

ESTUDIOS DE MEMORIA Y APRENDIZAJE EN EL PEZ CEBRA (DANIO RERIO)

Clave de registro: CIN2014A10143

Área: Ciencias Biológicas, Químicas y de la Salud

Disciplina: Biología

Estudios de memoria y aprendizaje en el pez cebra (Danio rerio)

Tipo de investigación: Experimental

Escuela: Escuela Tomás Alva Edison

Autora: Andrea Delgado Laguna

Asesores:

Dr. Ernesto Maldonado
Instituto de Fisiología Celular, UNAM

Mtro. Víctor Javier García Valdovino
Coordinador de Biología en la escuela Tomás Alva Edison

RESUMEN

Para la psicología experimental, el aprendizaje es la modificación del comportamiento como resultado de una experiencia y definen a la memoria como el mantenimiento de dicha modificación en el tiempo (RAE, 2001), esto nos indica que debe haber un aprendizaje para que un organismo pueda adquirir una memoria. En la actualidad, los especialistas prefieren pensar en la memoria como una serie de pasos a través de los cuales los organismos procesan información. (Massaro y Cowan, 1998). El pez cebra (*Danio rerio*) se ha convertido en el modelo más utilizado para el desarrollo de la biología (Fleish y Neuhauss). Éste organismo cuenta con un rápido desarrollo lo que permite realizar experimentos en todas sus etapas de desarrollo. Con estos antecedentes, el objetivo general de este proyecto gira en torno a la observación de los mecanismos desarrollados por el pez cebra para crear un aprendizaje con base en la repetición y con ello lograr el concepto de memoria en los peces. En el plano científico se estudiaron dos etapas del desarrollo; las larvas del pez con siete días de desarrollo, y el estado adulto de año y medio. Se realizó un ensayo optomotor (OMR) en las larvas de siete dpf y realizando un ensayo de memoria de navegación espacial. Durante el desarrollo experimental encontramos que los peces cebra tienen la capacidad de desarrollar una memoria desde los siete días de desarrollo. Por otro lado, sorprendentemente se encontró que las hembras adultas de año y medio tienen una mayor capacidad de aprendizaje en comparación con los machos.

Palabras clave: Pez cebra, aprendizaje, memoria.

ABSTRACT

For experimental psychology knowledge is the modification of behavior as a result of an experience. It defines memory as the conservation of said modification in time. (RAE, 2001), This shows us that an organism must have knowledge to acquire memory. In actuality, specialists prefer to think of memory as a series of steps through which organisms process information (Massaro y Cowan, 1998). The Zebrafish has been deemed the most useful model for the development of biology (Fleish y Neuhauss). This organism shows quick growth that allows experiments in every stage of development. With this background the general objective of this project shows through observation of development mechanisms in the Zebrafish creating knowledge with a base in repetition, proves the concept of memory in the Zebrafish. On the scientific plane, two stages of development have been studied; one on the fish larvae with seven days of development (dpf) and the other one in the adulthood at one and a half years. It was completed an optomotor response experiment (OMR) in larvae of seven dpf and an experiment in the special navigation of the memory. During the experiment we found that the Zebrafish is capable of memory form seven days old. On the other hand, we were surprised to find that the female adults of one and a half years are more capable of knowledge compared to the males.

Key words: Zebrafish, memory, knowledge

INTRODUCCIÓN

El aprendizaje y la memoria han sido estudiados profundamente en diversos organismos modelos incluyendo a los humanos y se han encontrado diversos genes y mecanismos fundamentales para entender la memoria y el aprendizaje (Gerlai, 2010). Sin embargo, considerando el número de genes que se expresan en el cerebro de la mayoría de los vertebrados aún permanece un extenso número de genes y mecanismos que pueden estar relacionados con la plasticidad neuronal y por lo tanto con la memoria y el aprendizaje.

A pesar de que existen varios organismos modelo en el que se han realizado diversos estudios relacionados con la memoria y el aprendizaje, el pez cebra parece ser una buena combinación entre la complejidad de un sistema nervioso de un vertebrado y una simplicidad práctica para trabajar con él (Gerlai, 2010).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El pez cebra (*Danio rerio*) es uno de los organismos modelo del conocimiento "Genético Molecular" del desarrollo del sistema nervioso; por esta razón es un organismo muy empleado para experimentos de laboratorio. En el proyecto se realizaron dos pruebas de comportamiento con estos organismos. Intentando responder los siguientes cuestionamientos ¿Cómo un organismo como éste aprende a realizar tareas motoras?, ¿cómo utiliza para ello la capacidad de adquirir nueva información? y ¿Existe diferencia entre machos y hembras al momento del aprendizaje? Nuestro diseño experimental consiste en experimentos de repetición sucesiva de tareas motoras tanto en larvas como en peces cebra adultos.

HIPÓTESIS

- 1) Si sometemos a las larva de 7 días del pez cebra a la experimentación planteada, entonces podemos comprobar si son o no capaces de aprender nuevas tareas motoras.
- 2) Si realizamos experimentación en adultos de año y medio del pez cebra, entonces podremos encontrar diferencias de desempeño conductual de la memoria de navegación espacial entre los sexos.

JUSTIFICACIÓN

El aprendizaje y la memoria son esenciales para llevar a cabo múltiples tareas en la vida diaria y sólo es obvia su importancia cuando se presentan enfermedades en donde estos dos procesos cognitivos están afectados; como es el Autismo o la enfermedad de Alzheimer. El pez cebra (*Danio rerio*) es un organismo ideal para ensayos conductuales de laboratorio, por su desarrollo embrionario externo, porque se reproduce en gran cantidad y por la gran cantidad de información disponible sobre el desarrollo de su sistema nervioso.

SÍNTESIS DE SUSTENTO TEÓRICO

El pez cebra es un organismo modelo ideal para el estudio de la genética y el desarrollo en organismos vertebrados (Tabot and Hopkins, 2000), ya que su embriogénesis ocurre externamente. El desarrollo de este organismo es rápido, para los cinco días de desarrollo se han formado órganos sensoriales, por lo que el pez es capaz de responder a estímulos visuales, olfativos y mecánicos (Kimmel et al., 1995)

OBJETIVO GENERAL

Realizar estudios de comportamiento en el pez cebra (*Danio rerio*) que nos permitan observar cómo se crean nuevas memorias durante tareas motoras en dos diferentes etapas del desarrollo.

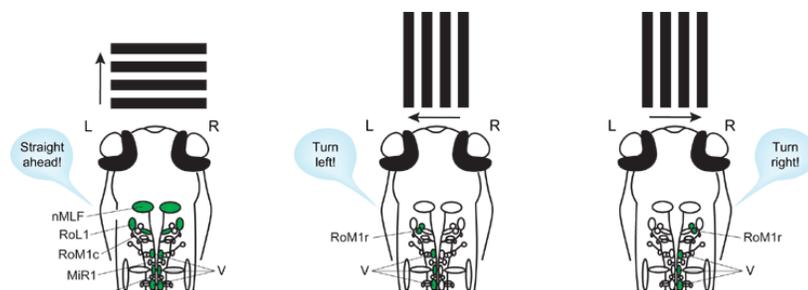
OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Establecer el protocolo de OMR (Respuesta Optomotora) en repeticiones sucesivas en larvas de pez cebrá de siete días de desarrollo.
- 2) Determinar por medio de un laberinto y recompensa de comida el aprendizaje espacial en peces cebrá adultos de ambos sexos.

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Las larvas de pez cebras son organismos utilizados para la experimentación, como anteriormente se indicó, estos organismos son usados para la proyección de fármacos, genética y descubrimiento de mecanismos neuronales que involucran el comportamiento. (Sackerman *et al.*, 2010) Estos organismos son usualmente empleados para estudios de comportamiento y conducta, ya que muestran una mejor respuesta a los estímulos sensoriales; también son capaces de tener una respuesta conductual a los cambios de ambiente. (Kalueff y Cachat, 2011.)

Los peces cebrá muestran una buena respuesta al ensayo optomotor (OMR), el cual es un mecanismo que muestra la respuesta a un estímulo visual y el proceso de desarrollo de la vista. El ensayo optomotor consiste en el uso de un patrón de líneas con una dirección específica que pasan por debajo del pez, como respuesta a esto el pez nadará en la misma dirección al movimiento percibido, como se muestra en la imagen. Aunque algunas larvas presentan respuesta a este ensayo desde los cinco días de desarrollo (dpf), el OMR es preferible hacerlo a los siete dpf para obtener un mejor resultado, esto se debe a que hay un mayor desarrollo de las neuronas de proyección vertebral que forman un enlace con el proceso sensorial en el cerebro el cual manda un impulso motriz a la médula espinal, obteniendo un resultado sensoriomotor. (Portugues and Engert, 2009)



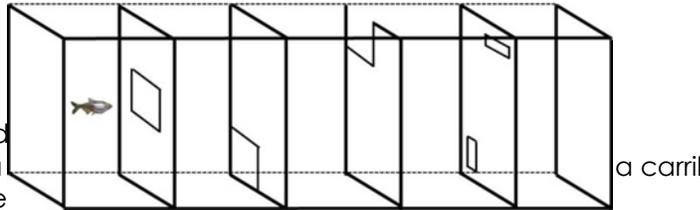
Algunos estudios sobre neurotransmisores en el pez cebrá y su relación con su diseño de memoria señalan que la recepción es uno de los mecanismos sensoriales particularmente desarrollados en peces y anfibios acuáticos, dado

que la densidad del agua la transforma en un excelente conductor de las vibraciones. Es por ello, que se han especializado en detectar esas señales de diversa forma. El oído interno, el desarrollo de la visión y la línea lateral son los dos mecanismos sensoriales mayores. En su parte basal estas células se relacionan con la neurona sensorial aferente, conectada a su vez con el sistema nervioso central. Según la dirección en que se flexionen los cilios, se modifica la velocidad de liberación del transmisor y, por tanto, la frecuencia de descarga de la fibra aferente, se ha encontrado una estrecha relación con el órgano de la vista. La flexión de los cilios en dirección de los más largos conduce a la despolarización de la célula pilosa, lo que conlleva la generación de un potencial de receptor, el aumento de la tasa de liberación de neurotransmisor en la sinapsis y, por tanto, de la frecuencia de potenciales de acción en la fibra aferente neurona que lleva al estímulo del sistema nervioso central (Kimmel Charles y Ballard William, 1995).

METODOLOGÍA

Material:

- Monitor PC
- Microsoft Office Power Point
- Cámara fotográfica digital SONY
- Caja transparente de acrílico de 16.2 x10 cm que cuenta con 7 carriles, cada uno de 1.1 cm de grosor.
- Laberinto para peces adultos (63 cm largo, 21 cm de ancho y 25 cm de alto)



- Trípode
- Agua
- Probe
- Pipeta Pasteur
- Incubadora a 28.5°C
- Cajas de Petri
- Microsoft Office Excel
- Agua de acuario

Figura 1: Diseño del laberinto.

Organismo:

- Peces cebra (*Danio rerio*), Cepa Tab-wik

PROCEDIMIENTO

Para lograr el objetivo de este proyecto, la investigación se dividió en una parte documental y una parte experimental dividida en dos.



Figura 2. Edición de los videos. Se puede observar la forma de medir el inicio y fin de la larva en el ensayo y se muestra además la forma de los carriles.

La parte documental requirió de una recopilación de información acerca de los peces cebra, sus etapas de desarrollo, su utilidad en la ciencia, su comportamiento visual motor, sobre su capacidad de memoria, entre otros. Por otra parte, para la investigación experimental se requirió realizar dos experimentos diferentes.

Durante el primero se utilizaron larvas de 7dpf, las cuales se obtuvieron por cruza naturales de peces cebra silvestres, que fueron criados en el acuario del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM. Estas larvas se mantuvieron en la incubadora a 28.5°C hasta que alcanzaron la etapa de desarrollo ideal para hacer los experimentos. Para el segundo, se emplearon organismos adultos que se mantuvieron en condiciones estándar y los experimentos en laberinto (como mecanismo de memoria de navegación espacial) se realizaron con 6 machos y 6 hembras de año y medio.

Nuestro diseño requirió de crear un escenario; el cual consiste en colocar el monitor de una computadora en forma horizontal sobre la mesa y arriba de este poner la caja con carriles. El monitor proyecta una presentación que fue

preparada por la M.C. Samantha Carrillo-Rosas en Microsoft Office Power Point, y ésta presentación se divide en tres partes diferentes con líneas que se proyectan también en diferentes direcciones.

La proyección consiste en someter a las larvas a siete imágenes diferentes, cuatro de ellas en blanco y tres con líneas blancas y negras intercaladas en movimiento vertical, obteniendo así la respuesta de las larvas que nadan en dirección al movimiento de las líneas, cabe señalar que los organismos se exponen a cinco presentaciones que difieren en la velocidad a la cual pasan las líneas. A continuación se detalla paso a paso el experimento.

Antes de iniciar cada experimento las larvas se habituaron a la luz ambiental por al menos 15 minutos, se colocó el agua de acuario con azul de metileno en los carriles (figura 2), y con una pipeta de transporte se pusieron seis larvas en un carril para cada uno de los experimentos, los cuales fueron filmados por una cámara SONY colocada en un trípode para evitar que se estuviera moviendo durante la filmación.

La primera imagen en la presentación consiste en una pantalla en blanco, la segunda imagen tiene una serie de líneas verticales que avanzan en dirección a la derecha, la tercera en blanco, la cuarta tiene líneas en dirección a la izquierda, la quinta en blanco, la sexta con líneas en dirección a la derecha y la séptima en blanco.

Los datos sobre velocidad de respuesta se obtuvieron después de las cinco presentaciones, como ya se indicó a diferentes velocidades de proyección; en la primera presentación las líneas pasan a una velocidad de diez segundos, la segunda a ocho segundos, la tercera a seis segundos, la cuarta a cuatro segundos y la quinta a dos segundos. Siempre se utilizaron diferentes larvas en cada uno de los experimentos y sus duplicados cuidando el sesgo de la prueba. Todo lo anterior fue registrado en video, cada uno se analizó utilizando Microsoft Office Power Point en donde se midieron las distancias (figura 2). En cada registro se colocaron como referencia dos fotografías de la misma larva, una que representa el inicio del movimiento de la larva y la segunda como registro de donde se encontraba al final de cada estímulo; con el fin de observar la trayectoria se colocó una línea desde el inicio de los carriles hasta donde se desplazó la larva y se tomó la medida de la distancia, haciendo el mismo procedimiento para la segunda fotografía y observar si tuvo un avance o no. Este mismo método se realizó con cada larva en cada una de las filmaciones.

Todos los datos que se obtuvieron fueron vaciados en hojas de cálculo del programa Microsoft Office Excel. En esta misma, los resultados se presentan como histogramas de clase, donde también se muestra el error estándar de la media (SEM) y así poder mostrar la variabilidad que presentan las gráficas.

En el segundo experimento se utilizaron peces cebrá ((*Danio rerio*) adultos de año y medio de edad, y un laberinto previamente diseñado por Ana Ofelia Santacruz Vázquez y Oscar Manuel García Gonzales (ver figura 1). Con anterioridad se colocaron los peces en un tanque separado a los demás, tres días antes de realizar el experimento se le puso una etiqueta con la leyenda "No alimentar" para que durante esos tres días no se les diera alimento. Por lo cual éste experimento requería de un estímulo el cual significo la sensación de hambre por el pez, por lo tanto, lo que buscaría era comida. Durante el cuarto día se realizaron los experimentos; primero se llenó el laberinto con agua de acuario y se situaron las separaciones en los lugares correspondientes como se muestra en la Figura 1. Ya que el laberinto se llenó se introdujo el pez para que se acondicionara por una hora. Concluido su tiempo de acondicionamiento, se inicia la filmación; y al prender la cámara, se coloca por cinco segundos

un papel que señala el sexo del pez, el número de ensayo que realiza y la fecha del experimento. Se inicia quitando la primera separación del laberinto; al final del laberinto, se colocó el alimento "Tetramin" macerado.

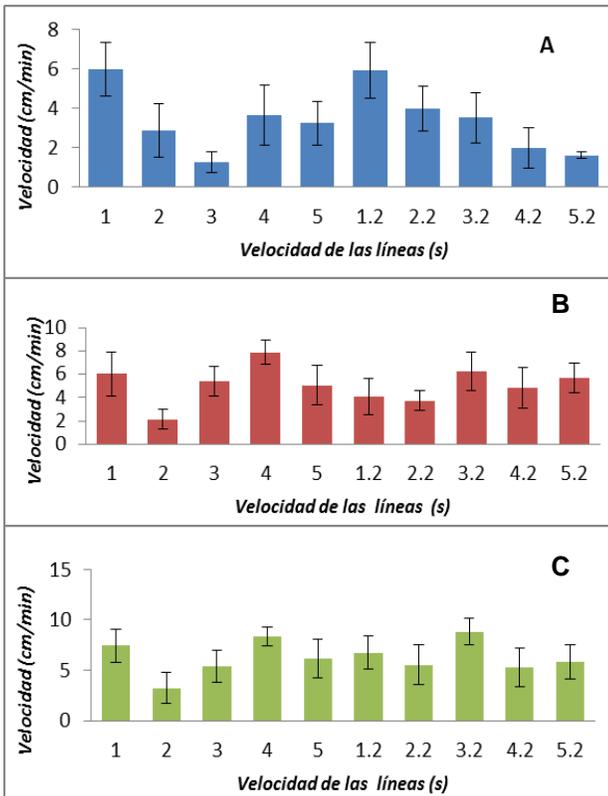


Figura 3. Se muestran tres gráficas donde el eje de las "x" marca la velocidad a la que pasan las líneas, en el 1 pasan a 10 segundos, el 2 a ocho segundos, el 3 a seis segundos el 4 a cuatro segundos y el 5 a dos segundos y sus duplicados (1.2, 2.2, 3.2, 4.2, 5.2); y el eje de las "y" es la velocidad (cm/min) a la que la larva desplaza después de determinado tiempo. La gráfica (A) Es la primera parte de cada experimento, donde las líneas van de izquierda a derecha. (B) corresponde a la segunda parte de los experimentos, las líneas van de derecha a izquierda. (C) es la tercera parte de los experimentos en la que las líneas van de izquierda a derecha.

Al final de cada ensayo, se regresaba el pez a su tanque y se tira el agua del laberinto y se enjuaga. Cada pez tuvo dos ensayos con un intervalo de dos horas de descanso.

RESULTADOS

Para explorar la formación de memoria, la cual se sabe que se adquiere durante el desarrollo ya sea a los siete días de desarrollo en los peces cebra. El ensayo optomotor (OMR) consiste en observar el deslazamiento de las larvas del pez cebra en dirección a un estímulo visual. En lo referente al trabajo con larvas, se conoce que estas responde moviéndose a ese estímulo porque trata de permanecer en el mismo lugar; explotando esto, diseñamos plantillas con diferentes tiempos de velocidad del transcurso de las líneas y cada una se dividió en tres partes dependiendo de la dirección de estas líneas, la primera parte va a la derecha, la segunda a la izquierda y por último la tercera a la derecha.

Inicialmente, en lo que se refiere a los **resultados con larvas**, se obtuvieron histogramas de las tres partes de cada plantilla, para así poder observar en tres diferentes graficas cada parte en diferentes velocidades y sus duplicados (figura 3). Con esta observación podemos hacer una comparación entre cada velocidad y el progreso o descenso que se obtuvo en las diferentes plantillas.

En los resultados obtenidos podemos notar que hay dos tendencias producidas por la variación en las velocidades de movimiento de las líneas, esto ocurre porque el estímulo visual al cual se somete la larva tiene una variante (la velocidad) por lo tanto no tiene la misma respuesta.

Se distingue una consistente disminución de respuesta o progreso a ciertas velocidades de las líneas, tal como se observa en la figura 4 donde se señala que la 1 y la 2 con sus respectivos duplicados, no

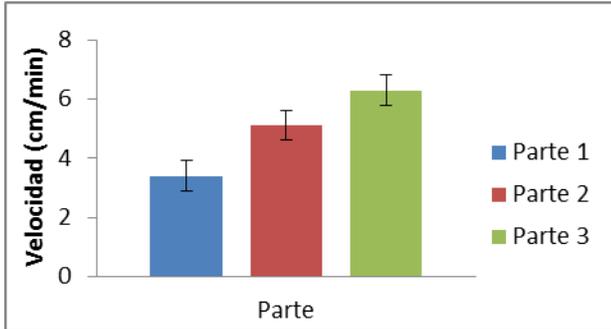


Figura 4. Ensayo optomotor (OMR) en larvas de pez cebra.

presentan respuestas significativas, lo que se observa de forma visual al interpretar los datos de la figura 3. Posteriormente, notamos que en varias velocidades como la de los cuatro segundos correspondiente a la columna cuatro, hay un notable avance, por lo que las larvas se comportan de manera mucho más eficaz al momento de generar una respuesta, es decir hacen el ensayo con mayor velocidad. Lo que sugiere que sin importar la velocidad del paso de las líneas, las larvas presentan un aprendizaje motor visual; con excepción de los resultados de diez segundos (1 y 1.2) y a los ocho segundos (2 y 2.2) los cuales eran más lentos que el resto, esto podría indicar que fueron casi imperceptibles para las larvas.

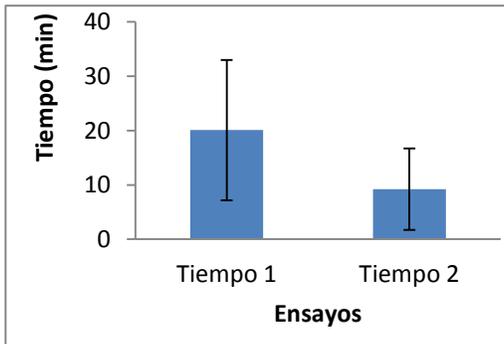


Figura 5. Memoria de navegación espacial en peces cebra adulto.

Observamos que las larvas conforme repiten el ensayo lo hacen con mayor velocidad, esto se ve reflejado en un histograma (figura 4).

Ya que el incremento de la velocidad es notable del recorrido 1 al recorrido 3, se observa más claramente que la larva tuvo un aprendizaje de nueva información, como es seguir la dirección de las líneas.

La figura 4 representa el promedio que se obtuvo de cada parte de los ensayos con diferentes velocidades y sus duplicados. Plasmando el progreso que se alcanzó en la velocidad que tiene la larva para hacer un trayecto dependiendo de los diferentes estímulos. Lo cual sugiere la adquisición de memoria desde los siete días de desarrollo.

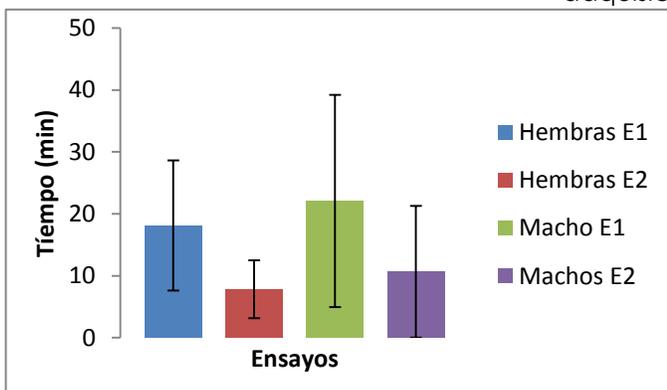


Figura 6. Memoria de navegación espacial en los diferentes sexos del peces cebra adulto. Se marca el sexo del pez y con una "E" el numero de ensayo.

En cuanto a los resultados con los peces adultos (un año y medio), en el experimento de memoria de navegación espacial se realizaron dos ensayos por cada pez cebra y en la mayoría de ellos pudimos observar la mejoría que tuvieron en cada ensayo (figura 5). Estadísticamente, no hubo un cambio significativo debido a que el experimento se aplicó a una pequeña población de sólo seis organismos.

Sin embargo, éste experimento además nos ayudó para identificar la memoria espacial de los peces, ya que se puede ver una disminución en el tiempo que tarda entre realizar el primer ensayo y el segundo.

Para determinar si ambos sexos tienen la misma capacidad para desempeñar la memoria de navegación espacial se creó un histograma (figura 6) para poder observar el mejoramiento que obtuvieron las hembras con el que tuvieron los machos. Es notable que comparando los ensayos uno y dos de ambos sexos, hay un progreso de aprendizaje, como anterior mente vimos. La diferencia es que el histograma pasado (figura 5) se ven los organismos de ambos sexos en una misma gráfica y en éste histograma (figura 6) se ven separados. Sorprendentemente, las hembras tienen un mayor progreso en el desempeño de estas pruebas, En contraste con los machos que si presentan progreso en las pruebas pero no tan notable con en las hembras. Estos resultados tampoco tienen una diferencia significativa en las estadísticas por lo mismo de que sólo son tres hembras y tres machos. A pesar de esto, existe cierta probabilidad de que este ensayo experimentado en una mayor población se obtenga el mismo resultado.

CONCLUSIÓN

Gracias a la realización de éste trabajo hemos demostrado que el pez cebra es sin lugar a duda, uno de los mejores organismos para realizar pruebas conductuales y de comportamiento. Algunos autores sugieren que aunque el sistema nervioso del pez cebra es menos complejo al de los mamíferos una similitud en la regulación de los neurotransmisores del sistema central; esto se ve reflejada en la realización de tareas motoras como las que se realizaron. (Sackerman, *et al*, 2010)

De acuerdo con los resultados obtenidos del ensayo OMR podemos decir que este esta prueba es adecuada para el desarrollo de modelos experimentales de conducta como éste; en el que es evidente que las larvas tienen un notable progreso entre cada ensayo, como lo observamos en los resultados anteriores.

También nos ayudó a observar que sin importar tanto la velocidad a la que pasan las líneas, la larva normalmente reaccionan a este estímulo visual. Recordando que en los resultados se identificaron dos velocidades en las cuales no había un progreso significativo, es decir, la velocidad que tuvieron en el primer recorrido no fue menor a la velocidad del tercer recorrido. La primera velocidad identificada las líneas pasan a diez segundos y la velocidad de la segunda identificada va a ocho segundos, tomando en cuenta de que estas son las velocidades más lentas; podemos concluir de que debido a la velocidad de las líneas del ensayo se obtuvo un resultado directamente proporcional, es decir, como las líneas pasaban más lento, también las larvas.

En el trabajo de memoria de navegación espacial con los peces adultos nos ayudó a comprender cómo el pez cebra es capaz de formar un mapa espacial, es decir, una representación en el cerebro de los lugares que hacen posible para el organismo planear rutas o moverse de un lado a otro (Healy y Jozet-Alves, 2010).

Finalmente, a partir de este mismo mecanismo se pudo percibir el diferente desempeño de los diferentes sexos la cual fue notoria a simple vista, sin embargo estadísticamente para este experimento no fue significativo, por lo cual sugerimos una población más grande para corroborar los datos.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecerles a los miembros del laboratorio 125-Norte del Departamento de Biología Celular y Desarrollo del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México por otorgarme la oportunidad de diseñar este trabajo, por proporcionarme los organismos y materiales que requería, y por hacer de mi estancia ahí agradable.

Especialmente, le quisiera agradecer a Samantha Carrillo-Rosas por su ayuda para realizar la prueba OMR en las larvas de pez cebra. De la misma manera, le agradezco a Ana Ofelia Santacruz Vázquez y Oscar Manuel García Gonzales su asesoramiento en las pruebas de memoria de navegación espacial en los peces adulto y por permitirme utilizar su diseño del laberinto.

Finalmente, me gustaría darle las gracias a mi asesor Ernesto Maldonado por permitir mi estancia en el laboratorio, por mostrarme el maravilloso mundo de los peces cebra, por compartirme parte de su conocimiento y por siempre apoyarme con este trabajo. Asimismo, le agradezco a mi otro asesor Víctor García por aconsejarme en cada momento del desarrollo de este proyecto y por siempre buscar lo mejor para mi .proyecto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Reticulospinal neurons activated by gratings drifting in different directions (2008). Recuperado de http://www.nature.com/neuro/journal/v11/n3/fig_tab/nn0308-246_F1.html
- Amatruda, J.F., Zon, L.I., 1999. Dissecting hematopoiesis and disease using the zebrafish. *Dev Biol* 216, 1-15.
- Beis, D., Stainier, D.Y., 2006. In vivo cell biology: following the zebrafish trend. *Trends Cell Biol* 16, 105-112.
- Real Academia Española. (2011) [ONLINE] Available at: <http://www.fbmc.fcen.uba.ar/materias/neurobiologia-del-aprendizaje-y-la-memoria/teoricas/Fases%20de%20la%20memoria.pdf>. [Last Accessed 18 de febrero del 2014].
- Kimmel, C.B., Ballard, W.W., Kimmel, S.R., Ullmann, B., Schilling, T.F., 1995. Stages of embryonic development of the zebrafish. *Dev Dyn* 203, 253-310.
- Kishimoto, N., Cao, Y., Park, A., Sun, Z., 2008. Cystic kidney gene seahorse regulates cilia-mediated processes and Wnt pathways. *Dev Cell* 14, 954-961.
- MacInnes, A.W., Amsterdam, A., Whittaker, C.A., Hopkins, N., Lees, J.A., 2008. Loss of p53 synthesis in zebrafish tumors with ribosomal protein gene mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 10408-10413.
- Massaro, D.W. y Cowan, N. (1998). Information Processing models: Microscopes of the mind. *Annual Rivew of Psychology*, 44, 383-425.
- Moore, J.L., Rush, L.M., Breneman, C., Mohideen, M.A., Cheng, K.C., 2006. Zebrafish genomic instability mutants and cancer susceptibility. *Genetics* 174, 585-600.
- Patton, E.E., Widlund, H.R., Kutok, J.L., Kopani, K.R., Amatruda, J.F., Murphey, R.D., Berghmans, S., Mayhall, E.A., Traver, D., Fletcher, C.D., Aster, J.C., Granter, S.R., Look, A.T., Lee, C., Fisher, D.E., Zon, L.I., 2005. BRAF mutations are sufficient to promote nevi formation and cooperate with p53 in the genesis of melanoma. *Curr Biol* 15, 249-254.
- Valerie c. Fleisch and stephan c.f. neuhauss, (2006). Visual behavior in zebrafish. *Zebrafish*. 3 (1), pp.11
- Caroline Vignet, Marie-Laure Bégout, Samuel Péan, Laura Lyphout, Didier Leguay, and Xavier Cousin, (2013). Systematic Screening of Behavioral Responses in Two Zebrafish Strains. *ZEBRAFISH*. 00 (), pp.11
- Talbot, W.S., Hopkins, N., 2000. Zebrafish mutations and functional analysis of the vertebrate genome. *Genes Dev* 14, 755-762.
- Ruben Portugues, Florian Engert (2009). *The neural basis of visual behaviors in the larval zebrafish*.

[ONLINE] Available at: www.sciencedirect.com. [Last Accessed 18 de febrero del 2014].

Fero, Yokogawa and Burgess, (2011). 'The Behavioral Repertoire of Larval Zebrafish'. In: A.V. Kalueff, J.M. Cachat (eds.) (ed), *Zebrafish Models in Neurobehavioral Research*. 1st ed. USA: Humana Press. pp.249-282.

Kimmel Charles B, Ballard William W, Kimmel Seth R. (1995) *Stages of Embryonic Development of the Zebrafish*. Developmental Dynamics. Volume 203, Issue 3, pages 253–310.

Sackerman, Donegan, Cunningham, et al. (2010). *Zebrafish Behavior in Novel Environments: Effects of Acute Exposure to Anxiolytic Compounds and Choice of Danio rerio Line*. NIH Public Access. 23 (1), pp.43-61