 4747-4750
- WEHNER, R. (1992) Arthropods. En: Animal Homing (F. Papi ed) London, Chapman & Hall: 45-144



- WEHNER, R. (1998) Navigation in context: Grand theories and basic mechanisms. Journal of Avian Biology, 29: 370-386
- WEHNER, R. (2001) Polarization vision – a uniform sensory capacity? Journal of Experimental Biology, 204: 2589-2596
- WEHNER, R. & LABHART, T. (2006) Polarisation Vision. En: Invertebrate vision (Warran, EJ & Nilsson, DE eds.) Cambridge University Press, Cambridge: 291–348
- WEHNER, R. & WEHNER, S. (1986) Path integration in desert ants. Approaching a long-standing puzzle in insect navigation. Monitore Zoologico Italiano (NS), 20: 309-331
- WEINDLER, P.; BAUMETZ, M. & WILTSCHKO, W. (1997) The direction of celestial rotation influences the development of stellar orientation in young garden warblers (*Sylvia borin*). Journal of Experimental Biology, 200: 2107-2113
- WEINDLER, P.; BÖHME, F.,; LIEPA, V. & WILTSCHKO, W. (1998). The role of daytime cues in the development of magnetic orientation in a night-migrating bird. Behavioural Ecology and Sociobiology, 42, 289-294
- WEINDLER, P.; WILTSCHKO, R. & WILTSCHKO, W. (1996), Magnetic information affects the stellar orientation of young bird migrants. Nature, 383: 158-160
- WILLOWS, A.O.D. (1999) Shoreward orientation involving geomagnetic cues in the nudibranch mollusc *Tritonia diomedea*. Marine and Freshwater Behaviour and Physiology, 32: 181-192
- WILTSCHKO, R.; RITZ, T.; STAPPUT, K.; THALAU, P. & WILTSCHKO, W. (2005) Two different types of light-dependent responses to magnetic fields in birds. Current Biology, 15: 1518-1523
- WILTSCHKO, R. & WILTSCHKO, W. (1981) The development of sun compass orientation in young homing pigeons. Behavioral Ecology and Sociobiology, 9: 135-141
- WILTSCHKO, R. & WILTSCHKO, W. (1995) Magnetic orientation in animals. Springer-Verlag, New York
- WILTSCHKO, R. & WILTSCHKO, W. (2003a) Avian navigation: from historical to modern concepts. Animal Behaviour, 65: 657-272
- WILTSCHKO, R. & WILTSCHKO, W (2003b). Orientation behavior of homing pigeons at the Gernsheim anomaly. Behavioral Ecology & Sociobiology, 54:562-572
- WILTSCHKO, R. & WILTSCHKO, W. (2006) Magnetoreception. BioEssays, 28: 157-168
- WILTSCHKO, W. (1968) Über den Einfluss statischer Magnetfelder die Zugorientierung der Rotkehlchen, *Erithacus rubecula*. Zeitschrift für Tierpsychologie, 25: 537-558



- WILTSCHKO, W. (1993) Magnetic compass orientation in birds and other animals. Orientation and Navigation, Birds, Humans and other Animals. Royal Institute of Navigation Conference, April 1993. Oxford
- WILTSCHKO, W. (2005) Magnetoreception in birds: two different receptors for different tasks. Orientation & Navigation-Birds, Humans & Other Animals. Royal Institute of Navigation. 5th Quadrennial Conference. University of Reading, Reading
- WILTSCHKO, W.; FORD, H.; MUNRO, U.; WINKLHOFER, M. & WILTSCHKO, R. (2007) Magnetite-based magnetoreception: the effect of repeated pulsing on the orientation of migratory birds. Journal of Comparative Physiology A, 193:515-522
- WILTSCHKO, W.; MUNRO, U.; WILTSCHKO, R. & KIRSCHVINK, J.L. (2002) Magnetite-based magnetoreception in birds: the effect of a biasing field and a pulse on migratory behaviour. Journal of Experimental Biology, 205: 3031-3037
- WILTSCHKO, W. & WILTSCHKO, R. (1972) Magnetic compass of European Robins. Science, 176: 62-64
- WILTSCHKO, W. & WILTSCHKO, R. (1992) Migratory orientation: magnetic compass orientation of garden warblers (*Sylvia borin*) after a simulated crossing of the magnetic equator. Ethology, 91: 70-79
- WILTSCHKO, W. & WILTSCHKO, R. (1993) Navigation in birds and other animals. Journal of Navigation, 46: 174-191
- WILTSCHKO, W. & WILTSCHKO, R. (1996) Magnetic orientation in birds. Journal of Experimental Biology, 199: 29-38
- WILTSCHKO, W. & WILTSCHKO, R. (2005). Magnetic orientation and magnetoreception in birds and other animals. Journal of Comparative Physiology A, 191: 675-693
- YEAGLEY, H.L. (1947) A preliminary study of a physical basis of bird navigation. Journal of Applied Physics, 18:1035-1063



AGRADECIMIENTOS

Desde que comencé este trabajo han pasado más de cinco años. En ese tiempo han cabido muchas cosas. Ha habido momentos duros, otros maravillosos, muchos emocionantes... Ha habido también algunos baches y momentos de desesperación, algunos errores, algunos éxitos, bastantes anécdotas... Y, sobre todo, ha habido muchas personas que han compartido conmigo estos años, a las que agradecer su apoyo y ayuda. Mis padres, Maribel y Lorenzo, han sido un pilar fundamental, no sólo por sus continuos ánimos sino también por su colaboración directa en multitud de ocasiones. Igualmente, agradezco enormemente la ayuda de Inés Pérez, Alicia García y Pablo Juárez, los cuales fueron determinantes en diversos momentos del trabajo experimental, así como la colaboración de todos aquellos amigos que aportaron su grano de arena a esta tesis. Gracias a César, Christian, Alberto, Valbu, Hugo y Ernes, que cometieron la locura de acompañarme al campo, algunos en más de una ocasión., y a Almu, por sus comentarios y sugerencias de diseño.

Javi y Valentín, los directores de este trabajo, merecen una mención destacada por haber confiado en mí y por haber tenido tanta paciencia. Carlos Herrero y Marcos Diego Gutiérrez suministraron desinteresadamente una parte del material instrumental utilizado y los guardas del espacio natural “Sierra Quilamas” (Jacinto, Carmelo y Pedro) colaboraron activamente en la localización de las poblaciones estudiadas. También quiero mandar un agradecimiento especial a Juan Ramón, Puy y Fernando, por su inestimable y desinteresada ayuda aportando sus conocimientos geológicos y por ese día de campo tomando medidas. Por último, agradezco a la Consejería de Medio Ambiente de Castilla y León la concesión de los permisos necesarios para la investigación, así como a la Junta de Castilla y León y al Ministerio de Educación por haberme dotado con las becas que hicieron posible este trabajo (becas de investigación de la Junta de Castilla y León y becas de Formación de Profesorado Universitario del Ministerio de Educación).

Estos han sido años interesantes y enriquecedores, no sólo en mi aprendizaje como biólogo, sino también en mi aprendizaje como persona. He descubierto que, como decía el gato de Cheshire, se puede llegar a cualquier parte siempre que se camine lo suficiente. Pero muchas veces se precisa la ayuda de personas como vosotros para hacer más llevadero el camino. Gracias.



