

Facultade de ciencias Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal y Ecología. Área de Biología Animal

Diseño de un programa de enriquecimiento ambiental para pulpos (*Octopus vulgaris*) en el *Aquarium Finisterrae* (A Coruña, España)

Deseño dun programa de enriquecemento ambiental para pulpos (*Octopus vulgaris*) no *Aquarium Finisterrae* (A Coruña, España)

Design of an environmental enrichment program for octopus (*Octopus vulgaris*) at the *Aquarium Finisterrae* (A Coruña, Spain)



Paula López Vázquez

Trabajo de Fin de Grado

Fecha de defensa: 28 de junio de 2016

Dirigido por la Dra. María J. Servia

Tabla de contenido

RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
El enriquecimiento ambiental en cefalópodos. Antecedentes	4
Cognición y aprendizaje	5
OBJETIVOS	6
MATERIAL Y MÉTODOS	7
La especie	7
Distribución geográfica	7
Biología	7
El Aquarium Finisterrae	8
Los tanques (microcosmos)	9
• Tanque 1	10
Tanque 2	11
• Tanque 3	12
RESULTADOS	14
Revisión bibliográfica	14
Tanque 1	15
Tanque 2	16
Tanque 3	17
DISCUSIÓN	19
CONCLUSIONES	21
AGRADECIMIENTOS	22
ΒΙΒΙ ΙΟGRΔΕÍΔ	23



RESUMEN

En los últimos años, los científicos han mostrado un interés creciente en el modo en que los cefalópodos se ven afectados por su ambiente en cautiverio. Si un animal está privado de desarrollar los comportamientos naturales propios de la especie durante periodos prolongados de tiempo su bienestar puede verse comprometido. Con el objetivo de paliar este problema y mejorar así el bienestar fisiológico y psicológico de los animales, se han puesto en práctica las técnicas de enriquecimiento ambiental. Así, el presente estudio tiene como objetivo el diseño de un programa de enriquecimiento ambiental para los ejemplares de pulpo común (Octopus vulgaris) del Aquarium Finisterrae (A Coruña). Para ello se diseñaron experimentos en microcosmos con 7 ejemplares, los cuales fueron expuestos a diferentes dispositivos para medir su respuesta a la hora de conseguir alimento: tubos de 2.7 y 5.2 cm de diámetro, un Erlenmeyer de 1000 mL, un bote de plástico con tapa y una bola de hámster. Los experimentos se llevaron a cabo en tanques microcosmos especialmente diseñados para este trabajo de entre 70 y 100 L. Se pudo observar la capacidad de los ejemplares para atravesar los tubos de ambos diámetros, así como de abrir el bote y la bola de hámster. Sin embargo, las respuestas fueron más lentas de lo esperado, por lo que el programa de enriquecimiento ambiental diseñado a raíz de los datos obtenidos en este trabajo propone que los animales puedan tener un mínimo de 24 horas de interacción. Además, hay que tener en cuenta que una vez que la respuesta del animal se vuelva más inmediata, será necesario cambiar el dispositivo o aumentar su dificultad.

ABSTRACT

In recent years, scientists have shown an increasing interest in the way in which the cephalopods are affected by their environment in captivity. If animals are deprived of developing their own natural behaviours during prolonged periods of time, their welfare may be compromised. In order to alleviate this problem and improve the physiological and psychological well-being of the animals environmental enrichment techniques have been implemented. Thus, the aim of the present study is to design an environmental enrichment program for common octopus (Octopus vulgaris) at the Aquarium Finisterrae (A Coruña). To do this, we designed experiments in microcosms with 7 specimens. They were exposed to different devices, and we recorded the time they needed to get food through tubes (2.7 and 5.2 cm in diameter), a 1000 ml Erlenmeyer, a plastic jar with lid and a hamster ball. The experiments were carried out in microcosm tanks specially designed for this study (70 to 100 L). Individuals were able to cross through the tubes of both diameters, as well as to open the jar and the hamster ball. However, responses were slower than expected. Thus, the environmental enrichment program designed following the data obtained in this study suggests that animals should be allowed to interact with devices for a minimum of 24 hours. In addition, we should keep in mind that once the response of the animal becomes more immediate, it will be necessary to change the device or increase its difficulty.



INTRODUCCIÓN

En la naturaleza, los animales consumen mucho tiempo y energía en la adquisición de recursos como alimento o parejas reproductoras, a la vez que evitan a los depredadores. En un entorno de cautiverio, comida y pareja se pueden obtener sin mucho esfuerzo, y la presión por depredación por lo general es nula. Esto deja a los animales sin las actividades que normalmente ocupan la mayor parte de su tiempo (Anderson & Wood, 2001). Si un animal está privado de desarrollar los comportamientos naturales propios de la especie durante periodos prolongados de tiempo su bienestar puede verse comprometido y pueden aparecer comportamientos estereotipados, los cuales se pueden definir como comportamientos patrón que se repiten con frecuencia y que no tienen ninguna función obvia, y son uno de los principales problemas del mantenimiento de animales en cautividad (Grindrod & Cleaver, 2001). Con el objetivo de paliar este problema, se han puesto en práctica las técnicas de enriquecimiento, las cuales consisten en proporcionar a los animales en cautividad los estímulos ambientales necesarios para un bienestar psicológico y fisiológico óptimo (Shepherdson, 1998). Así, la necesidad de realizar enriquecimiento se justifica por varias razones básicas: 1) para mantener unos niveles de actividad del animal saludables; 2) para aliviar el confinamiento espacial, y 3) para evitar conductas estereotipadas. Una cuarta razón para la aplicación del enriquecimiento es la preparación de los animales para la reintroducción en la naturaleza (Anderson & Wood, 2001).

El término enriquecimiento empezó a utilizarse a principios del siglo XX, aunque hasta finales de siglo el término no empezó a utilizarse de manera global. Se hizo más común entre los cuidadores de animales de zoológico y la investigación después de la aprobación en 1985 de la Ley de Bienestar Animal de Estados Unidos, que introdujo el concepto de bienestar psicológico (Adams, 2007). En 1992 se publicó el primer volumen de la revista *The Shape of Enrichment*, a raíz de la necesidad de crear un medio para compartir la información sobre estas técnicas (Mellen & MacPhee, 2001). Las técnicas de enriquecimiento son muy variadas y van desde un enriquecimiento propiamente ambiental, mediante la adición de decorado y sustrato similar al del ambiente natural de la especie, la interacción con otros ejemplares de su misma especie o de otra, hasta el uso de juguetes que les supongan un reto a la hora de conseguir el alimento. Por ejemplo, en el caso de los cefalópodos, algunos autores destacan la importancia de promover el comportamiento exploratorio (Mench, 1998), muy importante en este grupo de animales debido a que no existe una transferencia cultural de conocimiento de padres a hijos (Hanlon & Messenger, 1996). Además, un estudio de Kuba *et al.* (2006) demostró la inducción de un comportamiento de juego tras un periodo exploratorio.

El enriquecimiento ambiental en cefalópodos. Antecedentes

En los últimos años, los científicos han mostrado un interés creciente en el modo en que los cefalópodos se ven afectados por su ambiente en cautiverio. Este mayor interés es debido principalmente a nuevos descubrimientos, sobre todo en pulpos, acerca de su enorme variedad de comportamientos y su capacidad cognitiva (Beigel & Boal, 2006). Así, aunque se conocen desde hace tiempo los efectos positivos del enriquecimiento ambiental sobre ciertos comportamientos de vertebrados (ver por ejemplo Rosenzweig *et al.*, 1972), los efectos en invertebrados son todavía desconocidos. De hecho, el enriquecimiento ambiental aplicado a cefalópodos ha sido recomendado muy recientemente (Yasumuro & Ikeda, 2011).

Hasta la fecha, varios estudios han evaluado el efecto del enriquecimiento ambiental en cefalópodos (Yasumuro & Ikeda, 2011). Por ejemplo, Dicker *et al.* (2000) criaron un grupo de sepias (*Sepia officinalis*) en un ambiente con algas artificiales y rocas, mostrando éstas un desarrollo normal de la memoria y el aprendizaje, mientras que un grupo criado en un ambiente



estéril no. En otro estudio, Beigel & Boal (2006) demostraron que ejemplares de la especie *Octopus bimacloides* criados en un tanque cubierto con algunos objetos mostraban una mayor actividad que sus compañeros criados en tanques estériles sin cubrir ni objetos añadidos. Sin embargo, la falta de estudios no permite predecir si se obtendrían los mismos resultados en otras especies de cefalópodos, ni cuál es el enriquecimiento adecuado para estos animales. Yasumuro & Ikeda (2011) concluyeron en su estudio con *Callistoctopus aspilosomatis* que el ambiente enriquecido favorece comportamientos que realizan en su ambiente natural, tales como los comportamientos exploratorios. Por otro lado, les fue imposible demostrar que el ambiente estéril estresaba al animal debido a la falta de pruebas fisiológicas.

Brady et al. (2010) compararon los efectos de los tres tipos de enriquecimiento (oferta de estímulo de caza; estímulo ambiental y estímulo interactivo) en dos ejemplares, un macho y una hembra, de *Enteroctopus doflini*: la hembra mostró una mayor actividad con los estímulos de caza que con los otros dos estímulos, mientras que el macho mostró una respuesta similar a los tres estímulos. Estos autores reafirman la necesidad de realizar más estudios para establecer las preferencias de este tipo de animales. La revisiones de Wood & Wood (1999) y Rehling (2000) recogen numerosas ideas para el enriquecimiento en pulpos de pequeño tamaño.

Los efectos del enriquecimiento pueden comprobarse a través de diversas pruebas fisiológicas y comportamentales tales como la medición de la tasa de crecimiento, de supervivencia, o el nivel de estrés, y se recomienda la renovación periódica de los estímulos para mantener estos efectos (Yasumuro & Ikeda, 2011). Algunos de los comportamientos indicativos de estrés en cefalópodos son: la propulsión hacia los lados del tanque, esconderse la mayor parte de las horas (depende de la especie), presencia de patrones de coloración blancos y expulsión de tinta (Hanlon & Messenger, 1996; Wood & Wood, 1999). Además, en casos de elevado estrés, se pueden observar casos de autofagia (Beigel & Boal, 2006).

Cognición y aprendizaje

Los cefalópodos poseen complejos órganos sensoriales y efectores, por lo que su sistema nervioso debe manejar mucha información. Los sentidos táctil, químico y visual están muy desarrollados, debido a la adaptación a la vida bentónica. Por sus características especiales y su fácil aclimatación a la vida en cautividad, estos organismos son muy utilizados en estudios de fisiología y comportamiento, lo que ha permitido conocer mejor la estructura de su sistema nervioso. Muchas de las características de la organización neuronal de los cefalópodos así como las características anatómicas y comportamentales se pueden comparar a aquellas encontradas en vertebrados. El sistema nervioso central de los cefalópodos consiste en una masa más o menos compacta de células nerviosas formando el cerebro, el cual está unido a varios ganglios periféricos (Boyle & Rodhouse, 2005). Este cerebro está situado entre los ojos, alrededor del esófago, rodeado de un cráneo cartilaginoso y formado por 64 lóbulos sub- y supra-esofágicos (Hochner, 2004). Lateralmente al cerebro, posee dos lóbulos ópticos. Los lóbulos ópticos tienen una gran importancia debido a que son los responsables de la memoria visual, y pueden ser considerados los centros más importantes del cerebro, comparables al lóbulo frontal en vertebrados. En el proceso de aprendizaje y memoria también están implicados otros lóbulos, principalmente el lóbulo vertical y el lóbulo superior frontal (Hanlon & Messenger, 1996). Si se extirpara el lóbulo vertical, se dañarían tanto la memoria a largo plazo como la capacidad de aprender nuevas acciones, lo que sugiere un proceso de convergencia evolutiva que llevó a la selección de procesos sinápticos parecidos a aquellos observados en vertebrados (Hochner et al., 2003). Además, el hecho de que una gran parte del cerebro se relacione con la memoria nos advierte de que el aprendizaje es una parte muy importante en la vida de los cefalópodos, debido



a que no existe una transferencia cultural de conocimiento de padres a hijos. (Hanlon & Messenger, 1996).

El sistema nervioso periférico le confiere al pulpo cierto grado de autonomía local del movimiento. De este modo, movimientos de los brazos, manto o cromatóforos se llevan a cabo de manera independiente al sistema nervioso central, y esta actividad puede continuar varias horas después de la muerte del animal (Boyle & Rodhouse, 2005). Gran parte de lo que sabemos sobre el comportamiento en cefalópodos proviene de experimentos en laboratorio, por lo que está abierto a críticas por las técnicas usadas. En los últimos años, un mayor número de observaciones de buceadores, así como las mejoras en tecnologías para grabar bajo el agua, han permitido un mejor conocimiento en el medio natural (Boyle & Rodhouse, 2005).

Los pulpos poseen unos ojos complejos anatómicamente similares a los nuestros. Esto, junto al complejo sistema nervioso, les permite aprender y recordar tareas complejas (Yasumuro & Ikeda, 2011). Ciertos autores, basándose en evidencias comportamentales, hablan incluso de la existencia de una "consciencia primaria" en estos animales, la cual les aportaría la capacidad de formar simples conceptos en base a la información externa, e incluso tomar decisiones (Mather, 2008). Yasumuro & Ikeda (2011) hablan de la existencia de "personalidad" para explicar la variedad comportamental observada en los ejemplares de estudio.

OBJETIVOS

La finalidad de este estudio es el diseño de un programa de enriquecimiento ambiental para los pulpos del tanque "San Roque" de la Sala Maremagnum, en el *Aquarium Finisterrae* (A Coruña), en el cual actualmente hay 9 ejemplares de *Octopus vulgaris*. Para ello, hemos realizado diversos experimentos en varios microcosmos con el objetivo de:

- 1) Estudiar la evolución temporal de la respuesta de un ejemplar a obstáculos de dificultad creciente para obtener alimento
- 2) Estudiar la respuesta a diversos obstáculos que el individuo debe manipular o atravesar para conseguir alimento, con el objetivo de seleccionar o descartar alguno de ellos para el programa de enriquecimiento.
- 3) Comprobar la existencia de variabilidad interindividual en la capacidad para acceder al alimento utilizando un dispositivo que deben manipular para ello.



MATERIAL Y MÉTODOS

La especie

El pulpo común (*Octopus vulgaris*) es un cefalópodo octópodo. Presenta un cuerpo consistente, globoso y en forma de saco más o menos musculoso, con ojos complejos y muy perfeccionados, capaces de formar una imagen. Poseen rádula y un par de poderosas mandíbulas en forma de pico (Barnes & Ruppert, 1996), y una concha interna muy rudimentaria en forma de dos estiletes de conchiolina (Guerra, 1992; Bañón *et al.*, 2006). Tiene tres corazones: dos corazones branquiales que bombean sangre hacia las branquias, y un tercero que bombea la sangre sistémica a todo el cuerpo. Esta estructura y fisiología del sistema circulatorio está estrechamente relacionada con el elevado ritmo metabólico (Barnes & Ruppert, 1996).

Sus 8 brazos están conectados en su base por la umbrela, que nunca sobrepasa la mitad de la longitud de los brazos, y presentan 2 hileras de ventosas cada uno. En machos, el tercer tentáculo por la derecha (generalmente) carece de ventosas en su extremo y posee una hendidura que discurre a lo largo del brazo para la transmisión del esperma (Bañón *et al.*, 2006), transmisión que se produce cuando el macho introduce este brazo en la cavidad paleal de la hembra y deposita los espermatóforos en el oviducto (Barnes & Ruppert, 1996). Además, los machos adultos presentan las ventosas 15 a 17 (contadas desde el ápice) del segundo y tercer par de brazos mayores que las demás (Bañón *et al.*, 2006). Posee bolsa de tinta, a veces pequeña e incluida en la glándula digestiva, pero siempre funcional (Guerra, 1992). Aunque son capaces de nadar, con los brazos "colgando" y propulsándose a chorro expulsando agua a presión desde su cavidad paleal, normalmente se desplazan sobre las rocas (Barnes & Ruppert, 1996). Observaciones en el mar a profundidades entre 3 y 6 m revelan que esta especie tiene mayor actividad por la noche y a primera hora de la mañana, realizando únicamente pequeñas excusiones mientras permanece en su guarida. Durante el día, los pulpos utilizan información visual-espacial para la navegación (Nixon, 2003).

• Distribución geográfica

Antiguamente se consideraba una especie cosmopolita en aguas tropicales, subtropicales y templadas (Guerra, 1992); mientras que actualmente se restringe la denominación de *O. vulgaris* al pulpo del Mediterráneo y del Atlántico Este, aunque se trata de un tema bajo discusión (Bañón *et al.*, 2006). Es muy común en la Península Ibérica.

Biología

Vive desde la costa hasta el borde de la plataforma continental (200 m), aunque es más común en los primeros 100 metros de profundidad. Ocupa hábitats muy diversos, principalmente rocosos, cuyas oquedades utilizan como guaridas, pero también arrecifes de coral y praderas de pastos marinos, siendo territoriales (Bañón *et al.*, 2006). Los límites de temperatura en los hábitats que ocupan varían entre 7º y 33ºC, y los de salinidad entre 32 y 40‰ (Guerra, 1992).

Su fecundidad oscila entre 100000 y 400000 huevos por hembra madura, dependiendo del tamaño de ésta. Los huevos son pequeños (2.5 x 1 mm aproximadamente) y forman racimos. Las hembras los adhieren a oquedades rocosas o a otros tipos de sustratos bentónicos y cuidan de la puesta hasta la eclosión. Un estudio reciente en el Parque Nacional de las Islas Atlánticas mostró una preferencia de *O. vulgaris* por zonas de sustrato duro y profundidad moderada (unos 20 m) para el desove (Guerra *et al.*, 2015). El periodo de puesta es dilatado, abarcando en el Mediterráneo principalmente desde marzo hasta octubre. También se ha observado que, dentro de la estación de puesta parecen existir dos períodos de mayor actividad sexual, que en el Atlántico se centran en primavera y otoño (Guerra, 1992). En Galicia, sin embargo, sólo se ha



detectado el pico anual de primavera, y por ello se produce un pico de paralarvas planctónicas a finales de verano y principios de otoño (Bañón *et al.*, 2006). Durante el periodo de incubación, de 1 a 4 meses según la temperatura, las hembras cuidan, limpian y protegen la puesta. En todo este tiempo, la hembra deja de alimentarse y la mayoría muere tras la eclosión de los huevos (Barnes & Ruppert, 1996).

La duración del desarrollo embrionario depende de la temperatura (20-25 días a 25°C, 125 días a 13°C) (Guerra, 1992). La temperatura y otros factores bióticos y abióticos pueden afectar también las tasas de crecimiento de los juveniles, causando grandes diferencias en el tamaño y la edad de madurez (Bañón *et al.*, 2006). En Galicia, el ciclo vital del pulpo es de aproximadamente dos años (Barnes & Ruppert, 1996). Los individuos recién eclosionados miden 2 mm de longitud del manto y son planctónicos durante un período variable de 1 a 3 meses, que depende también de la temperatura; después de 30-40 días, cuando miden 6-7 mm de talla, se vuelven bentónicos (Guerra, 1992).

Desde el punto de vista trófico, es una especie oportunista, ya que la composición de la dieta dependerá de la abundancia local de presas (Bañón *et al.*, 2006). Se alimentan de poliquetos, crustáceos, moluscos y peces. Se ha observado canibalismo; la primera descripción de canibalismo en adultos salvajes fue grabada por buceadores en la Ria de Vigo (Hernandez-Urcera *et al.*, 2014). Poseen un par de glándulas salivales que desembocan en la cavidad bucal y secretan veneno y enzimas proteolíticas. Los hábitos alimentarios se parecen a los de las arañas: inyectan veneno a las presas y luego, sosteniéndolas con los brazos, las inundan con enzimas proteolíticas (Barnes & Ruppert, 1996).

Se han observado desplazamientos migratorios estacionales hacia la costa relacionados con la reproducción y también hacia zonas profundas, donde crecen y maduran. Son presa de numerosos animales, desde aves marinas hasta cetáceos (Guerra, 1992).

El Aquarium Finisterrae

El Aquarium Finisterrae (Casa de los Peces), situado en la ciudad de A Coruña, es un centro interactivo de divulgación científica sobre aspectos relacionados con la biología marina y la oceanografía. Pretende promover el conocimiento y protección del medio marino, así como contribuir a su conocimiento científico, prestando especial atención a los ecosistemas del litoral gallego. Sus piscinas exteriores están conectadas con el Océano Atlántico y su diseño las hace sensibles a las mareas. Además de sus piscinas, en los exteriores se puede encontrar un jardín botánico con las especies más representativas del litoral gallego, y un tanque dedicado actualmente a la exposición de rayas. En el interior, el recinto se divide en 3 salas: 1) Sala Maremagnum, con exposiciones interactivas sobre el Océano Atlántico. Alberga a más de 600 especies atlánticas; 2) Sala Humboldt, destinada a exposiciones temporales de otros mares, actualmente alberga una exposición sobre acuicultura; y 3) Sala Nautilus, decorada al estilo del gabinete del Capitán Nemo en el submarino Nautilus, es una sala de observación inmersa en una gran piscina de aproximadamente 4.5 millones de litros (G. Prego, com. pers.), la más grande de Europa, donde se exponen los mayores peces del Atlántico.

El diseño del programa de enriquecimiento se realizó para el tanque de exposición "San Roque" situado en la sala Maremagnum (Figura 1). Se trata de un tanque de 10000 L, en el cual se recrean las condiciones propias del litoral gallego (pH de 8; salinidad de 35 %; temperatura 15 °C y oxígeno 92 %, con un control diario de estos parámetros). Estos animales son alimentados 3 veces por semana (lunes, martes y miércoles) con aproximadamente 13 cangrejos cada día.







Figura 1. (A) Tanque "San Roque" en la sala Maremagnum. (B) Ejemplar de O. vulgaris en el tanque "San Roque".

Para este estudio, se utilizaron ocho ejemplares aproximadamente del mismo tamaño y peso similar a los del tanque "San Roque" para así poder realizar una mejor extrapolación de los resultados.

Los tanques (microcosmos)

Se aprovecharon tanques en desuso, y se modificaron especialmente para este estudio (Figuras 2 y 3). Los materiales y herramientas utilizados también fueron provistos por el *Aquarium Finisterrae*. El diseño inicial de los tanques no fue definitivo, ya que a lo largo del experimento nos encontramos con varios problemas (el pegamento se despegaba, o los propios animales despegaban lo objetos), por lo que fue necesario ir modificándolos. Como la salida de agua era la misma que la utilizada en el tanque "San Roque", no fue necesario que midiéramos parámetros todos los días, ya que lo hacían los trabajadores del recinto. La localización fue en unas de las cuarentenas (Figura 2), provista con todo el material necesario (recipientes, redes y sifones). Los cangrejos (cazados mediante nasas por los trabajadores) se cogían del tanque común, utilizado también para la alimentación de los ejemplares en exposición.



Figura 2. Zona de la cuarentena en la que se realizó el estudio.



Tanque 1

Se trata de un tanque de metacrilato de 76 L, cerrado por la parte superior y con un metacrilato que lo divide en dos zonas diferenciadas. La parte de la derecha (A) es la zona acondicionada para residencia. Se añadió decorado y refugio adecuado para reducir el nivel de estrés del animal, lo cual se encuadra dentro de los objetivos del enriquecimiento ambiental. Por otro lado, la parte izquierda (B) es la zona experimental, a la cual, para llegar, tendrá que pasar a través de diversos obstáculos. Si en el momento de realizar el experimento el animal se encontraba en la parte experimental, se cambiaba de zona, para que tuviera que ir de la A a la B (Figura 3)

En este caso, los obstáculos son varios tubos (utilizados generalmente en jaulas de hámster) distribuidos de forma aleatoria en la pared central de metacrilato. Se realizaron tres perforaciones del diámetro de los tubos (5.2 cm) y posteriormente se dispusieron aleatoriamente. Estos tres recorridos tienen diferente longitud: uno se trata simplemente de una abertura, otro es un tubo corto y recto de 30 cm de longitud (tubo simple), mientras que el tercero es un recorrido más largo y complicado con curvatura y giros (tubo complejo). A su vez, todas estas aberturas tienen cierre por la parte de la zona de residencia, por lo que pueden abrirse y cerrarse a nuestra disposición.

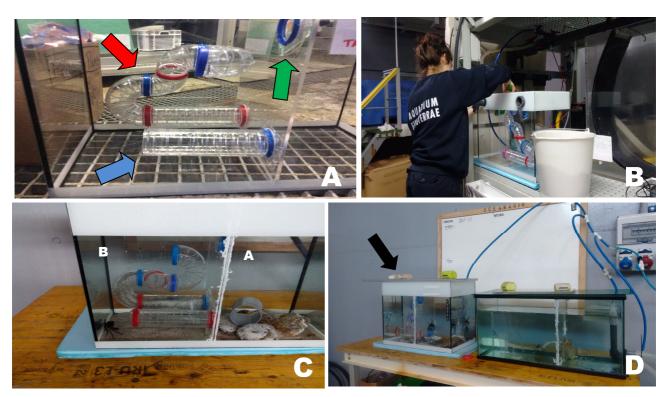


Figura 3. (A) y (B) Proceso de construcción del Tanque 1. Agujero (flecha verde), tubo simple (flecha azul) y tubo complejo (flecha roja). (C) Tanque 1 terminado con zonas A y B separadas por el metacrilato. (D) Tanque 1 (flecha negra) junto al Tanque 2 en la zona de cuarentena.

En este tanque se introdujo un individuo, el cual permaneció ahí durante todo el experimento.

Tras probar distintas metodologías y procedimientos, el experimento se llevó a cabo de la siguiente manera:

A lo largo de 5-7 días (dependió de la respuesta del animal) se le dejó abierta la abertura de manera que sólo tenía disponible un camino para pasar a la zona contraria. Dicha salida permaneció abierta para que pudiera moverse a voluntad entre ambas zonas. Todos



los días sobre las misma hora (11 de la mañana) se le ofrecía alimento vivo. Se hizo de la siguiente manera:

- 1. Se le ofreció un cangrejo vivo mediante unas pinzas en la zona experimental
- 2. Se comenzó a cronometrar el tiempo desde que se muestra el cangrejo hasta que el pulpo lo captura al otro lado. Como máximo se le ofrecía unos 5 minutos, ya que vimos que tenía tiempos de reacción menores. Tras ese tiempo, se soltaba el cangrejo y se dejaba hasta el día siguiente. De esa manera, si la respuesta del animal había sido lenta ese día, podríamos comprobar si el animal pasaba a la zona B durante la noche.

Una vez que la respuesta del animal se volvió más rápida y automática, se cambió de salida. Se cerró la abertura y se abrió el tubo simple. Se realizaron las mismas pruebas (Figura 4).

Al pasar al tubo complicado, como el ejemplar no mostró una respuesta rápida como en los anteriores, y antes la imposibilidad de medir el tiempo, se decidió modificar la metodología, dejándole el cangrejo durante todo el día, para así dejarle animal más tiempo a la hora de acostumbrarse.

En este tanque se introdujo un individuo, posiblemente una hembra pero sin confirmar, con un peso inicial de 346 gr.



Figura 4. Ejemplar de *O.vulgaris* atravesando el tubo simple (etapa 2).

• Tanque 2

Se trata de un tanque de 96 L. Al igual que el anterior, tenía un metacrilato central que lo dividía en 2 zonas diferenciadas. El metacrilato central estaba atravesado por un tubo transparente de 2.7 cm de diámetro y 10 cm de longitud con una pequeña curvatura al final. En el lado experimental (Zona A) se colocó un pequeño bote también transparente con una tapa agujereada y un Erlenmeyer de 1000 ml, ambos objetos pegados s la base del tanque (Figura 5). En este tanque, al contrario que en el anterior, se realizaron pruebas de 15 min.





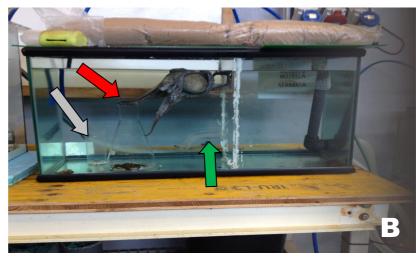


Figura 5. (A) Proceso de construcción del tanque 2. (B) Tanque 2 terminado con Erlenmeyer (flecha roja), bote de plástico (flecha gris) y tubo (flecha verde).

- ➤ La finalidad de este tanque era probar diferentes obstáculos. Decidimos empezar con el matraz. El experimento se llevó a cabo de la siguiente manera: se introducía un cangrejo en el matraz, y se iban añadiendo en la zona experimental a todos los ejemplares de pulpo, dejándoles un máximo de 15 min. Una vez hecha esta ronda de turnos, empezamos con las pruebas en el bote.
- Las pruebas con el bote de plástico se realizaron de una forma más progresiva, al tratarse de un objeto con mayor dificultad. Se agujereó la tapa para que el animal pueda explorar el interior. Sin embargo, al ser un objeto con tapa, se realizó en 2 etapas:
 - 1. Al principio se añadió un cangrejo al bote sin tapa
 - 2. Una vez que la respuesta del animal se volvía positiva y más rápida, se le añadí la tapa.
- ➤ En este tanque también se comprobó la capacidad de los pulpos para atravesar espacios reducidos. Primero por un agujero de 2.7 cm de diámetro, y después se añadió un pequeño el tubo antes descrito.

Tanque 3

En este tanque se llevó a cabo los experimentos de enriquecimiento con una bola de hámster como obstáculo. Con una capacidad de 87 L, no se trataba de un tanque propiamente dicho, sino de un recipiente pensado para traslados, pero se le añadió una entrada y salida de agua (Figura 6). Al igual que en el anterior, se realizaron pruebas de 15 minutos. Empezamos ofreciéndole la bola sin tapa y con un cangrejo en su interior. Para evitar que la bola se moviera, se introdujo una pequeña piedra para hacer de contrapeso. El procedimiento fue: se introducía al ejemplar de estudio en el tanque, dejándoles 10 minutos de acondicionamiento. A continuación, se introducía la bola con el cangrejo y se le dejaba durante 15 minutos. Se realizaron 2 rondas con todos los ejemplares, y una vez acabadas, se hicieron otras dos rondas pero añadiendo la tapa del objeto, sin enroscar. En esta parte se decidió realizar más sesiones ya que la respuesta no fue tan rápida.



Por último, se realizó el experimento con la tapa totalmente enroscada únicamente con los ejemplares que tuvieron una mejor respuesta en las rondas anteriores.

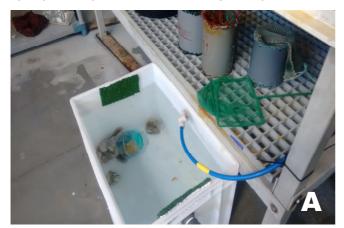






Figura 6. (A) y (B) Tanque 3 en la zona de cuarentena. (C) Ejemplar de *O. vulgaris* realizando una de las pruebas de 15 minutos con el dispositivo.



RESULTADOS

Revisión bibliográfica

Tras una búsqueda bibliográfica inicial sobre enriquecimiento en pulpos, se encontró la información reflejada en la siguiente tabla:

Tabla 1. Lista de artículos y documentos audiovisuales sobre enriquecimiento y habilidades de pulpos.

Autores	Tipo de publicación	Tipo de enriquecimiento	Lugar	Especie	Descripción
Anderson & Wood (2001)	Artículo	Enriquecimiento mediante estímulo de caza	Seattle Aquarium (EEUU)	Enteroctopus dofleini	Tipos de enriquecimiento: comida viva que se esconda y el pulpo tenga que cazarlo.
Beigel & Boal (2006)	Artículo	Enriquecimiento interactivo y ambiental	Desconocido	Octopus bimacloides	Ejemplares criados en un tanque cubierto con algunos objetos mostraban una mayor actividad que sus compañeros criados en tanques estériles sin cubrir ni objetos añadidos.
Brady <i>et al</i> . (2010)	Artículo	Enriquecimiento mediante estímulo ambiental, interactivo y de caza.	Cleveland Metropark Zoo (EEUU)	Enteroctopus dofleini	Análisis de los efectos generados por los tres tipos de enriquecimiento.
Downtown Aquarium (2011)	Audiovisual	Enriquecimiento mediante estímulo de caza.	Denver (EEUU)	Enteroctopus dofleini (Pulpo gigante del Pacífico)	Entrenada para tocar un <i>target</i> antes de recibir bola de hámster con comida.
Fiorito & Edelman (2011)	Audiovisual	Enriquecimiento y aprendizaje por observación.	Nápoles (Italia)		Un pulpo imita la manera de abrir una caja con 3 cierres distintos mediante la observación de otro pulpo ya condicionado.
Kuba <i>et al.</i> (2006)	Artículo	Enriquecimiento mediante estímulo de caza	Desconocido	Octopus vulgaris	Dos objetos: botella de plástico atada a una roca dejándola flotar unos 10 cm. Pieza de lego roja y blanca. Se establecieron niveles de interacción.
Millar (2011)	Audiovisual	Flexibilidad	Islas Chiswell (Alaska)	Indeterminada	Un pulpo escapa por un agujero de un barco.



Tabla 1. Cont.

Richter <i>et al.</i> (2016)	Artículo	Enriquecimiento con estímulo de caza	Desconocido	Octopus vulgaris	Dispositivo en forma de L para conseguir comida. Tras eso, pasaron por 5 etapas más, cada vez más difíciles. Todos siguieron el mismo protocolo.
Steinhart Aquarium (2015)	Audiovisual	Enriquecimiento mediante estímulo interactivo y estimulo de caza. Interacción con cuidadores con sesiones táctiles.	California (EEUU)	Indeterminada	Comida dentro de bote con tapa.
Wood (2012)	Audiovisual	Flexibilidad.	St George's (Bermudas)	Octopus macropus	Un pulpo escapa por agujero de una pulgada de diámetro.
Yasumuro & Ikeda (2011)	Artículo	Enriquecimiento ambiental	Japón	Callistoctopus aspilosomatis	Comparación de 3 ambientes 1) ambiente pobre (sin objetos ni arena); 2) ambiente estándar (con arena) y 3) ambiente enriquecido (arena, esqueletos de corales y cristal de mar artificial). Pulpos más exploradores en ambientes 2 y 3.

Basándonos en esta información, y con el objetivo de diseñar posteriormente un programa de enriquecimiento para el *Aquarium Finisterrae*, se realizaron los experimentos en microcosmos anteriormente descritos, obteniendo los siguientes resultados:

Tanque 1

En este tanque se quiso estudiar la evolución de la respuesta de un ejemplar a obstáculos de dificultad creciente para obtener el alimento, por lo que se introdujo un único individuo que permaneció durante todo el experimento. Se realizaron un total de 24 sesiones, ocho sesiones con cada obstáculo (agujero, tubo simple y tubo complejo). En la Figura 7 se muestran los tiempos registrados en todas las etapas. Un tiempo superior a 15 minutos implica que el ejemplar consiguió el alimento por la noche. En la primera etapa (agujero), la sesión número 4 no tiene dato debido a que el animal no obtuvo el alimento. En la tercera etapa (tubo complejo) sólo se obtuvo un resultado positivo, por lo que no se ha representado. Se puede observar que en la etapa 1 (agujero) los datos varían dentro de un rango sin mostrar ninguna tendencia ascendente o descendente. Sin embargo, la etapa 2 (tubo simple) sí que muestra cierta tendencia descendente de los datos.

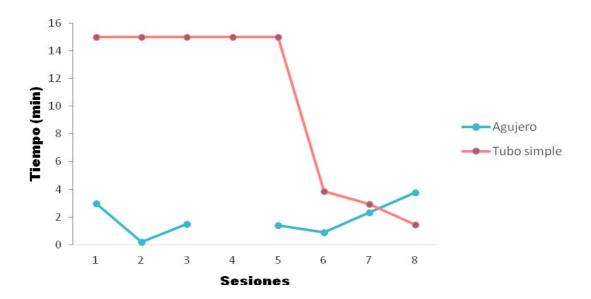


Figura 7. Cambios en el tiempo de obtención de alimento durante las etapas 1 (agujero) y 2 (tubo simple) para el ejemplar del Tanque 1.

Tanque 2

En este tanque se pusieron a prueba varios obstáculos que el individuo debía manipular o atravesar para conseguir alimento (Erlenmeyer de 1000 mL, tubo de 2.7 cm de diámetro y 10 cm de longitud y un bote de plástico sin tapa), con el objetivo de seleccionar o descartar alguno de ellos para el programa de enriquecimiento. Inicialmente se realizaron pruebas de 15 minutos; sin embargo, ante los malos resultados obtenidos en estas rondas, se decidió dejar el alimento durante toda la noche y comprobar al día siguiente si lo habían conseguido. De esta forma, obtenemos una tabla (Tabla 2) con los resultados en porcentaje de éxito alcanzado. En general, se puede observar que el éxito es mayor en las pruebas nocturnas que en las pruebas cortas de 15 minutos. En las últimas sesiones comprobamos además que uno de los ejemplares que había obtenido los mejores resultados en el bote sin tapa era capaz de abrirlo con la tapa totalmente enroscada.

Tabla 2. Porcentaje de éxito en la obtención de alimento en los diferentes obstáculos del Tanque 2

Obstáculo	Tipo de prueba	% Éxito	
	Pruebas de 15 minutos	10	
Erlenmeyer (1000 mL)	N= 10		
	Pruebas nocturnas		
	N= 12	50	
Tubo (2.7 cm)	Pruebas de 15 minutos	12.5	
	N= 8	12.5	
	Pruebas nocturnas	9.1	
	N= 11	J.1	
Bote sin tapa	Pruebas de 15 minutos	45	
	N=31		
	Pruebas nocturnas	100	
	N=3	100	

Tanque 3

El experimento con la bola de hámster como obstáculo se realizó en 3 etapas (bola abierta, bola con tapa y bola enroscada), ya que el cierre de este tipo de objetos tiene dos posiciones, de manera que no se abra cuando lo utilice el animal para el que está diseñado. Nuestro objetivo era comprobar la existencia de variabilidad interindividual en la capacidad para acceder al alimento. En la Tabla 3 se muestra el número de sesiones realizadas con cada individuo; el color rojo indica que el animal consiguió el alimento, mientras que el negro indica que no lo consiguió dentro del tiempo de la sesión (15 minutos).

Tabla 3. Número de sesiones realizadas con cada ejemplar usando una bola de hámster como obstáculo para obtener alimento. Rojo: éxito. Negro: fallo. El orden de colores se corresponde con el orden en el que se realizaron las sesiones.

Ejemplar	Sin tapa	Con tapa	Enroscada
1	**	***	*
2	**	***	***
3	**	*****	***
4	**	***	***
5	**	***	
6	**	***	*

17



Inicialmente se planificaron dos sesiones por etapa. Sin embargo, debido a la existencia de una clara variabilidad interindividual, se decidió llevar a cabo más sesiones con aquellos individuos que mostraron mejores resultados en la segunda etapa (bola con tapa), con el objetivo de seleccionar ejemplares para la siguiente (bola enroscada). Los ejemplares elegidos fueron el número 2, 3 y 4. Se realizaron pruebas de 15 minutos y se anotaron los tiempos. En la Figura 8 se han representado los datos de tiempo de las primeras dos sesiones de cada etapa de estos 3 ejemplares, donde se puede observar una gran variabilidad en los mismos.

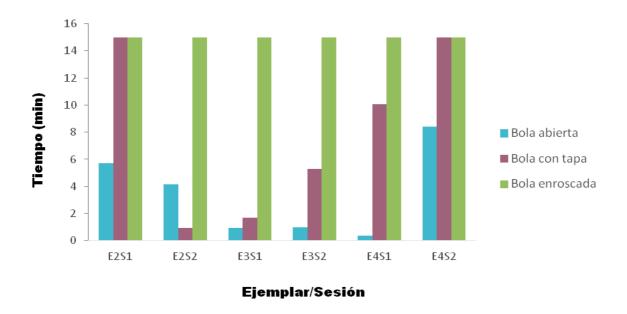


Figura 8. Tiempo invertido por los ejemplares 2, 3 y 4 en las dos primeras sesiones de cada etapa (bola abierta, bola con tapa y bola enroscada).



DISCUSIÓN

Aunque no son demasiado numerosos, en la bibliografía se pueden encontrar ejemplos sobre el uso de técnicas de enriquecimiento en pulpos (ver referencias en Tabla 1). Sin embargo, se trata de experimentos realizados en tanques más o menos pequeños y con un solo individuo o unos pocos. En este trabajo el objetivo principal es diseñar un programa de enriquecimiento para un grupo de pulpos (5 o 6) en un tanque grande de 10000 L. De ahí la decisión de realizar experimentos previos en microcosmos para estudiar la reacción de los animales ante distintos dispositivos, así como la planificación de su uso.

En el Aquarium de Denver (EEUU) trabajan con la especie *Enteroctopus dofleini*. Realizan un entrenamiento de manera que el animal debe tocar un *target* antes de recibir su recompensa. Según su experiencia, el animal muestra una reducción del tiempo de actuación sobre el objeto a medida que aumentan el número de sesiones con dicho objeto (Ver Tabla 1). Esto, junto a la existencia de memoria a largo plazo en estos animales (Hochner *et al.*, 2003) nos llevaría a esperar una tendencia decreciente en el tiempo empleado por el ejemplar del tanque 1 para atravesar los obstáculos y obtener el alimento. En el presente estudio, dicha tendencia se puede observar en la etapa 2 (tubo simple), y también podría decirse que se esperaría algo similar en la etapa 3 (tubo complejo), aunque se habrían necesitado un mayor número de sesiones para comprobarlo. Por otro lado, en la primera etapa (agujero), considerada la más simple, se pudo observar que la variación de datos se encuadra dentro un rango de tiempos más o menos estable. En base a esto, se podría esperar que con un mayor número de sesiones, las etapas 2 y 3 acabarían mostrando una tendencia similar a la primera.

Los pulpos poseen una gran capacidad para pasar a través de pequeñas grietas y agujeros, ya que es un comportamiento normal y natural para ellos. Un estudio con ejemplares de *Octopus macropus* de aproximadamente 300 gr demostró que eran capaces de atravesar agujeros de una pulgada de diámetro (2.5 cm) (Wood, 2012). Los resultados del tanque 2 demuestran que los ejemplares de *O. vulgaris*, de aproximadamente ese peso, son capaces de pasar por agujeros y tubos con un diámetro de 2.7 cm. Por otro lado, Hanlon & Messenger (1996) demostraron la capacidad de los pulpos de abrir botes, lo que pudimos comprobar en este experimento. Otras habilidades de los pulpos incluyen el distinguir diferentes formas, recorrer laberintos y utilizar herramientas (Anderson & Wood, 2001). Así, cualquiera de estos dispositivos podría utilizarse como posible instrumento en el programa de enriquecimiento.

En el tanque 3 se decidió utilizar como dispositivo una bola de hámster a raíz de lo observado en un video del Aquarium de Denver (Ver Tabla 1). Estos experimentos nos permitieron observar variabilidad entre individuos, mencionada en varios estudios previos. Yasumuro & Ikeda (2011) afirman que la existencia de "personalidad" explica esta variabilidad interindividual del comportamiento. Por ejemplo, una personalidad más agresiva puede ser ventajosa en el tanque 3, mientras que en el tanque 1, donde los pulpos simplemente tenían que atravesar tubos, podría tener menos importancia. En otro estudio con dispositivos de dificultad creciente, los autores (Richter *et al.*, 2016) observaron plasticidad comportamental en los ejemplares a la hora de adaptarse a un nuevo dispositivo. Sin embargo, otras posibles explicaciones para estas diferencias pueden ser la presencia de distintos niveles de estrés o de apetito.

La revisiones de Wood & Wood (1999) y Rehling (2000) recogen numerosas ideas para el enriquecimiento en pulpos de pequeño tamaño. En otros animales, el enriquecimiento puede ser usado para aumentar la actividad, reducir comportamientos destructivos, reforzar los comportamientos observados en la naturaleza, preparar a los animales para su liberación en la naturaleza y entretener al público (Anderson & Wood, 2001). Sin embargo, hasta el momento los investigadores han tenido dificultades para demostrar que el enriquecimiento sea beneficioso para pulpos en cautividad. Parece difícil saber cuándo un pulpo está aburrido, o diferenciar un comportamiento agresivo de simple curiosidad (Anderson & Wood, 2001). A pesar de esto, los



beneficios del enriquecimiento han sido demostrados en otras especies (Rosenzweig *et al.*, 1972). Rehling (2000) demostró que los pulpos que recibían algún tipo de enriquecimiento se mostraban más activos. Sin embargo, un exceso de actividad también puede ser un indicativo de estrés, por lo que es necesario un estudio futuro con un grupo control y un mayor número de ejemplares, para demostrar si el enriquecimiento es realmente beneficioso para los cefalópodos.

Nuestro estudio se ha realizado con la finalidad de diseñar un programa de enriquecimiento aplicable al tanque "San Roque" del *Aquarium Finisterrae*. Teniendo en cuenta que se pueden definir tres tipos de enriquecimiento (Brady *et al.*, 2010), Yasumuro & Ikeda (2011) afirman que el estímulo ambiental es el mejor tipo de enriquecimiento. Dado que el tanque "San Roque" ya posee ese tipo de estímulo, este estudio está orientado a diseñar un enriquecimiento de oferta de estímulo de caza.

En base a los resultados obtenidos en este trabajo y a la información obtenida de estudios previos, se ha diseñado el programa de enriquecimiento con dos dispositivos: la bola de hámster y el bote de plástico. El protocolo de este programa de enriquecimiento para *O. vulgaris* sería el siguiente:

- Dado que los pulpos en exposición son alimentados tres días a la semana (lunes, miércoles y jueves) se propone un enriquecimiento que se lleve a cabo los días en los que no se alimenta (martes y jueves). Los martes se podrán utilizar las bolas de hámster, mientras que el jueves se utilizará el otro dispositivo disponible, los botes de plástico.
- Este estudio se llevó a cabo por las mañanas, por lo que no se tienen datos de cómo responden los animales a otras horas del día. Sin embargo, consideramos que no debe coincidir con las horas de alimentación semanal (sobre las 12 de la mañana), dado que una de las finalidades del enriquecimiento es la ruptura de la rutina para evitar que los animales se aburran, por lo que se recomienda un enriquecimiento en las horas de tarde.
- Hemos comprobado que los pulpos necesitan largos periodos de adaptación a los dispositivos, teniendo que dejarlos incluso durante un día entero, por lo que el enriquecimiento no será una actividad de tiempo limitado, sino que se les dejará a los animales el tiempo necesario, recogiendo los resultados al día siguiente.
- La introducción de los dispositivos en el tanque se llevará a cabo de la siguiente manera: Se introducirán un número de dispositivos igual al de ejemplares presentes en el tanque. De esta forma, nos aseguramos que todos tengan posibilidad de interactuar con los objetos. Las bolas de hámster llevarán una piedra en su interior para favorecer su hundimiento; los botes de plástico se atarán a unas rocas de manera que queden flotando a unos 40 cm del fondo. Ambos dispositivos serán recogidos al día siguiente por la mañana por lo buceadores. Se utilizará alimento vivo (cangrejos) ya que es el alimento habitual.

Con este diseño se esperaría mantener a los pulpos ocupados aquellos días en los que no reciben alimento, así como mejorar su bienestar fisiológico y psicológico.



CONCLUSIONES

- 1. El enriquecimiento ambiental en pulpos es un tema de reciente interés, por lo que la bibliografía existente es escasa. Sin embargo, en la red pueden encontrarse documentos de interés sobre posibles dispositivos para futuros trabajos.
- 2. El pulpo común (*Octopus vulgaris*) es un animal acostumbrado a vivir en espacios pequeños y oscuros, por lo que se recomienda el correcto acondicionamiento del tanque en el que habitan, aplicando así un enriquecimiento ambiental adecuado que se sumará al enriquecimiento por estímulo de caza.
- 3. Los animales utilizados en este trabajo en general mostraron un período de acondicionamiento largo, por lo que en futuros programas de enriquecimiento deberían poder tener acceso a los dispositivos de enriquecimiento durante períodos de veinticuatro horas, al menos inicialmente.
- 4. Los posibles dispositivos a utilizar en un futuro programa de enriquecimiento incluyen los evaluados en este trabajo: tubos de 2.7 y 5.2 cm de diámetro, recipientes Erlenmeyer, así como botes de plástico cerrados y bolas de hámster.
- 5. El alimento vivo o en movimiento parece provocar un mayor nivel de reacción en los ejemplares.
- 6. Es necesario adecuar los dispositivos al tamaño de los ejemplares, ya que este trabajo se realizó con animales de entre 200 y 400 gramos de peso. De esta forma, para animales más grandes los diámetros deberían ser mayores, e incluso los recipientes como el bote de plástico o el matraz Erlenmeyer.
- 7. Una vez que se observe que la respuesta del animal se hace más inmediata, será necesario cambiar el dispositivo o aumentar su dificultad, para evitar que el animal se aburra o pierda interés.

CONCLUSIONS

- 1. Environmental enrichment in octopus is a topic of recent interest, so that literature on this subject is scarce. However, relevant documents can be found on the web concerning possible devices for future studies.
- 2. The common octopus (*Octopus vulgaris*) is an animal that normally lives in small, dark spaces. This should be taken into account for the conditioning of the tank in which they live, so they are exposed to a suitable environmental enrichment. Hunting stimulus enrichment techniques might be then incorporated.
- 3. The animals used in this study generally showed a long period of conditioning, so that in future enrichment programs individuals should be allowed to have access to the enrichment devices during periods of twenty-four hours, at least initially.
- 4. Possible devices to use in future enrichment programs include those tested in this study: tubes 2.7 and 5.2 cm in diameter, Erlenmeyer flasks, closed jars with lids and hamster balls.
- 5. Alive prey or foods in motion seem to elicit a higher reaction in the specimens.
- 6. It is necessary to adapt the devices to the size of the specimens (in this work we used individuals from 200 to 400 grams). Thus, larger animals might require tubes of larger diameters, and even larger containers such as the plastic bottle or the Erlenmeyer flask.
- 7. Once the animal's response becomes more immediate devices should be changed, or we should increase at least the difficulty for obtaining their food. This will prevent the animal from getting bored or losing interest.



AGRADECIMIENTOS

Primero me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a la Dra. María José Servia, sin la cual no habría sido posible realizar el presente trabajo. Gracias por su constante apoyo y dedicación. De igual modo, quiero agradecer a mi compañera Tamara Pazos Cordal, por ayudarme a la construcción de los tanques y al seguimiento del estudio. También al *Aquarium Finisterrae* por permitirme realizar este estudio en sus instalaciones y por ceder los materiales necesarios, así como al personal que allí trabaja.



BIBLIOGRAFÍA:

Adams, K. M. (2007). Refinement in the literature: Searching for environmental enrichment. *Alternatives to Animal Testing and Experimentation*, 14: 307-312.

Anderson, R. C. & Wood, J. B. (2001). Enrichment for Giant Pacific Octopuses: happy as a clam? *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 4: 157-168.

Beigel, M. & Boal, J. G. (2006). The effect of habitat enrichment on the mudflat octopus. *The Shape of Enrichment*, 15: 3-6.

Boyle, P. & Rodhouse, P. (2005). Cephalopods. United Kingdom. Blackwell Science Ltd.

Brady, M., Rehling, M., Mueller, J. & Lukas, K. (2010). Giant Pacific Octopus behaviour and enrichment. International Zoo News, 380: 134-145.

Chamove, A. S. (1989). Environmental enrichment: a review. *Animal Technology*, 40:155-178.

Dickel, L., Boal, J. G., Budelmann, B. U. (2000). The effect of early experience on learning and memory in cuttlefish. *Developmental Psychobiology*, 36: 101-110.

Downtown Aquarium (2011). Octopus enrichment at the Downtown Aquarium Denver. Recuperado de: https://www.youtube.com/watch?v=OAu5deWaT1c. Consultado el 23 de noviembre de 2015.

Fiorito, G. & Edelman, D. (2011). A demonstration of an octopus learning through observation. Recuperado de: https://www.youtube.com/watch?v=GQwJXvITWDw. Consultado el 23 de noviembre de 2015

Grindrod, J. A. E. & Cleaver, J. A. (2001). Environmental enrichment reduces the performance of stereotipyc circling behaviour in captive common seals (*Phoca vitulina*). *Animal Welfare*, 10: 53-63.

Hanlon, R. T. & Messenger, J. B. (1996). *Cephalopod behaviour*. United Kingdom. Cambridge University Press.

Hochner, B. (2004). Octopus nervous system. *Encyclopedia of Neuroscience*. 3rd ed. G. Adelman and B. Smith, eds. Elsevier B.V. Amsterdam. [CD-ROM.]

Hochner, B., Brown, E. R., Langella, M., Shomrat, T. & Fiorito G. (2003). A learning and memory area in the Octopus brain manifests a vertebrate-like long-term potentiation. *Journal of Neurophysiology*, 90: 3547-3554.

Kuba, M. J., Byrne, R. A., Meisel, D. V. & Mather, J. A. (2006). When do octopuses play? Effects of repeated testing, object type, age and food deprivation on object play in *Octopus vulgaris*. *Journal of Comparative Psychology*, 120: 184-190.

Mather, J. A. (2008). Cephalopod consciousness: behavioural evidence. *Consciousness and Cognition*, 17: 37-48.

Mellen, J. & MacPhee, M. S. (2001). Philosophy of environmental enrichment: past, present and future. *Zoo Biology*, 20: 221-226.

Mench, J. A. (1998). Environmental enrichment and the importance of exploratory behavior. In D. L. Shepherdson, J. D. Mellen, & M. Hutchins (Eds.), *Second nature: environmental enrichment for captive animals.* Washington D C: Smithsonian Institute Press.

Millar, C. (2011) Octopus Houdini. Recuperado de: https://www.youtube.com/watch?v=9yHIsQhVxGM. Consultado el 23 de noviembre de 2015

Rehling, M. J. (2000). Octopus prey puzzles. The Shape of Enrichment, 9: 1-5.



Richter, J. N., Hochner, B. & Kuba, M. J. (2016). Pull or push? Octopuses Solve a Puzzle Problem. *PLoS ONE*. 11(3): e0152048.

Rosenzweig, M. R., Benett, E. L., Diamond, M. C. (1972). Brain changes in response to experience. *Scientific American*, 226: 22-29.

Steinhart Aquarium. (2015) Science Today: Octopus Enrichment | California Academy of Sciences. Recuperado de: https://www.calacademy.org/explore-science/octopus-enrichment. Consultado el 27 de noviembre de 2015

Shepherdson, D. (1998). Introduction: tracing the path of environmental enrichment in zoos. Shepherdson, D., Mellen, J., Hutchins, M. (Eds.). *Second nature: environmental enrichment for captive animals*. Washington D C. Smithsonian Institute Press.

Tokuda, K., Masuda, R. & Yamashita, Y. (2015). Conditional discrimination in *Octopus vulgaris*. *Journal of Ethology*, 33: 35-40.

Wood, J. (2012) Octopus scaping through a 1 inch diameter hole. Recuperado de: https://www.youtube.com/watch?v=949eYdEz3Es. Consultado el 23 de noviembre de 2015

Wood, J. B. & Wood, D. A. (1999). Enrichment for an advanced invertebrate. *The Shape of Enrichment*, 8: 1-5.

Yasumuro, H. & Ikeda, Y. (2011). Effects of environmental enrichment on the behaviour of the tropical octopus *Callistoctopus aspilosomatis*. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 44: 143-157.