

Tesis de Licenciatura

Estudio sobre el condicionamiento alimentario en el Cangrejo *Chasmagnathus granulatus* : Nuevos parámetros de evaluación.

Rossen, Ariana

Tesis presentada para obtener el grado de Licenciado en
Ciencias Biológicas de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis de licenciatura de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the Six-Year Bachelor's Theses Collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Rossen, Ariana. (). Estudio sobre el condicionamiento alimentario en el Cangrejo *Chasmagnathus granulatus* : Nuevos parámetros de evaluación.. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000721_Rossen

Cita tipo Chicago:

Rossen, Ariana. "Estudio sobre el condicionamiento alimentario en el Cangrejo *Chasmagnathus granulatus* : Nuevos parámetros de evaluación.". Tesis de Licenciado. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. .

http://hdl.handle.net/20.500.12110/seminario_nBIO000721_Rossen

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

**Estudio sobre el Condicionamiento Alimentario
en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus*.
Nuevos parámetros de evaluación.**

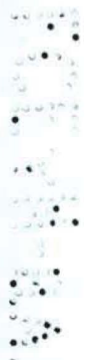
Autora: **Ariana Rossen**

Directora: **Dra. Gabriela Hermitte**

Laboratorio de Neurobiología de la Memoria
Departamento de Ciencias Biológicas

*Tesis para optar al Título de
Licenciada en Ciencias Biológicas*

Marzo de 2000



221-3

Agradecimientos:

Al Dr. Héctor Maldonado por haberme brindado la posibilidad de trabajar en el laboratorio y por guiar mi trabajo con dedicación y compromiso.

A la Dra. Gabriela Hermitte por aceptar ser mi Directora de Tesis y por enseñarme, corregirme y acompañarme con paciencia y esmero.

A la Dra. Beatriz Dimant por seguir tan de cerca mi trabajo con constancia y minuciosidad.

A mis Padres y a mi hermana Sonia que me han apoyado y han estado a mi lado en todo momento.

Al grupo del laboratorio que participaron de alguna u otra manera y que con su calidez hacen grato el trabajo diario. Gracias: Alejandro, Angel, Arturo, Carla, Charly, Daniel, Darío, Emiliano G, Emiliano M, Fernando, Julieta T, Julieta S, Lía, Martín, Miriam, Patricia, Ramiro.

A Damián por comprenderme y alentarme.

INDICE

Capítulo 1

INTRODUCCION	1
1.1 Diversos tipos de memoria en el cangrejo <i>Chasmagnathus granulatus</i>	1
1.2 Características del condicionamiento alimentario en <i>Chasmagnathus</i>	3
1.2.1 Ventana temporal de la disponibilidad asociativa.	3
1.2.2 Relación entre habituación exploratoria y condicionamiento alimentario.....	5
1.3 Parámetros de la evaluación.....	7
1.4 OBJETIVOS.....	9

Capítulo 2

METODOS	11
2.1 Animales	11
2.2 Captura y almacenamiento	12
2.3 Dispositivo experimental	13
2.4 Procedimiento experimental de entrenamiento y evaluación.....	15
2.4.1 Protocolo utilizado para el condicionamiento alimentario.	15
2.4.2 Protocolo utilizado para la habituación de la exploración.	16
2.4.3 Protocolo utilizado para el refuerzo diferido.....	16
2.5 Análisis de datos	18
2.6 Definiciones	19

Capítulo 3

ANALISIS DE LA HABITUACION Y EL CONDICIONAMIENTO ALIMENTARIO A TRAVES DE DOS PARAMETROS DE EVALUACION.....	21
3.1 Introducción	21
3.2 Procedimiento experimental.....	22
3.3 Resultados.....	23
3.3.1 Experimento 1:.....	23
3.3.2 Experimento 2:.....	25
3.3.3 Experimento 3:.....	27
3.4 Discusión	28

Capítulo 4

CURSO DE LOS PROCESOS DE HABITUACION Y CONDICIONAMIENTO ALIMENTARIO DURANTE UN ENTRENAMIENTO LARGO.	29
4.1 Introducción	29
4.2 Procedimiento experimental.....	29
4.3 Resultados.....	30
4.3.1 Experimento 1:.....	30
4.3.2 Experimento 2:.....	32
4.3.3 Experimento 3:.....	34
4.3.4 Experimento 4:.....	35
4.4 Discusión	37

Capítulo 5

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA HIPOTERMIA COMO AGENTE AMNESICO SOBRE EL CONDICIONAMIENTO ALIMENTARIO.....	40
5.1 Introducción	40
5.2 Análisis de la dosis y modalidad de la hipotermia efectiva para producir amnesia.....	41
5.2.1 <i>Procedimiento experimental:</i>	42
5.2.2 <i>Resultados:</i>	43
5.2.3 <i>Discusión:</i>	46
5.3 Efecto de la hipotermia sobre la ventana temporal de consolidación de la memoria	46
5.3.1 <i>Procedimiento experimental:</i>	48
5.3.2 <i>Resultados:</i>	48
5.3.3 <i>Discusión:</i>	50
5.4 Efecto de la hipotermia sobre distintos protocolos de entrenamiento	50
5.4.1 <i>Procedimiento experimental:</i>	51
5.4.2 <i>Resultados:</i>	51
5.4.3 <i>Discusión:</i>	53
5.5 Posible efecto de la hipotermia sobre la habituación exploratoria	53
5.5.1 <i>Procedimiento experimental:</i>	53
5.5.2 <i>Resultados y Discusión.</i>	54

Capítulo 6

CONCLUSIONES	55
--------------------	----

Capítulo 7

BIBLIOGRAFIA	57
--------------------	----

Capítulo 1

INTRODUCCION

1.1 Diversos tipos de memoria en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus*

Se ha destacado la importancia de contar con diversos modelos de memoria en un mismo animal cuando se propone estudiar e identificar los mecanismos que sirven a cada tipo de proceso (p.e. Koob y col., 1981). La estimulación de distintos sistemas neuroquímicos puede involucrar diferencialmente a diversos “canales” de memoria. Se entiende en este caso como “canal” a una forma de memoria específicamente susceptible a una influencia moduladora (Elisabetsky y col., 1979; Izquierdo, 1979).

En el cangrejo *Chasmagnathus granulatus*, extensos estudios sobre procesos mnésicos han permitido caracterizar dos tipos de memoria, desencadenadas por la presentación repetida de un **estímulo visual potencialmente peligroso** y evaluada por los cambios que se producen en el **comportamiento defensivo**. Se las identifica como Memoria Contexto Señal (MCS) y Memoria Señal (MS), respectivamente. Entre las diferencias más notables debe destacarse que la MCS es dependiente de un entrenamiento espaciado, asociativa, contexto específica y sensible a la cicloheximida, mientras que la MS es dependiente de la presentación masiva del estímulo iterativo, no-asociativa, independiente del contexto y no sensible a cicloheximida (Pedreira y col., 1995, 1997; Pereyra y col., 1996; Maldonado y col., 1997; Hermitte y col., 1998; Tomsic y col., 1998).

Con el objetivo de ampliar el estudio de diferentes tipos de memoria este trabajo se orientó hacia el **estímulo alimentario** y los **comportamientos**

exploratorio y de **búsqueda de alimento** en *Chasmagnathus* (Dimant, 1991; Dimant y Maldonado, 1992; Hermitte, 1995).

Cuando *Chasmagnathus* explora espontáneamente un ambiente nuevo se produce un notable despliegue de actividad exploratoria, durante la cual el cangrejo recorre el nuevo territorio en toda su extensión. De la misma forma es posible observar en el contexto experimental (p.e. la caja de actividad usada en la presente tesis) la actividad exploratoria del animal que escudriña especialmente rincones y bordes. Si debido al protocolo de entrenamiento, el cangrejo ingresa repetidamente al mismo contexto, luego de un corto intervalo de ausencia, se constata un decremento de la actividad exploratoria a lo largo de lo que se denomina **sesión de entrenamiento**. Tal disminución persiste durante la **sesión de evaluación**, 24 horas después del entrenamiento, y reúne las condiciones paramétricas de la **habituación exploratoria** (Dimant, 1991; Dimant y Maldonado, 1992).

Contrariamente, si el cangrejo halla comida en el contexto experimental durante cada **ensayo** de entrenamiento, es decir, si se le brinda alimento durante cada uno de los repetidos ingresos, el contexto pasa a tener valor predictivo del refuerzo comida. En estas condiciones se evidencia un mantenimiento y/o aumento de la actividad locomotora 24 horas luego del entrenamiento, lo que podría interpretarse como un comportamiento de Búsqueda Dirigida (goal-tracking behavior, Kemenes y Benjamin, 1989). Este tipo de aprendizaje ha sido denominado **condicionamiento alimentario**, donde el contexto (la caja experimental) es el estímulo condicionado (EC) y la comida el estímulo incondicionado (EI) (Dimant, 1991; Dimant y Maldonado, 1992; Hermitte, 1995). Si bien la ingesta de alimento aumenta la tasa metabólica del animal (Cervino y col., 1995) se ha descartado el efecto activador inespecífico de la comida como responsable de la mayor actividad dentro del contexto experimental (Dimant, 1991; Dimant y Maldonado, 1992; Hermitte, 1995).

1.2 Características del condicionamiento alimentario en *Chasmagnathus*

1.2.1 Ventana temporal de la disponibilidad asociativa.

Rescorla (1988) destaca un aspecto fundamental del aprendizaje asociativo, la **contigüidad**, es decir la relación temporal que permite establecer una relación contingente entre los estímulos. En diversos experimentos tanto de condicionamiento clásico como instrumental se encontró que dos eventos estrictamente simultáneos no pueden ser asociados, pero sí es posible asociarlos cuando existe un pequeño desfase temporal, siempre que el estímulo condicionado (EC) preceda al estímulo incondicionado (EI), enfatizando el carácter predictivo del estímulo condicionado.

El retardo óptimo EC-EI para el condicionamiento oscila mucho de acuerdo a la especie y tipo de paradigma, pero generalmente no excede los segundos (p.e. Kaspro; 1987; Nevine y col., 1987; Mazur, 1995; Reilly y MacPhail, 1995; Brown y col., 1997). Sin embargo, se dan casos excepcionales en que el retardo EC-EI puede ser de varias horas: un ejemplo de condicionamiento retardado lo brindan los trabajos realizados por García y Koelling (1966), García y col. (1968), Delamater y col. (1986) en condicionamiento aversivo en ratas. Este tipo de paradigma es considerado retardado (*delayed*) ya que el animal puede atribuirle un carácter aversivo al estímulo condicionado como resultado del malestar intestinal producido varias horas luego de la ingesta de comida. García y Koelling (1966) han sugerido que la funcionalidad de este condicionamiento aversivo retardado radica en el hecho que animales generalistas como las ratas, necesitan evaluar las propiedades de los alimentos que ingieren y para ello requieren del tiempo de la digestión. En síntesis, los datos sugieren que no existe un intervalo temporal absoluto que produzca el mejor condicionamiento a lo

largo del extenso rango de preparaciones conocidas. Los diferentes paradigmas comparten la forma general de la función pero no los valores absolutos (Rescorla, 1988).

Algunas complicaciones interpretativas surgen cuando se trata de entender una prolongada ventana temporal de disponibilidad asociativa desde una aproximación más mecanística, tomando como marco teórico el modelo de aprendizaje asociativo formulado por Hebb (1949) o la idea de las moléculas detectoras de coincidencia por Kandel y Schwartz (1982). Estos modelos que pretenden explicar los mecanismos que subyacen a la plasticidad neuronal, se basan en la modulación de la fuerza de transmisión de las sinapsis existentes. Esta posibilidad es generalmente asociada con la idea hebbiana de que si dos células o sistemas de células se encuentran repetidamente activos en el mismo momento, tenderán a ser asociados, de manera tal que la actividad en uno facilita la actividad en el otro. Según esta teoría, las conexiones celulares funcionan brevemente como sistemas cerrados en virtud de las relaciones temporales entre ellas. Es evidente que el requisito de una contigüidad estrecha aparece desatendido en los ejemplos de condicionamiento retardado. Cabe advertir sin embargo, que la **simultaneidad** EC-EI (es decir, el ejemplo extremo de contigüidad estrecha) tampoco se compadece con los requisitos más aceptados para un condicionamiento clásico.

En el caso del condicionamiento alimentario en *Chasmagnathus* se ha demostrado que la ventana EC-EI puede extenderse hasta aproximadamente una hora (Hermitte, 1995). El condicionamiento a la caja de actividad se da típicamente cuando los cangrejos son alimentados repetidamente durante el entrenamiento, dentro del contexto experimental; sin embargo, es posible encontrar ese condicionamiento cuando la comida es entregada hasta casi una hora después de finalizado el entrenamiento pero en otro contexto. Por el contrario, cuando se dejan pasar 4 horas entre la exposición a la caja (EC) y la comida (EI), no se observa un proceso de condicionamiento, sino de

habituaación. Es así como la caja que se explora tiene la posibilidad de cargarse con un significado positivo hasta una hora después. A pesar que el estímulo incondicionado (la comida) es presentado en un contexto diferente, la caja de actividad retiene la posibilidad por ese lapso de ser habilitada como estímulo condicionado. Por lo tanto, el condicionamiento alimentario en *Chasmagnathus*, puede ser otro caso más de condicionamiento retardado aunque con la peculiaridad de tratarse de un condicionamiento alimentario en lugar de aversivo.

1.2.2 Relación entre habituaación exploratoria y condicionamiento alimentario.

Con frecuencia se da la coexistencia de más de un tipo de aprendizaje, ya que la situación de entrenamiento por sí sola involucra un conjunto de elementos de distinta naturaleza que influyen y modifican la motivación y predisposición para responder (Izquierdo y Cavalheiro, 1976). El comportamiento de exploración le permite al animal obtener información del entorno y establecer nuevas contingencias a la vez que adquiere la habituaación al contexto. Experimentos realizados en ratas por Izquierdo (1979), Izquierdo y col. (1984), Izquierdo y Netto (1985) y más tarde por Netto y col. (1986) demostraron la independencia entre los dos aprendizajes, a pesar de su simultaneidad durante la adquisición. Se demostró que la administración post-entrenamiento de β -endorfina, leu-encefalina o de un choque electroconvulsivo, perjudican la retención de la habituaación (aumentan la actividad exploratoria) pero no afectan la retención del aprendizaje asociativo (menor latencia para llegar el bebedero cuando están sedientas), pudiendo interferir así con la formación de uno u otro tipo de aprendizaje separadamente.

Podrían distinguirse tres situaciones en el paradigma de condicionamiento alimentario en el cangrejo: a) Cuando no se ofrece comida

en el contexto experimental (caja de actividad), ya sea durante el entrenamiento o en cualquier otra fase posterior, la actividad exploratoria y locomotora tiende a disminuir, y el decremento también se observa durante la sesión de evaluación (**habituación**). b) Cuando el cangrejo encuentra comida en la caja durante los sucesivos ensayos de la sesión de entrenamiento, la actividad locomotora hacia el sitio donde encontró el refuerzo, tiende a aumentar. Este incremento también se manifiesta en la sesión de evaluación (**condicionamiento alimentario**). c) Cuando no se ofrece comida en el contexto experimental (caja de actividad) pero el refuerzo es entregado hasta una hora después en un contexto diferente, se observa un decremento de la actividad exploratoria durante la sesión de entrenamiento, pero un aumento durante la sesión de evaluación (**condicionamiento alimentario retardado**).

Puede ser entonces que en el caso de *Chasmagnathus* también se dé una coexistencia de dos procesos de aprendizaje que tienen en común un mismo contexto, aunque a diferencia de los ejemplos dados más arriba, (Izquierdo, 1979), se dispone aquí de una sola y misma variable (actividad exploratoria) para estimar tanto el grado de habituación como el condicionamiento, lo que complica la discriminación entre ambos procesos mnésicos si efectivamente los dos pudiesen darse al mismo tiempo.

Veamos las tres situaciones mencionadas anteriormente. En la situación a) se trata únicamente del proceso de habituación, es decir, el posible significado positivo del contexto se va diluyendo a lo largo de los sucesivos ensayos. En la situación b) la comida le otorga un significado positivo al contexto, pero puede ser que el condicionamiento así obtenido ocurra tanto a costa de la habituación como simultáneamente con ella. En efecto, el cangrejo asocia la caja con comida (condicionamiento), pero como la caja incluye otro conjunto de claves que durante el entrenamiento pueden no tener significado positivo, la habituación podría coexistir con el condicionamiento. Respecto a la situación c) ocurre sólo un proceso de

habituaación durante el entrenamiento, seguido de un condicionamiento que se hace efectivo fuera de la caja. La representaci3n del contexto ser3a codificada en posici3n “*hold-on*” (retenida) durante casi una hora y luego, cuando el animal recibe la comida, deviene est3mulo condicionado. Cabe aqu3, como en la situaci3n b) dos interpretaciones: o el condicionamiento retardado anula la habituaaci3n previa o ambos procesos persisten simult3neamente.

1.3 Par3metros de la evaluaci3n

El tipo de condicionamiento alimentario que se estudia en la presente Tesis, implica un cambio en el comportamiento exploratorio y locomotor del animal debido a una experiencia previa. De ah3 entonces que un aspecto metodol3gico muy relevante sea la variable que se elija para estimar el nivel de actividad exploratoria del animal. La bibliograf3a proporciona una gran variedad de ejemplos donde utilizan diversas mediciones para estimar las actividades locomotora y exploratoria. Una posibilidad es medir el tiempo que el animal emplea en cubrir la distancia entre dos puntos, tal como lo menciona Warman y col. (1991) en su trabajo con *Carcinus mediterraneus*, un cangrejo mediterr3neo que modifica su actividad locomotora con relaci3n a los cambios de salinidad. Otra posibilidad es utilizar el n3mero de cruzamientos a los hilos imaginarios de un cuadriculado colocado sobre un contenedor de pl3stico por unidad de tiempo. Tal es el caso de las mediciones realizadas en *Chasmagnathus granulatus* para determinar el tiempo que el animal transcurre en emersi3n o en inmersi3n (Schmitt y Santos, 1993). Otro par3metro que podr3a utilizarse es la latencia en salir de un compartimento para entrar en otro, medici3n que utilizan Reuter y Chung (1988), cuando entrenan ratones para elegir entre dos compartimentos donde se presenta un refuerzo positivo o negativo dependiendo del dise1o experimental. En los trabajos anteriores con *Chasmagnathus* (Dimant y

Maldonado, 1992; Hermitte, 1995), se midió el tiempo transcurrido desde que el animal abandonaba la caja de partida hasta que llegaba a una zona ubicada en el extremo opuesto de la caja, lo que ha sido denominado **latencia de llegada**. Como se explica en el Capítulo 2 de ésta Tesis, es posible que a partir de la medición de este **único** parámetro se pierda información en el análisis, por lo que sería conveniente evaluar el uso de otras variables que probablemente describan mejor los fenómenos a los que se hizo referencia, tal como la ventana temporal de disponibilidad asociativa.

1.4 OBJETIVOS

El propósito general de la presente Tesis es continuar y ampliar el estudio de la habituación exploratoria y el condicionamiento alimentario en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus*, centrándose en los siguientes objetivos:

1. *Analizar la habituación exploratoria y el condicionamiento alimentario a través de otros parámetros de evaluación.*

Se propone reproducir experimentos de estudios previos sobre habituación exploratoria y condicionamiento alimentario, usando un nuevo dispositivo experimental que cuenta con nuevos parámetros que permitirían la evaluación de cambios en el comportamiento exploratorio y locomotor.

2. *Analizar el curso temporal de la habituación exploratoria y el condicionamiento alimentario durante un entrenamiento prolongado.*

Mediante un entrenamiento intensivo de 3 días, se pretende estudiar el curso temporal de ambos aprendizajes, así como lograr más precisión acerca de los límites de la ventana de disponibilidad asociativa en el condicionamiento alimentario.

3. *Comenzar el estudio mecanístico de la habituación exploratoria y del condicionamiento alimentario mediante el uso de agentes potencialmente amnésicos.*

Se sabe que la hipotermia actúa como agente amnésico en diversos tipos de memoria, ya sea durante la adquisición o la consolidación (p.e. Tully y col., 1994; Xia y col., 1998; Botzer y col., 1999). En el presente trabajo se

explora el posible efecto de este agente en *Chasmagnathus*, con el propósito de utilizarlo como herramienta efectiva para discriminar los dos procesos mnésicos, así como determinar en cada uno de ellos, las distintas etapas mnésicas de adquisición y consolidación.

Capítulo 2

METODOS

2.1 Animales

Chasmagnathus granulatus es un cangrejo eurihalino semiterrestre de la familia Grapsidae. Habita en la zona costera desde el sur de Brasil, Uruguay y Argentina y ocupa los bancos de limo mesolitoral y supratropical de la zona de transición de agua dulce y marina.



FOTOGRAFÍA 1: Muestra un cangrejo macho de la especie *Chasmagnathus granulatus*.

Estos animales viven en un sustrato barroso donde construyen sus cuevas. Se los encuentra formando comunidades muy numerosas con una densidad que alcanza los 120 animales por m². Las cuevas son ocupadas

tanto en forma individual como grupal y se encuentran dispuestas muy próximas entre sí.

Esta especie ocupa un ambiente ecológico dominado por espartinas del género *Spartina alterniflora* o *Spartina densiflora* ambas de largas hojas erguidas que van de los 0.3 a los 2 m de alto con una densidad de puede superar los 8000 g/ m².

2.2 Captura y almacenamiento

Los animales utilizados para el presente trabajo, fueron cangrejos machos de la especie *Chasmagnathus granulatus* de 2.7-3.1 cm de ancho del caparazón.

Los mismos fueron capturados en las rías de la zona de San Clemente del Tuyú en la provincia de Buenos Aires y transportados al laboratorio en un equipo especialmente diseñado para tal fin. Una vez en el laboratorio, son mantenidos en cubas de plástico (35 x 48 x 27 cm) con 2 cm de agua salada al 12‰, en número de alrededor de 20 animales por caja. Las recolecciones se realizan en forma periódica cada 15-20 días. El agua utilizada para los experimentos y para el mantenimiento de los animales es preparada con sal hW-Marinex (Winex-Germany) cuya salinidad puede variar entre 12‰ - 14‰ y el pH entre 7.4-7.6.

Los animales son mantenidos en una habitación (cangrejario) con un ciclo de luz/oscuridad de 12 hs (8:00-20:00 hs) y alimentados con pellets de alimento para conejo (Nutrientes SA, Argentina) 48 hs antes del comienzo de cada entrenamiento. Luego de la alimentación se limpia y renueva el agua de la cuba. La temperatura tanto del cangrejario como de la habitación destinada a la experimentación, se mantiene dentro de un rango de 19°-23°C. Los experimentos se realizan entre el 2° y el 6° día después de la

llegada de los animales al laboratorio, entre las 8:00 y las 16:00 horas. Cada animal es utilizado en un solo experimento.

Los experimentos tienen lugar durante todo el año con una menor actividad en los meses de invierno. Antes de comenzar un experimento los animales son sometidos a un test de selección: cada cangrejo es dado vuelta apoyándolo sobre su región dorsal y sólo si el sujeto se incorpora rápidamente recuperando su postura original es utilizado en el experimento. El fundamento para esta selección es que los sujetos con reacción lenta suelen morir pocos días después.

2.3 Dispositivo experimental

La unidad experimental utilizada en este trabajo recibe el nombre de **caja de actividad** (Figura 1). Cada unidad experimental consiste en una caja de plástico de 15 x 52,5 x 25 cm, donde una puerta guillotina (P) accionada por un motor eléctrico (M) separa a la caja en dos compartimentos: uno oscuro (CO) de 12,5 cm de largo y otro claro (CC) de 40 cm de largo. El compartimento oscuro (CO), se encuentra tapado por un techo rebatible (TR), y sus paredes internas están pintadas de negro. Por el contrario las paredes del compartimento claro (CC) están pintadas de blanco y es iluminado con una luz tenue mediante una lámpara (L). El piso de la caja es removible para facilitar su limpieza. Una capa de agua de 0.5 cm cubre el piso de ambos compartimentos. Dos sistemas emisor-receptor de infrarrojo, montados sobre un dispositivo como arcada son colocados en posición 1 y 2. La arcada 1 está ubicada junto a la puerta guillotina (extremo proximal), pudiendo detectarse así la salida del cangrejo desde el compartimento oscuro al claro. La otra arcada se ubica al final de la caja (extremo distal) pudiendo detectarse así la llegada del cangrejo al lugar del refuerzo. El mismo se coloca eventualmente sobre una plataforma cuadrada de 1 cm de

lado elevado levemente del piso (PL) ubicada en el extremo distal. Ambos sistemas infrarrojos están conectados a una computadora para registrar los momentos de paso del animal. Se trabaja con 20 cajas accionadas simultáneamente e instaladas en un cuarto experimental aislado.

Dispositivo experimental: **Caja de Actividad**

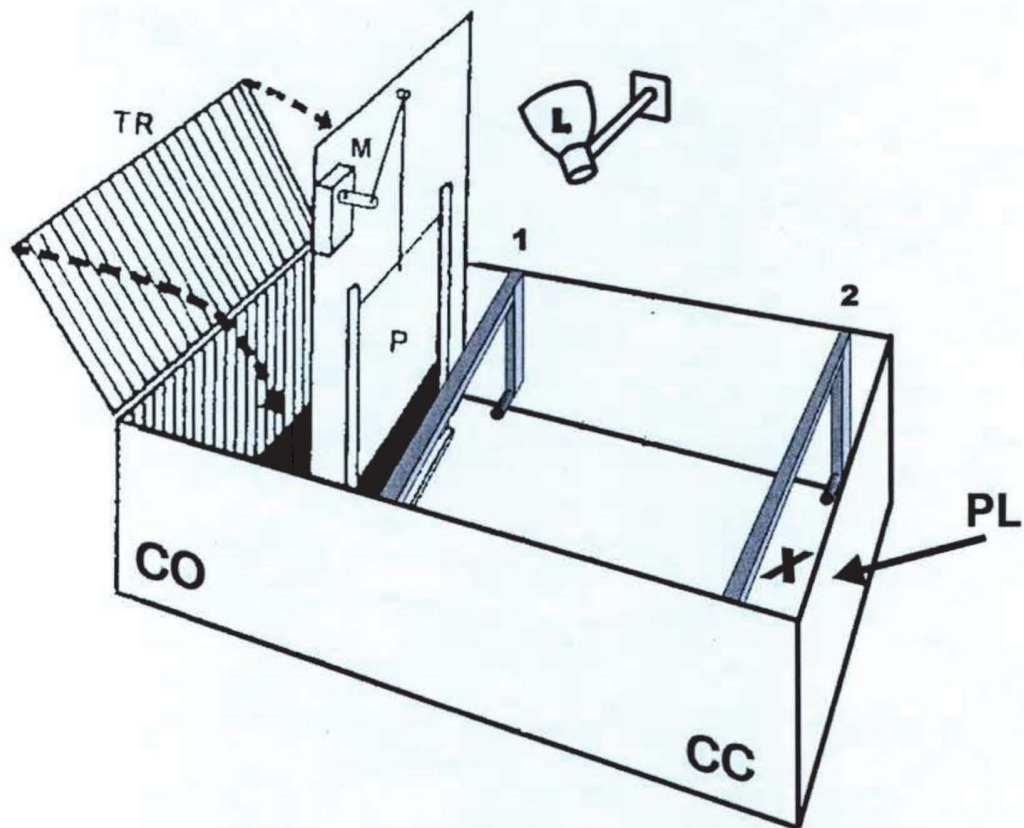


FIGURA 1: Cada unidad experimental consiste de una puerta guillotina (P), la cual es accionada por un motor eléctrico (M) que separa a la caja en dos compartimentos, uno oscuro (CO) y otro compartimento claro (CC). El compartimento oscuro se encuentra tapado por un techo rebatible (TR). Dos sistemas emisor-receptor son colocados en el extremo proximal (Posición 1) y en el extremo distal (Posición 2). La comida se coloca eventualmente sobre la plataforma (PL). Durante la experimentación la iluminación es tenue (lámpara (L)).

2.4 Procedimiento experimental de entrenamiento y evaluación

2.4.1 Protocolo utilizado para el condicionamiento alimentario.

Los animales se colocan individualmente en el compartimento oscuro (CO) de la caja de actividad con la puerta baja. Sobre la plataforma (PL) en el extremo distal, se ubica el pellet de alimento para conejo (1 pellet equivale a 3 mg). Luego de 10 minutos de adaptación se da comienzo al primer **ensayo** y se levanta la puerta guillotina (P) permitiendo de esta forma que el animal pueda desplazarse desde el compartimento oscuro (CO) al claro (CC). Si el animal pasa al CC dentro de los 10 minutos, se registra el tiempo que transcurre entre el momento en que se levanta la puerta y aquél en el que el animal interrumpe el haz en posición 1 (**latencia de salida**). Por el contrario, si el cangrejo permanece sin salir (en CO) durante los 10 minutos, la puerta guillotina se cierra automáticamente y la latencia se computa como igual a 600 segundos. Cuando el animal ha salido antes de los 10 minutos la puerta permanece abierta por 5 minutos más. Este tiempo es el que dispone el animal para recorrer la caja y obtener el refuerzo. Cuando el cangrejo interrumpe el haz en posición 2, se registra el tiempo transcurrido (**latencia de llegada**). El programa de la computadora permite calcular la diferencia entre ambas latencias, o sea el tiempo que el animal emplea en cubrir la distancia (**recorrido**). Por el contrario, si el animal no interrumpe el haz 2 durante los últimos 5 minutos, el recorrido se computa como igual a 600 segundos.

Una vez concluido el tiempo dispuesto para recorrer, explorar la caja y obtener el refuerzo, se induce a los animales a regresar al CO y se baja manualmente la puerta. Cuando todos los cangrejos han regresado al CO y todas las puertas han sido cerradas se da por finalizado el primer ensayo. Pasados 5 minutos de intervalo, se da comienzo a un nuevo ensayo. Cada **sesión de entrenamiento** comprende 5 ensayos, al final de los cuales los

animales son alojados en forma individual en recipientes circulares con 1 cm de agua y mantenidos allí 24 horas, hasta la sesión de evaluación, o bien, hasta el día siguiente de entrenamiento (si se trata de un experimento con entrenamiento prolongado). Aquellos animales que obtienen valores de latencia de salida igual a 600 segundos en tres ensayos o más durante la primera sesión de entrenamiento, son eliminados del experimento por considerarse que no han tenido contacto suficiente con el contexto experimental.

La **sesión de evaluación** se efectúa siguiendo el mismo procedimiento que durante el entrenamiento con la única diferencia que no se coloca alimento en la caja.

2.4.2 Protocolo utilizado para la habituación de la exploración.

El protocolo de entrenamiento y evaluación se realiza de la misma manera que para el condicionamiento, con la diferencia que estos animales no son alimentados en la caja de actividad durante el entrenamiento.

2.4.3 Protocolo utilizado para el refuerzo diferido.

En varios experimentos de esta Tesis, el refuerzo no es ofrecido durante el entrenamiento y en la caja exploratoria, sino **después** del entrenamiento y en los que llamaremos **recipientes de refuerzo diferido**. Estos recipientes consisten en cilindros plásticos circulares (20 x 15 cm) donde se colocan 5 pellets de alimento, que representa la misma cantidad de comida que reciben los animales que son entrenados en la caja de actividad durante el condicionamiento alimentario. El tiempo que disponen para la alimentación es de 30 minutos. Una vez finalizado el mismo, son trasladados a otros recipientes donde pasarán 24 horas hasta el momento de la evaluación, o

bien hasta el siguiente día de entrenamiento si el experimento consiste de tres días de entrenamiento.

La **sesión de evaluación** se efectúa siguiendo el mismo procedimiento que durante el entrenamiento con la única diferencia que los animales no son alimentados.

El dispositivo experimental utilizado en los experimentos anteriores a esta Tesis (Figura 2 a), contenía un solo sistema emisor-receptor colocado en la posición 2, evaluándose el comportamiento exploratorio y locomotor a partir de la medición de una sola variable. En estas condiciones la motivación para llegar a la meta podía confundirse con el primer impulso realizado por el animal para salir del compartimento oscuro. Con el propósito de posibilitar una mejor discriminación del comportamiento, el dispositivo experimental fue modificado (Figura 2 b). El compartimento claro se extendió aproximadamente 3 veces el largo del dispositivo utilizado previamente y se utilizó un doble sistema emisor-receptor. De esta forma es posible registrar un mayor número de variables que presumiblemente estén expresando distintas motivaciones: la **latencia de salida (latencia)** podría estar estimando la **motivación a salir** del cangrejo (p.e. cuanta menor latencia, mayor motivación a salir); mientras que, el **recorrido** sería una estimación de la **motivación exploratoria** y/o del aumento de algún comportamiento dirigido a la meta (goal tracking behavior).

Esquema de las modificaciones a la Caja de Actividad

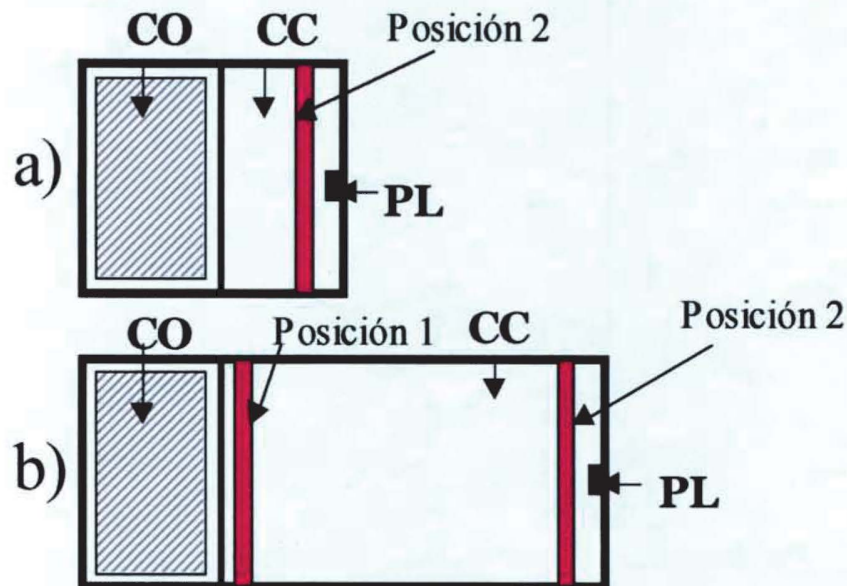


FIGURA 2: Se comparan las modificaciones que se realizaron a las cajas de actividad.

- a) En el panel superior se representa la caja de actividad utilizada en los trabajos previos. La misma presenta un solo sistema emisor- receptor ubicado en el extremo distal (posición 2). El tamaño de la caja es 15 x 25 x 25 cm, siendo el compartimento claro de 12.5 cm. de largo.
- b) En el panel inferior se muestra la caja utilizada en el presente trabajo. Se presentan los dos sistemas emisor-receptor, uno ubicado en el extremo proximal (posición 1) y el otro en el extremo distal (posición 2). El tamaño de la caja es de 15 x 52,5 x 25 cm., siendo el largo del compartimento claro de 40 cm.

En ambas cajas el alimento es colocado, eventualmente, sobre una plataforma (PL) ubicada en el extremo distal. El compartimento oscuro (CO) se representa con rayas.

2.5 Análisis de datos

El aprendizaje fue ponderado a través del análisis de los datos de la sesión de evaluación de dos grupos que difieren entre sí por el tratamiento administrado a uno de ellos, durante el entrenamiento. En todos los

experimentos realizados se utilizó un test de Student a dos colas (Rosenthal y Rosnow, 1985) para evaluar las diferencias entre dos medias. Los datos utilizados para el análisis fueron los bloques de ensayos de 2 al 5 tanto del entrenamiento como de la evaluación.

En el caso de los experimentos de entrenamiento prolongado, las modificaciones de la actividad exploratoria fueron únicamente analizadas en aquellos animales que habían recibido un protocolo con **refuerzo diferido** y que por lo tanto dentro de la caja de actividad solo recibieron un entrenamiento de habituación. Debido a que estos grupos reciben el mismo tratamiento dentro de la caja de actividad durante los tres días de entrenamiento y en la evaluación, es posible comparar su evolución a lo largo de los días. Para ello se comparó el primer día de entrenamiento contra su *performance* en el día de evaluación para cada grupo Diferido. Estas comparaciones también se realizaron con un test de Student a dos colas.

2.6 Definiciones

Definición de términos que están relacionados con el dispositivo experimental.

- Latencia de salida:

Tiempo que tarda el animal en cruzar el haz proximal (posición 1) desde el momento en que se levanta la puerta guillotina.

- Latencia de llegada:

Tiempo que tarda el animal en cruzar el haz distal (posición 2) desde el momento en que se levanta la puerta guillotina.

-
- Tiempo de recorrido:

El tiempo que tarda en realizar el trayecto desde el haz proximal (posición 1) hasta cruzar el haz distal (posición 2).

- Motivación a salir:

Este término expresa la tendencia a salir desde el compartimento oscuro (CO) una vez que la puerta guillotina fue levantada.

- Motivación exploratoria:

Este término expresa la tendencia a recorrer el compartimento claro (CC).

Capítulo 3

ANÁLISIS DE LA HABITUACIÓN Y EL CONDICIONAMIENTO ALIMENTARIO A TRAVÉS DE DOS PARÁMETROS DE EVALUACIÓN

3.1 Introducción

El **hecho experimental básico** de los estudios previos sobre condicionamiento alimentario y habituación exploratoria en *Chasmagnathus* (Dimant, 1991; Dimant y Maldonado, 1992; Hermitte, 1995), puede resumirse en los siguientes términos. Si a un grupo de cangrejos (grupo **Sin Alimentar**) se le permite explorar cinco veces el CC de la caja de actividad (Figura 2 a) sin recibir comida, mientras que a otro grupo (grupo **Simultáneo**) se le ofrece comida durante cada una de las cinco veces que explora; luego, durante una evaluación a 24 horas, el segundo presenta valores de latencia de llegada menores que el primero. Se demostró que en el grupo **Sin Alimentar** ha habido una **habituación exploratoria**, puesto que su latencia de llegada en la evaluación era mayor que la de un grupo que nunca había estado en la caja. Por otro lado, se demostró que la menor latencia de llegada del **Simultáneo** respecto al **Sin Alimentar** durante la evaluación, no se debía a un efecto metabólico activador de la comida (Cervino y col., 1995) sino a un efecto mnésico (Hermitte, 1995). En efecto, cuando se repitió el diseño experimental, pero usando en lugar del **Sin Alimentar**, un grupo que recibía comida cuatro horas después del entrenamiento y en un recipiente diferente (grupo **Diferido 4**), los resultados de la evaluación concordaron con el hecho experimental básico, es decir, las latencias de llegada del **Diferido 4** eran estadísticamente mayores que las del **Simultáneo**. Por el contrario cuando un grupo fue alimentado inmediatamente después de finalizado el entrenamiento en la caja de actividad (**Diferido 0**) pero en un contexto

diferente y se comparó su *performance* en la evaluación con un grupo **Simultáneo** y con un grupo **Diferido 4**, los dos primeros presentaron valores de latencia de llegada estadísticamente diferentes respecto al **Diferido 4** y prácticamente iguales entre sí. Cabe destacar que fue descartada la posibilidad de que la mayor actividad locomotora sea debida a una coincidencia circadiana entre el momento de la evaluación y el momento de la ingesta (Hermitte, 1995).

Los experimentos del presente Capítulo se llevaron a cabo con el propósito de validar con el nuevo dispositivo (Figura 2 b): 1°) El hecho experimental básico, analizando las nuevas variables de registro (latencia y recorrido), 24 horas después de una sola sesión de entrenamiento. 2°) La extensión de la ventana de disponibilidad asociativa entregando la comida en un contexto diferente al de la caja de actividad, 4 horas o inmediatamente después del entrenamiento en la misma.

3.2 Procedimiento experimental

Se realizan tres experimentos donde se comparan dos grupos (cada grupo N = 40). En los tres casos, uno de los grupos es el que recibe alimento dentro de la caja de actividad en cada ensayo durante la sesión de entrenamiento (grupo **Simultáneo**). En el Experimento 1 el segundo grupo del par es el grupo **Sin Alimentar** que no recibe alimento en ningún momento de la sesión de entrenamiento; en el Experimento 2 es el grupo **Diferido 4**, al que se le presenta la comida (durante 30 minutos) en los recipientes de refuerzo diferido, cuatro horas después de finalizada la sesión de entrenamiento en la caja de actividad; y en el Experimento 3 es el grupo **Diferido 0**, al que se le presenta la comida (durante 30 minutos) en los recipientes de refuerzo diferido, inmediatamente después del entrenamiento en la caja de actividad.

3.3 Resultados

3.3.1 Experimento 1:

En la Figura 3 se observan las curvas de entrenamiento y evaluación. El análisis de la latencia y el recorrido muestra que en el día del entrenamiento el grupo que no recibe alimento (**Sin Alimentar**) evidencia un paulatino decremento en la actividad exploratoria que se refleja como un aumento en los valores de latencia y de recorrido relativos a aquél del primer ensayo.¹ Por otro lado, el grupo que recibe alimento dentro de la caja (**Simultáneo**) mantiene valores de latencia y recorrido semejantes al valor inicial. Estos resultados son similares a los valores de latencia de llegada obtenidos con el diseño experimental básico, aunque usando la anterior caja de actividad, pudiendo así tomarse como modelos representativos de curvas de entrenamiento sin comida y con comida. En algunas pocas excepciones puede encontrarse que el grupo que se habitúa presenta un valor inicial menor, aunque no significativo, con respecto al grupo que se va a condicionar. Sin embargo, el hecho general es que, ya durante el entrenamiento el grupo **Simultáneo** muestre mayor motivación a salir y a explorar, comparado con el grupo **Sin Alimentar**, lo que no debe ser interpretado necesariamente como una manifestación inicial de aprendizajes distintos. Es posible que la mayor motivación del **Simultáneo** respecto al **Sin Alimentar** en el ensayo **n+1**, sea consecuencia del cambio metabólico producido por ingesta de comida en el ensayo **n**. Además, es necesario recordar que el cangrejo suele arrastrar comida durante su regreso al compartimento oscuro (CO), de manera que la mayor motivación del

¹ En las Figuras correspondientes de esta Tesis se indica con una flecha a la derecha de los gráficos, que los cambios en valores de latencia y recorrido están siempre acompañados por un cambio en la motivación de salida o exploratoria de sentido inverso.

Simultáneo puede estar provocada por los restos de alimento esparcidos a lo largo de la caja.

Las curvas obtenidas en la sesión de evaluación indican que el grupo **Simultáneo**, a pesar de no encontrar alimento en la caja de actividad, muestra valores de latencia y recorrido menores (mayor motivación de salida y exploratoria) que los del grupo **Sin Alimentar**. Para comparar a los grupos se utiliza el bloque de los ensayos 2 al 5 de la evaluación, teniendo en cuenta que muy frecuentemente no se dan diferencias en el ensayo 1, lo que ha conducido a sugerir que este ensayo de la evaluación actuaría como recordatorio (Dimant, 1991; Dimant y Maldonado, 1992; Tomsic y col., 1993). El análisis estadístico sobre los datos de estos bloques de evaluación (panel derecho, Fig. 3), reveló diferencias significativas entre ambos grupos tanto para la latencia ($t(1,78) = 2.73$; $p < 0.05$) como para el recorrido ($t(1,78) = 2.47$; $p < 0.05$), confirmando el resultado experimental básico (Dimant, 1991; Hermitte, 1995).

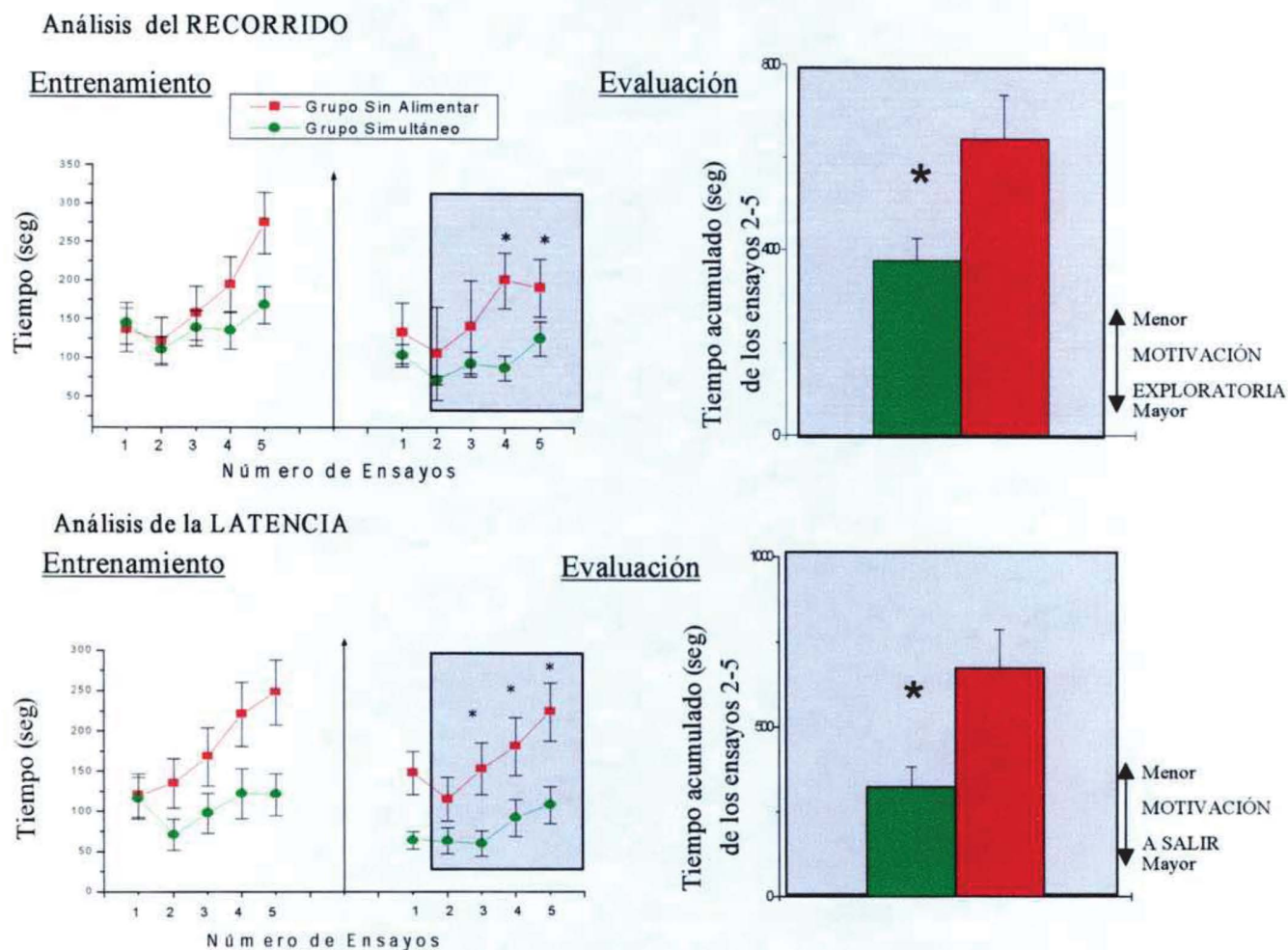


FIGURA 3: Comparación entre un grupo alimentado dentro del dispositivo experimental durante el entrenamiento (Simultáneo) y un grupo que no recibió alimento (Sin alimentar). El histograma representa el bloque de ensayos 2 al 5 de la evaluación. (*) Diferencias estadísticamente significativas en la evaluación.

3.3.2 Experimento 2:

Los resultados de la comparación entre el grupo **Diferido 4** y el grupo **Simultáneo** (durante la evaluación) se muestran en la Figura 4. Las curvas de entrenamiento (datos no mostrados) son similares a aquellas obtenidas

para el Experimento 1 (**Sin Alimentar** vs. **Simultáneo**). Respecto a la evaluación, los resultados son también similares con relación al recorrido, pero no así para la latencia. En efecto, el análisis estadístico de los datos correspondientes al bloque de ensayos 2 al 5 indica una diferencia intergrupos significativa para el recorrido ($t(1,78)= 2.18, p<0.05$), pero la diferencia para las latencias no alcanza el nivel de significancia.

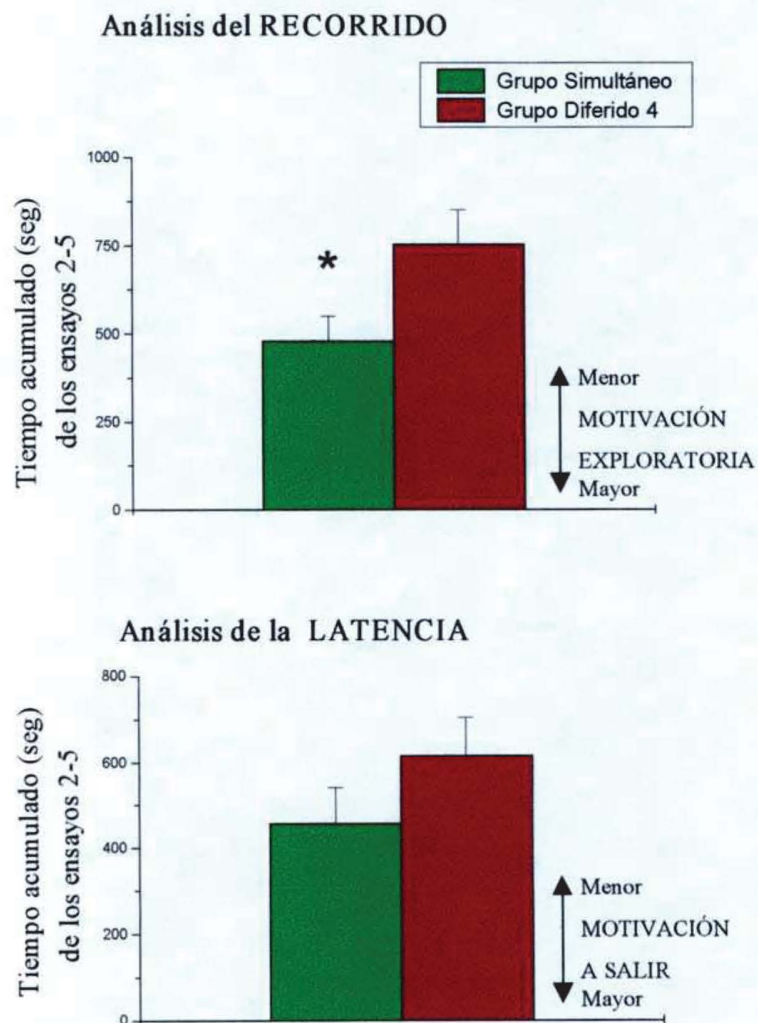


FIGURA 4: Comparación entre un grupo alimentado dentro de la caja durante el entrenamiento (Simultáneo) y un grupo que recibió comida en los recipientes de refuerzo diferido, cuatro horas después de finalizada la sesión de entrenamiento en la caja de actividad (Diferido 4).

Se graficó en histograma el bloque de ensayos 2 al 5 de la evaluación.

(*) Diferencias estadísticamente significativas en la evaluación.

3.3.3 Experimento 3:

En la Figura 5 se observan los resultados obtenidos para **Simultáneo** vs. **Diferido 0**. Las curvas para el entrenamiento son similares a los anteriores experimentos (datos no mostrados), pero durante la evaluación, los valores para latencia y recorrido de los dos grupos son prácticamente iguales.

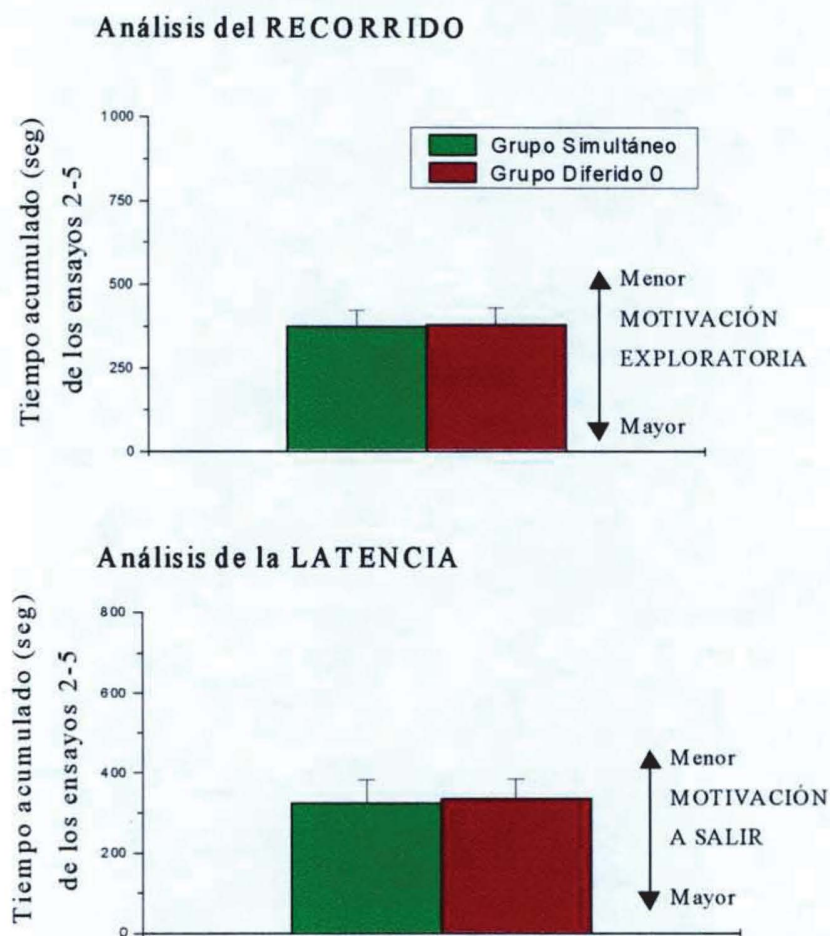


FIGURA 5: Comparación entre un grupo alimentado dentro de la caja durante el entrenamiento (Simultáneo) y un grupo que recibió comida en los recipientes de refuerzo diferido, inmediatamente después de finalizada la sesión de entrenamiento en la caja de actividad (Diferido 0).

Se grafica en forma de histograma el bloque de ensayos 2 al 5 de la evaluación.

3.4 Discusión

Los resultados de este Capítulo conducen a las siguientes conclusiones:

a.- Se confirma el resultado experimental básico, usando el nuevo dispositivo. En la evaluación a 24 horas, tanto el recorrido (motivación exploratoria) como la latencia (motivación a salir) son menores para un grupo que se ha habituado (**Sin Alimentar**) que para uno que ha sido entrenado en un condicionamiento alimentario (**Simultáneo**).

b.- La motivación exploratoria del grupo **Diferido 4** durante la evaluación es menor que la del **Simultáneo** según el parámetro de recorrido. Este resultado confirma el obtenido previamente midiendo la latencia de llegada en el anterior dispositivo experimental (Dimant y Maldonado, 1992; Hermitte, 1995); y descarta la posibilidad de que la diferencia hallada entre **Sin Alimentar** y **Simultáneo** en el Experimento 1 se deba a un efecto metabólico. Sin embargo, la diferencia no alcanza a ser significativa para el parámetro latencia de salida. Una posible explicación para esta incongruencia es que la motivación a salir (expresada por la variable latencia) es menos susceptible que la motivación exploratoria (expresada por la variable del recorrido) a una disminución por el entrenamiento de habituación. En el Capítulo 4 volveremos sobre este tema.

c.- La similitud entre **Diferido 0** y **Simultáneo** durante la evaluación, respecto a ambos parámetros, ratifica los resultados previos: la contingencia experimental entre el contexto y el alimento durante el entrenamiento produce un condicionamiento alimentario, aunque la comida sea ofrecida en otro contexto e inmediatamente después del entrenamiento.

Capítulo 4

CURSO DE LOS PROCESOS DE HABITUACION Y CONDICIONAMIENTO ALIMENTARIO DURANTE UN ENTRENAMIENTO LARGO.

4.1 Introducción

Se pretende estudiar los procesos de habituación exploratoria y condicionamiento alimentario, a lo largo de tres días de entrenamiento. Para ello se estiman los valores de las variables de medición (recorrido y latencia) durante cada sesión de entrenamiento y la de evaluación. Se intenta asimismo determinar el intervalo máximo que permite sostener la asociación entre el contexto de la caja experimental y el refuerzo.

4.2 Procedimiento experimental

Se entrenaron 40 animales por cada grupo, durante tres días consecutivos, con una sesión de evaluación al cuarto día. Cada experimento incluye un grupo **Simultáneo** (diseño idéntico al del Capítulo 3) que recibe el alimento dentro de la caja de actividad durante el entrenamiento; y un grupo que recibe el alimento fuera de la caja experimental, ya sea, cuatro horas después del entrenamiento en la caja de actividad (**Diferido 4**) (Experimento 1), inmediatamente después (**Diferido 0**) (Experimento 2), después de una hora (**Diferido 1**) (Experimento 3), o después de dos horas y media (**Diferido 2**) (Experimento 4). A los grupos diferidos se le presenta la comida durante 30 minutos en los recipientes de refuerzo diferido.

4.3 Resultados

4.3.1 Experimento 1:

Los resultados de este experimento son exhibidos en la Figura 6. En la misma se observa que durante los días de entrenamiento, el **Diferido 4** muestra una tendencia definida a aumentar los tiempos de recorrido y latencia; mientras que los respectivos tiempos del **Simultáneo** se mantienen alrededor de un mismo valor.

En la evaluación, los valores del **Simultáneo**, tanto en recorrido como en latencia, son significativamente menores que los valores correspondientes del **Diferido 4** ($t(1,78) = 2.38$, $p < 0.05$, para recorrido; $t(1,78) = 1.98$, $p < 0.05$, para latencia). La diferencia entre el Día 1 de entrenamiento y el día de evaluación, para el **Diferido 4**, es significativa en recorrido ($t(1,78) = 5.5$; $p < 0.005$) y latencia ($t(1,78) = 6.2$; $p < 0.005$).

Es importante destacar que no es posible analizar estadísticamente la evolución del **Simultáneo** entre el Día 1 de entrenamiento y el día de la evaluación debido a que la contingencia experimental es diferente en ambas situaciones. La ausencia de alimento en la evaluación explicaría el aumento observado en los tiempos de recorrido y latencia debido un fenómeno de extinción (Fantino y Logan, 1980).

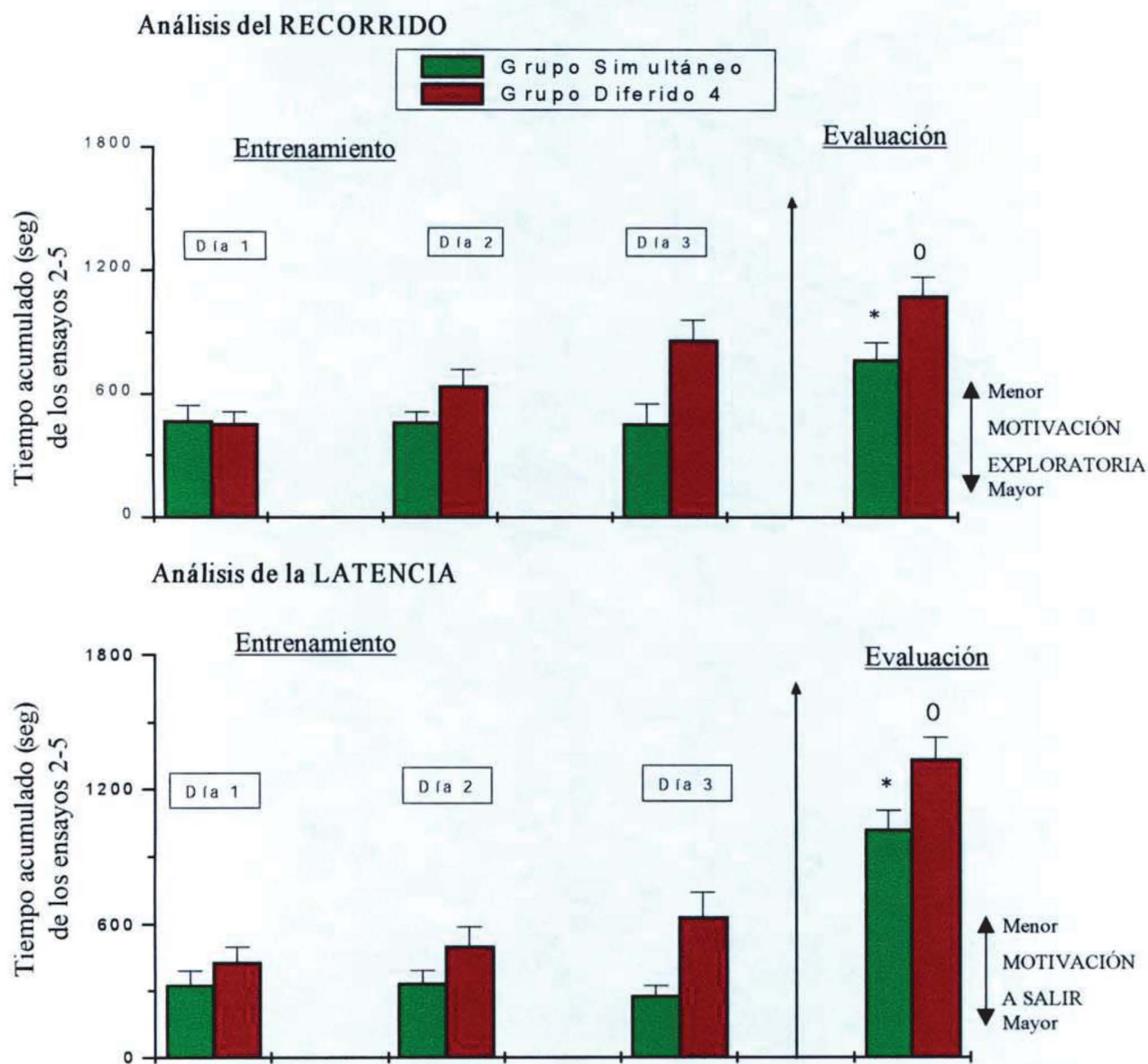


FIGURA 6: Comparación entre un grupo alimentado dentro de la caja durante el entrenamiento (Simultáneo) y un grupo que recibió comida en los recipientes de refuerzo diferido, cuatro horas después de finalizada la sesión de entrenamiento en la caja de actividad (Diferido 4).

El histograma representa el bloque de ensayos 2 al 5 de la evaluación.

(*) Diferencia significativa entre los grupos durante la evaluación.

(o) Diferencia significativa entre el Día 1 del entrenamiento y el día de la evaluación en el grupo Diferido 4.

4.3.2 Experimento 2:

El cuadro de resultados para el contraste **Diferido 0** vs. **Simultáneo** (Figura 7) es claramente distinto al obtenido en el Experimento 1. No hay diferencia significativa en la evaluación entre los grupos, ni para el recorrido ni para la latencia, ni se percibe un tren de aumento en los valores de **Diferido 0** para ninguna de las dos variables cuando se compara el Día 1 de entrenamiento contra el día de evaluación.

La evolución del **Simultáneo** entre el Día 1 de entrenamiento y la evaluación no se analiza debido a que las condiciones del entrenamiento y la evaluación son distintas. El aumento que se percibe durante la evaluación podría explicarse por un fenómeno de extinción, como se mencionó en el Experimento 1.

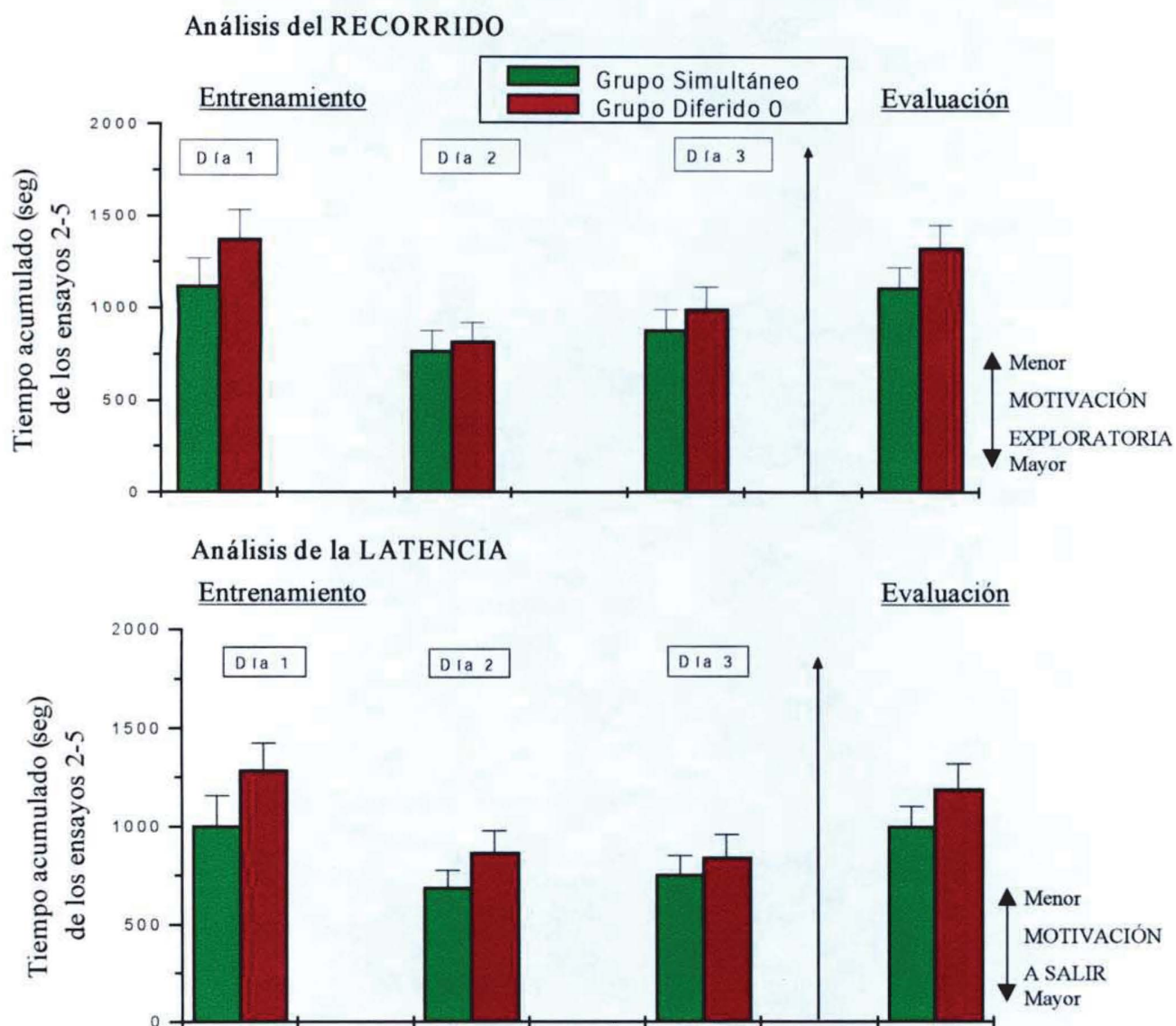


FIGURA 7: Comparación entre un grupo alimentado dentro de la caja durante el entrenamiento (Simultáneo) y un grupo que recibió comida en los recipientes de refuerzo diferido, inmediatamente después de finalizada la sesión de entrenamiento en la caja de actividad (Diferido 0).

El histograma representa el bloque de ensayos 2 al 5 de la evaluación.

4.3.3 Experimento 3:

A semejanza de lo ocurrido en el experimento anterior, no hay diferencia significativa entre **Diferido 1** y **Simultáneo** durante la evaluación, para ninguna de las dos variables (Figura 8). Sin embargo, a diferencia del **Diferido 0**, el grupo **Diferido 1** exhibe un incremento significativo en recorrido [$t(1,78) = 2.61, p < 0.01$] y en latencia [$t(1,78) = 2.02, p < 0.05$] cuando se compara el Día 1 de entrenamiento con el día de evaluación.

Los cambios entre el Día 1 de entrenamiento y la evaluación en el **Simultáneo** no se analizan por el motivo anteriormente expuesto.

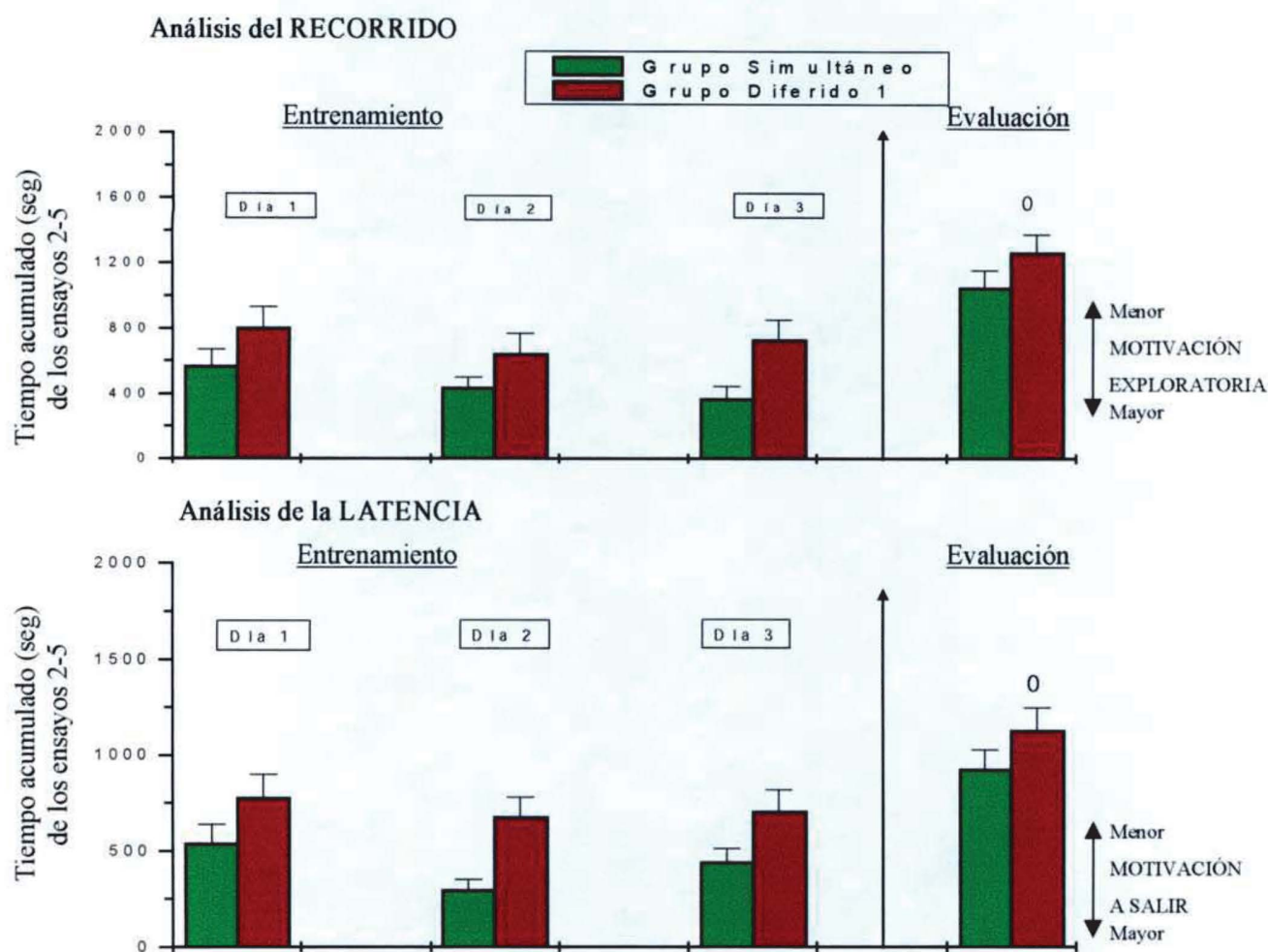


FIGURA 8: Comparación entre un grupo alimentado dentro de la caja durante el entrenamiento (Simultáneo) y un grupo que recibió comida en los recipientes de refuerzo diferido, una hora después de finalizada la sesión de entrenamiento en la caja de actividad (Diferido 1).

El histograma representa el bloque de ensayos 2 al 5 de la evaluación.

(0) Diferencia estadística entre el Día 1 de entrenamiento y el día de la evaluación para el grupo Diferido 1.

4.3.4 Experimento 4:

El cuadro que presenta los resultados del Experimento 4 (Figura 9) es muy semejante al del Experimento 3. No hay diferencias significativas entre grupos durante la evaluación. El **Diferido 2**, muestra una tendencia al

aumento, si se comparan los valores de ambas variables del día de evaluación con las del Día 1 de entrenamiento [recorrido, $t(1,78)= 2.49$; $p<0.025$; latencia $t(1,78)= 2.21$; $p<0.05$]. Esta comparación no es válida en el caso del **Simultáneo**.

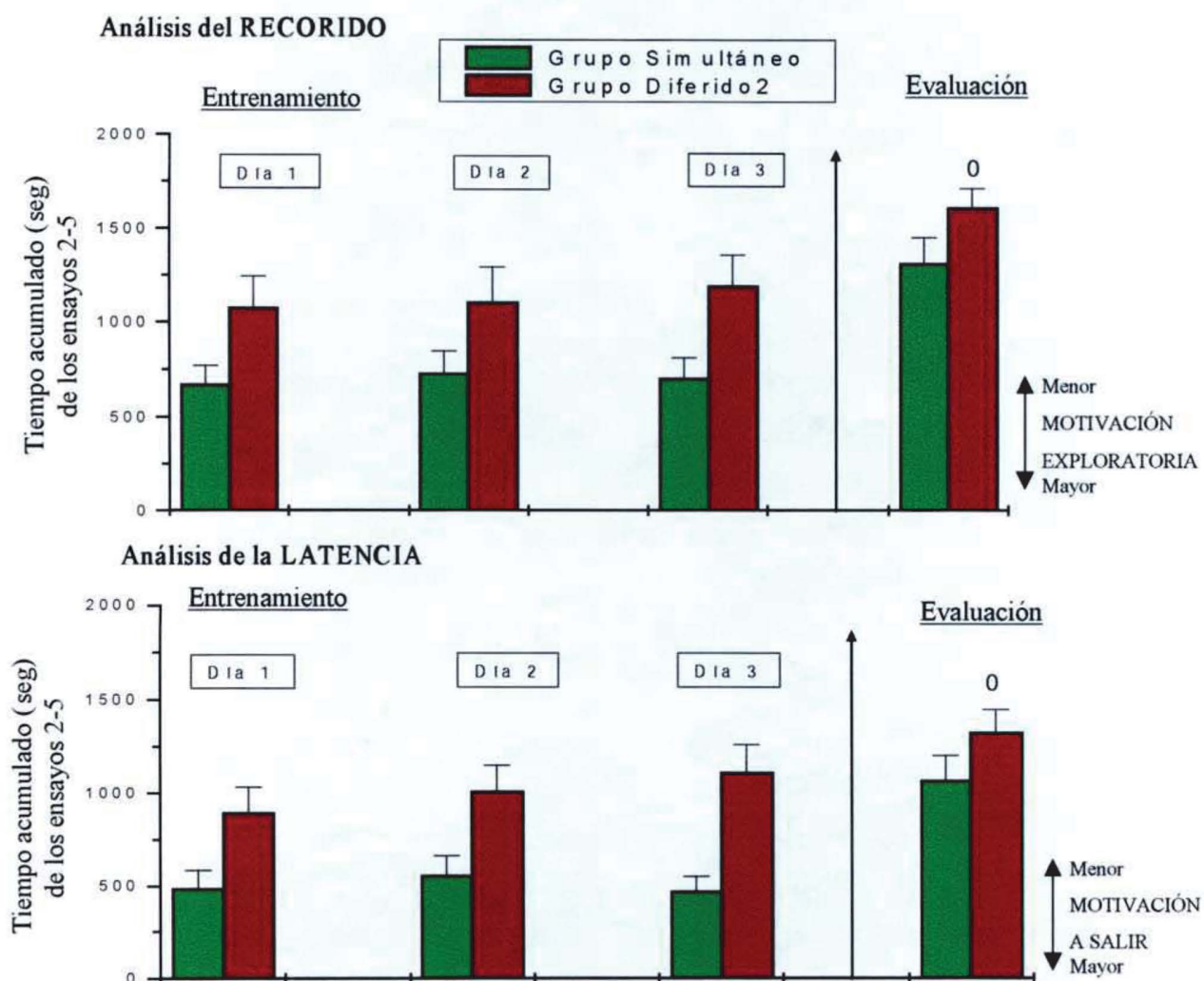


FIGURA 9: Comparación entre un grupo alimentado dentro de la caja durante el entrenamiento (Simultáneo) y un grupo que recibió comida en los recipientes de refuerzo diferido, dos horas y media después de finalizada la sesión de entrenamiento en la caja de actividad (Diferido 2).

El histograma representa el bloque de ensayos 2 al 5 de la evaluación.

(0) Diferencia estadística entre el Día 1 de entrenamiento y el día de la evaluación para el grupo Diferido 2.

4.4 Discusión

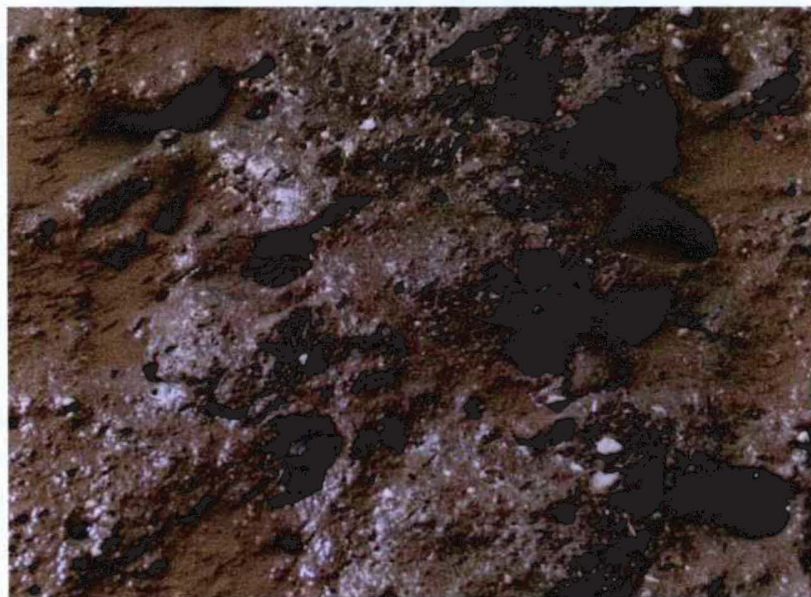
De estos resultados puede concluirse lo siguiente:

a.- La diferencia entre **Simultáneo** y **Diferido 4** se hace más notable a medida que se prolonga el entrenamiento, sugiriendo que un mayor entrenamiento permite aumentar el peso relativo de la habituación. En efecto, después de un día de entrenamiento, la diferencia se expresa sólo en tiempo de recorrido (Figura 4, Capítulo 3), mientras que, después de tres días se expresa en ambas variables (Figura 6), lo cual se atribuye a una reducción en la motivación exploratoria y a salir.

b.- La conclusión anterior sugiere que la disminución de la motivación a salir (expresada por un aumento de la latencia) requiere más entrenamiento que la necesaria para una disminución equivalente en la motivación exploratoria (expresada por un aumento en la variable recorrido). Esta diferencia en las variables analizadas podría demostrar tendencias comportamentales distintas relacionadas con las condiciones naturales en las que vive *Chasmagnathus*. La salida de un compartimento oscuro a uno claro podría semejar a la salida de una cueva. Este comportamiento reflejaría una tendencia o impulso a salir para luego explorar un ambiente que es potencialmente novedoso. Dicha tendencia podría ser difícil de habituar ya que en el medio natural las condiciones varían ampliamente y el fracaso en una salida anterior no debería influir en salidas futuras. Otra posible explicación no excluyente de la anterior, sugiere que la tendencia a salir respondería a un ritmo endógeno regulado por factores ambientales tales como los ciclos de luz-oscuridad y las mareas (ritmos circadianos y ultradianos). Se trataría de un comportamiento rígido, incluso estereotipado tal como lo mencionan HO. de la Iglesia y col. (1994) cuando se refieren a la apertura y consecuente salida de las cuevas en *Uca uruguayensis*. Este animal, que comparte con *Chasmagnathus* el mismo ambiente ecológico, muestra un comportamiento de salida ajustado al período de luz y marea

baja. Por otro lado, Aréchiga y col. (1974) demostraron que cuando el cangrejo *Carcinus maenas* es mantenido en el laboratorio expuesto solamente a un ciclo de luz-oscuridad, cierto componente del ritmo locomotor se mantiene.

En *Chasmagnathus*, si bien la tendencia a salir podría estar influida por el estado metabólico como resulta de la comparación entre el grupo **Sin Alimentar** y el **Simultáneo** (Figura 3, Capítulo 3), cuando se iguala la alimentación de los animales, puede observarse que la tendencia a salir es muy fuerte y sólo se reduce con un entrenamiento largo (Figura 6). Por el contrario, la variable recorrido que mide la actividad exploratoria desplegada por el animal, podría estar condicionada por las claves contextuales y ser indicativa de la **motivación a continuar o no** con una actividad exploratoria en un ambiente ya conocido. Este caso se trataría de un comportamiento más plástico.



FOTOGRAFÍA 2: Muestra las cuevas que habita *Chasmagnathus*. Se ilustra la entrada y salida de las mismas.

c.- La oferta de comida inmediatamente después del entrenamiento y en un contexto diferente, hace que los valores de recorrido y latencia de un

grupo así entrenado (**Diferido 0**), presenten un curso temporal sin tendencia a aumentar y por lo tanto indiferenciable de un grupo **Simultáneo**. La alteración de la simultaneidad contexto-refuerzo no impide entonces el condicionamiento alimentario. El hecho que el condicionamiento pueda lograrse retroactivamente en un grupo que si bien tuvo experiencia en la caja no fue expuesto a la fuente de comida, indica que el estímulo condicionado es el contexto caja y no la fuente del refuerzo (un lugar de la caja, "plataforma" en Figura 1); y por lo tanto, no sería un caso de condicionamiento de "goal-tracking behavior" (Kemmeny y Benjamin, 1989).

d.- La oferta de comida 1 o 2,5 horas después del entrenamiento en la caja de actividad y en un contexto diferente (recipientes de refuerzo diferido), hace que los valores de recorrido y latencia de un grupo así entrenado (**Diferido 1** o **Diferido 2**), sea indiferenciable en la evaluación de uno alimentado en forma contingente y simultáneo al entrenamiento en la caja de actividad (**Simultáneo**). Es decir, un aumento del intervalo EC-EI, dentro de ciertos límites también permite el condicionamiento alimentario.

e.- La disponibilidad asociativa parece decaer con la extensión del intervalo EC-EI. Puede concluirse tentativamente que el límite de disponibilidad asociativa se encontraría alrededor de las dos horas y media.

Capítulo 5

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA HIPOTERMIA COMO AGENTE AMNESICO SOBRE EL CONDICIONAMIENTO ALIMENTARIO

5.1 Introducción

Diferentes experimentos realizados con diversas especies han demostrado repetidamente propiedades generales en la formación de la memoria asociativa. Por tal motivo, los principios básicos que sustentan la formación de la memoria en diferentes especies y con diversos paradigmas de aprendizaje han demostrado ser similares. Para que tenga lugar la expresión de la memoria de largo término es necesario el proceso de consolidación que sigue al entrenamiento o se inicia durante el mismo. Es decir, el almacenaje de la memoria no ocurre instantáneamente, más bien es un proceso gradual que se dispara poco después del comienzo del aprendizaje. El almacenamiento de información que estaría representada por cambios sinápticos y remodelación en los circuitos neuronales (Squire, 1987) depende de la síntesis de proteínas. En otras palabras, estos cambios en las conexiones sinápticas son requeridos para que la memoria de un aprendizaje quede almacenada en forma permanente, es decir, consolidada (Crow y Forrester, 1990; Pedreira y col., 1996; Maldonado y col., 1997). La construcción de la memoria de largo término continúa luego del aprendizaje y se encuentra afectada por subsecuentes eventos externos, por tal motivo los tratamientos interventivos (agentes amnésicos e hipermnésicos) han resultado de mucho interés en el estudio de las distintas etapas comprendidas en los procesos de formación y de consolidación de la memoria.

El enfriamiento reduce el metabolismo del animal, disminuyendo los procesos de síntesis de proteínas dependientes de energía que son

componentes necesarios de la consolidación de la memoria (Davis y Squire, 1984). En *Aplysia*, utilizando un paradigma de aprendizaje alimentario, el enfriamiento de los animales por 15 minutos a -20°C antes del entrenamiento no tiene efecto a corto término sobre la memoria de aversión alimentaria. Sin embargo, el enfriamiento de los animales inmediatamente después del entrenamiento reduce fuertemente la memoria de largo término sin afectar la de corto término (Botzer y col., 1999). El efecto del enfriamiento sobre la consolidación de la memoria fue también investigada en *Drosophila*, Tully y col. (1994) encontraron que la hipotermia podía separar dos tipos de memoria. Mientras que un tipo de memoria resistente a anestésicos y de duración intermedia se formaba a pesar del tratamiento de frío, la formación de la memoria de largo término se veía afectada por este agente si se aplicaba el mismo inmediatamente después del entrenamiento. Otro ejemplo lo brinda Xia y col. (1998) utilizando en este caso un paradigma de evitación de una orientación de vuelo específica, estos autores encontraron un efecto opuesto para este agente ya que la hipotermia aplicada inmediatamente después del entrenamiento (dentro de los primeros 20 minutos) disrumpía la memoria de corto término y la memoria resistente a anestésicos mientras que la memoria de largo término permanecía intacta.

En el presente Capítulo, el interés se centró en el estudio del efecto de la hipotermia sobre la consolidación de la memoria de largo término en *Chasmagnathus* utilizando el paradigma de condicionamiento alimentario.

5.2 Análisis de la dosis y modalidad de la hipotermia efectiva para producir amnesia

Los trabajos realizados con *Aplysia* (Botzer y col., 1999), habían demostrado que con 15 minutos de exposición a -20°C se logra que la temperatura descienda lo suficiente ($3.5 - 4^{\circ}\text{C}$) como para disminuir la tasa

metabólica sin que este tratamiento produjera efectos dañinos sobre el sistema nervioso central.

5.2.1 Procedimiento experimental:

Algunas pruebas de evaluación previas demostraron que una hipotermia en aire (sin inmersión en agua) a 4° C y por 15 minutos no tenía efecto alguno sobre la habituación ni sobre el condicionamiento alimentario en *Chasmagnathus*. En las mismas condiciones pero a -15°C y por 7 minutos, se provocaron daños considerables en el animal tal como autotomías y ausencia de respuesta de escape. Se optó por probar una hipotermia de inmersión en agua a 0° C por 10 o 30 minutos.

En un primer experimento destinado a evaluar los efectos inespecíficos del frío se usaron 3 grupos (N = 20). Los cangrejos de un primer grupo fueron sumergidos en recipientes individuales por 10 minutos en agua a temperatura ambiente; los de un segundo grupo por 30 minutos en agua a 0°C y los de un tercer grupo por 10 minutos en agua a 0°C. Los animales no fueron entrenados. Después de 24 horas fueron colocados en las cajas de actividad, donde se midió el tiempo de recorrido y de latencia.

En un segundo experimento se busco determinar la dosis efectiva de hipotermia. Se utilizaron tres grupos (N = 40) entrenados con un protocolo **Diferido 0**, es decir, alimentado inmediatamente después del entrenamiento en la caja de actividad en recipientes de refuerzo diferido. Un grupo no recibió tratamiento de frío pero sí fue sumergido en agua a temperatura ambiente por 10 minutos (control); un segundo grupo se lo sometió a hipotermia por 10 minutos luego de haber sido alimentado; y un tercer grupo con hipotermia por 30 minutos. A las 24 horas, los grupos fueron evaluados, midiéndose los valores de recorrido y latencia.

5.2.2 Resultados:

En la Figura 10 se exhiben los resultados del primer experimento. Se puede observar que los grupos que recibieron tratamiento de 10 y 30 minutos de hipotermia no presentan diferencias significativas con el control. Tampoco se encontraron diferencias entre ellos para ninguna de las variables analizadas.

La Figura 11 ilustra los resultados del segundo experimento. Cuando se analizó el recorrido, un ANOVA resultó altamente significativo para el conjunto ($F= 5.74$; $p < 0.005$), mientras que un contraste aplicando Neuman Keuls detectó un efecto amnésico para la hipotermia de 30 minutos a 0°C pero no para la de 10 minutos. En efecto, se halló una diferencia significativa entre el grupo control y el de 30 minutos ($p < 0.01$), como así también entre 30 y 10 minutos ($p < 0.01$).

Para el caso de la latencia, si bien el ANOVA resultó ser significativo para el conjunto ($F= 3.66$; $p < 0.05$), no se hallaron diferencias significativas entre los grupos aplicando Neuman Keuls.

Evaluación del posible efecto inespecífico del frío

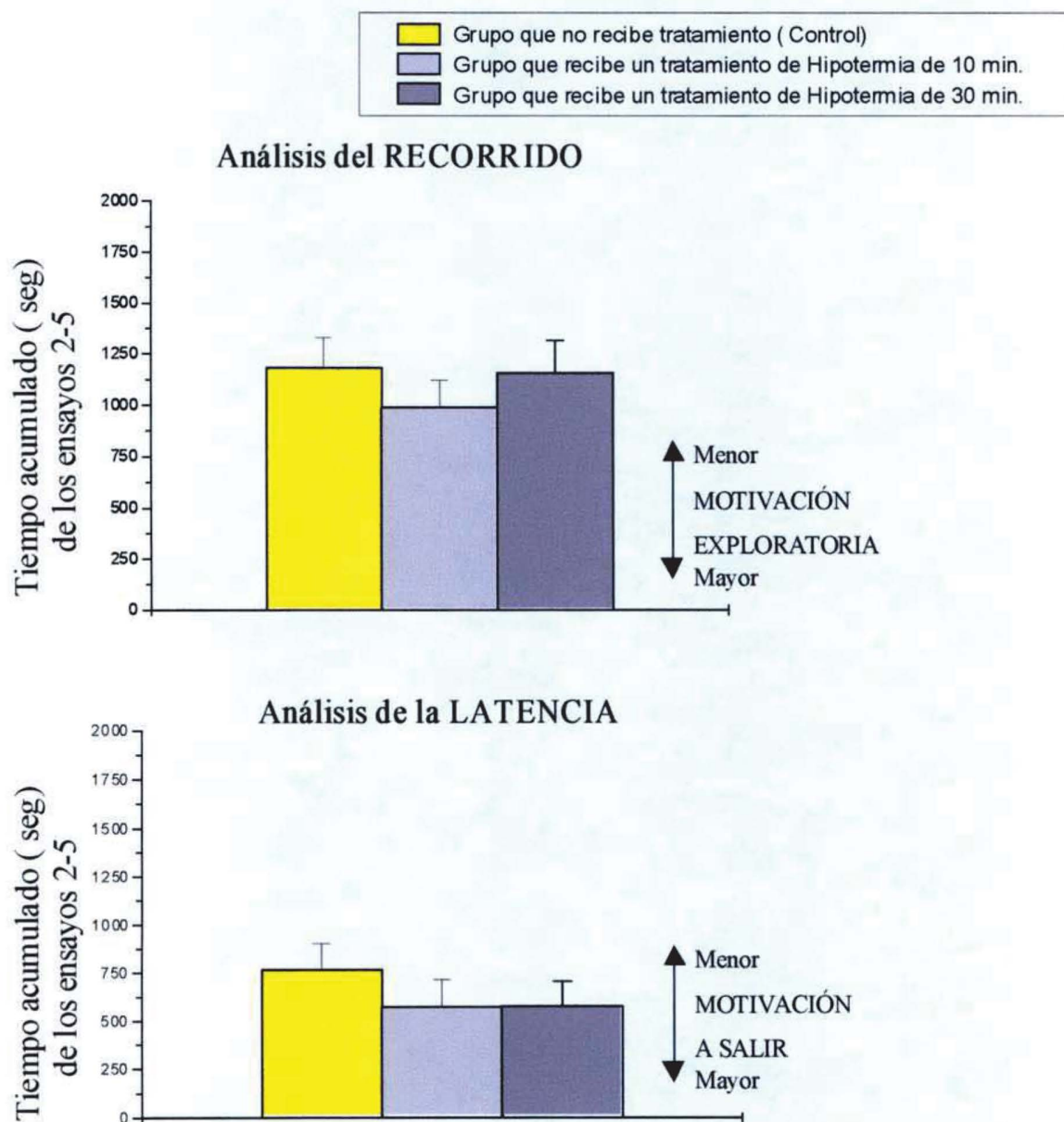


FIGURA 10: Comparación de 3 grupos sin entrenamiento que luego de la alimentación recibieron un tratamiento de hipotermia de 10 y 30 minutos a 0°C. El control no recibió tratamiento hipotérmico. La evaluación se realizó 24 horas después de la hipotermia.

Comparación de diferentes tratamientos de hipotermia

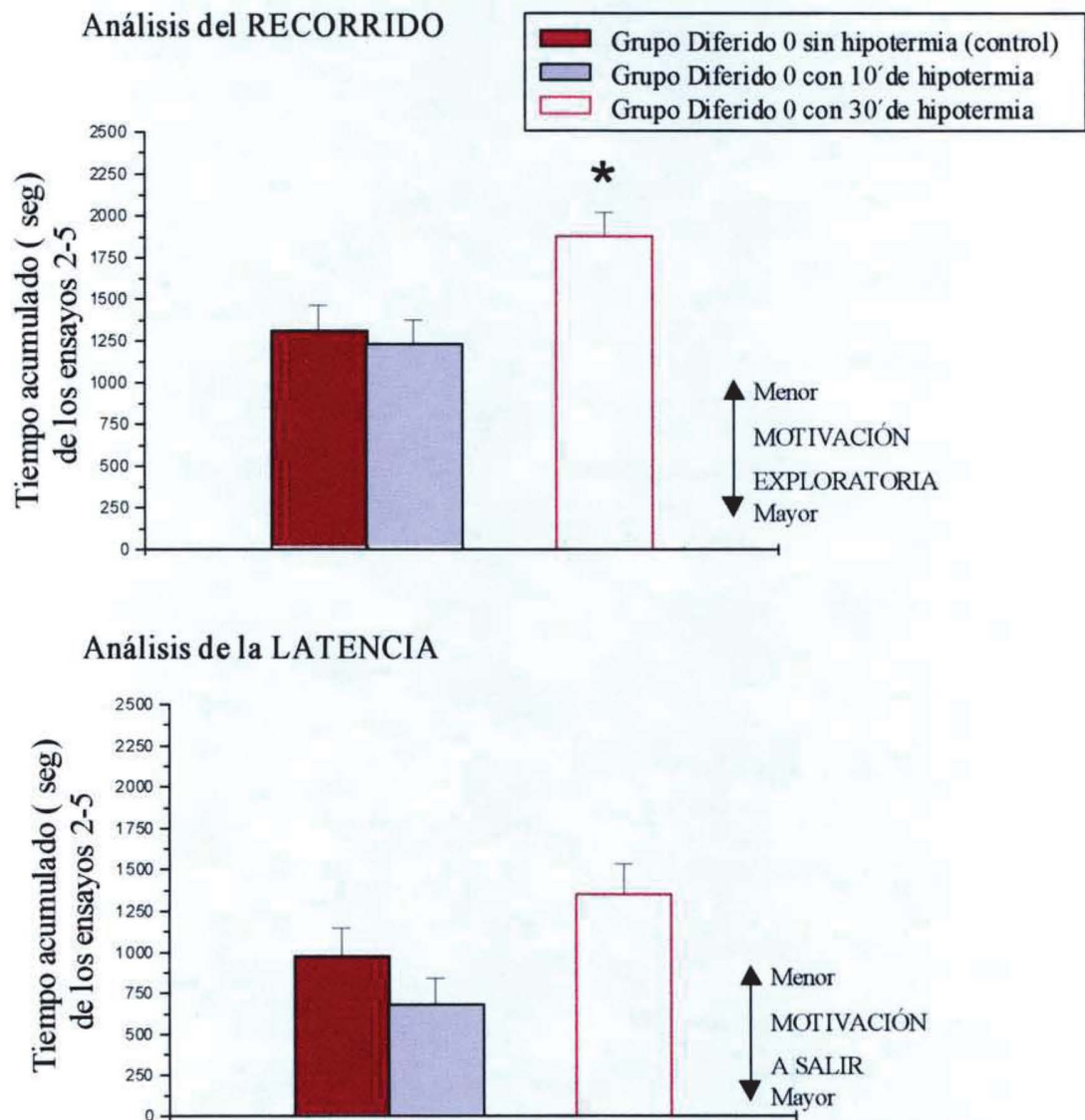


FIGURA 11: Comparación de tres grupos Diferido 0 que recibieron luego de la alimentación un tratamiento de hipotermia de 10 y 30 minutos a 0°C. El control no recibió tratamiento hipotérmico. La evaluación se realizó 24 horas después de la hipotermia. Los histogramas representan el bloque de ensayos 2 al 5 de la evaluación.

5.2.3 Discusión:

De los experimentos que se muestran en las Figuras 10 y 11 se concluye que la hipotermia resulta efectiva como agente amnésico y que en *Chasmagnathus* este efecto se comprueba luego de una exposición de 30 minutos a 0°C en inmersión.

La inmersión en agua ha resultado la mejor forma de administrar la hipotermia ya que disminuye en forma pareja la temperatura del cuerpo evitando que se dañen los tejidos como ocurre en el caso de exposición a aire frío. Como se planteó en el trabajo de Botzer y col. (1999), es posible que también para *Chasmagnathus* la exposición al frío por menos de 30 minutos no sea suficiente para hacer descender la temperatura del sistema nervioso como para interferir con el proceso de formación de la memoria.

El hecho que el efecto de la hipotermia se exprese más fuertemente en la variable recorrido que en la latencia, es coincidente con la sugerencia, expuesta en Capítulos anteriores, que la latencia (motivación a salir) parece ser menos propensa que el recorrido (motivación exploratoria) a un aumento resultante del tratamiento amnésico.

5.3 Efecto de la hipotermia sobre la ventana temporal de consolidación de la memoria

Se reconoce la existencia de fases diversas en un proceso de memoria, identificándose a menudo dos de ellas: la memoria de "corto término" (MCT, reciente), del orden de los minutos, y una memoria de "largo término" (MLT, remota) medida en días, incluso años. La hipótesis más ampliamente aceptada es aquella que plantea dos formas de almacenamiento de la información: como MCT y como MLT. La primera se refiere a un sistema que retiene información sólo temporalmente, por tanto es una memoria lábil. Para

que esa información sea incorporada permanentemente (consolidada), en otras palabras, transferida a una forma más estable en el tiempo (MLT); es necesario que ocurran cambios en las sinapsis bajo la forma de nuevas conexiones entre neuronas. Estos cambios estructurales permanentes son producto de la sucesión necesaria de eventos, tales como cambios metabólicos, síntesis de macromoléculas y finalmente cambios morfológicos (Squire, 1987). Si bien existe una sucesión entre ambos tipos de memoria, se ha descrito la independencia de ambos procesos (Izquierdo, 1999).

En el trabajo previamente citado en *Aplysia* (Botzer y col., 1999) se concluyó que la hipotermia sólo afecta la consolidación de la memoria de largo término. Asimismo Tully y col. (1994) aplicando un shock hipotérmico inmediatamente después del entrenamiento en *Drosophila*, pudieron discriminar dos tipos de memoria: una intermedia resistente a anestésicos (ARM), que perduraba hasta 4 días y otra larga (MLT) que perduraba más de 7 días y que era afectada por el tratamiento hipotérmico. Contrariamente, Xia y col. (1999) también en *Drosophila*, encontraron que este agente tiene acción sobre la memoria de corto término, mientras que la memoria de largo término no se ve afectada. Otros trabajos realizados con abejas en los cuales se describe la utilización de la hipotermia, han revelado que ésta tiene efecto sólo inmediatamente después del entrenamiento y que la memoria (MLT), una vez consolidada, es resistente a la hipotermia (Erber, 1980; Menzel y col. 1993; Menzel y Wittstock, 1994). En *Chasmagnathus*, los resultados anteriormente descritos, muestran que la hipotermia puede disrumpir la memoria de largo término (24 horas), cuando es utilizada inmediatamente después del entrenamiento. En los experimentos que siguen, este agente es presentado a distintos tiempos con el objetivo de estudiar la ventana de acción sobre la consolidación.

5.3.1 Procedimiento experimental:

Los animales fueron entrenados según el protocolo **Diferido 0**. Después del entrenamiento, los cangrejos recibieron el tratamiento de frío a 0°C por 30 minutos a distintos intervalos de tiempo a partir de la presentación de la comida: inmediatamente después (**Hipotermia 0**); 1 hora después (**Hipotermia 1**); 3 horas después (**Hipotermia 3**). Los grupos control recibieron el mismo protocolo experimental de entrenamiento pero no fueron sometidos a hipotermia. Se utilizaron 20 animales por grupo.

5.3.2 Resultados:

En la Figura 12 se presentan las diferencias entre los grupos que recibieron la hipotermia luego de distintos intervalos de tiempo (0, 1 y 3 horas). En el análisis del recorrido se encuentran diferencias significativas entre el grupo que recibe la hipotermia inmediatamente después de la comida (**Hipotermia 0**) respecto a su grupo control, ($t(1,38)= 2.06$, $p<0.05$), así como entre un grupo que recibe el tratamiento de hipotermia 1 hora después de la comida (**Hipotermia 1**) comparado con un grupo control ($t(1,38)= 3.03$, $p<0.05$). Por el contrario, el grupo que recibió la hipotermia a las 3 horas (**Hipotermia 3**) después de la alimentación no mostró diferencias significativas respecto al control no tratado.

No se obtuvieron diferencias significativas para la latencia entre el grupo experimental y control en ningún caso.

Efecto de la hipotermia sobre el proceso de consolidación de la memoria

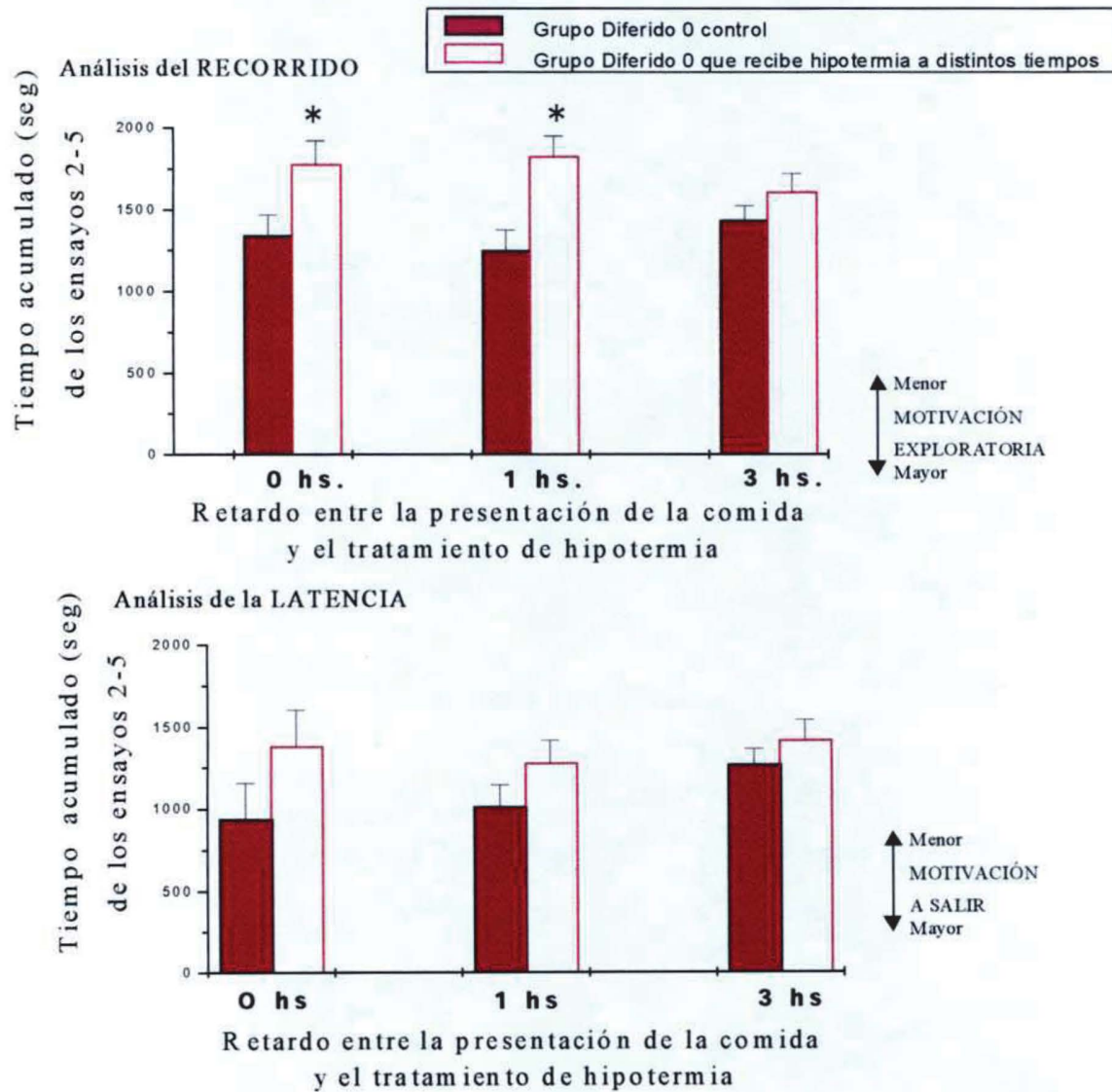


FIGURA 12: Comparación del efecto de la hipotermia en grupos Diferido 0 a distintos tiempos luego de la comida: inmediatamente luego de la alimentación; con un retardo de 1 h. y con un retardo de 3 hs. Cada grupo fue comparado con un control que no recibió tratamiento hipotérmico.

(*) Diferencia significativa entre los grupos durante la evaluación.

5.3.3 Discusión:

Estos resultados demuestran la existencia de un intervalo de tiempo máximo para el cual el tratamiento de frío tiene un efecto disruptor sobre el proceso de consolidación de la memoria de asociación en *Chasmagnathus*. La proximidad temporal entre la presentación del refuerzo (la comida) y el tratamiento de hipotermia garantiza el efecto disruptor del frío. El intervalo de tiempo en el cual el frío puede disrumpir la memoria es posible que se extienda al menos 1 hora después de la comida. Este intervalo de tiempo correspondería al tiempo necesario para que la consolidación tenga lugar. Luego de tres horas no puede ser disrumpida.

En esta serie experimental, la variable latencia no resulta sensible a la manipulación del agente amnésico. Como se señaló anteriormente es posible que, la motivación a salir no se reduzca por el efecto amnésico como la motivación exploratoria.

5.4 Efecto de la hipotermia sobre distintos protocolos de entrenamiento

Conforme a los resultados de Capítulos anteriores, el condicionamiento alimentario atribuido al **Simultáneo** sería similar al del **Diferido 0**, a pesar que la mecánica de ambos es formalmente distinta. Mientras en el **Simultáneo** la contingencia contexto-refuerzo se da en forma simultánea; en el **Diferido 0** hay un retardo en la presentación de la comida. De ahí entonces que el contexto adquiere retroactivamente valor positivo, gracias al hecho excepcional que la disponibilidad asociativa se mantiene en este paradigma más allá del entrenamiento en la caja de actividad. Este hecho, y la circunstancia que el **Simultáneo** permanece 1 hora y 30 minutos en contacto con la comida en las cajas de actividad, mientras que el **Diferido 0**

sólo 30 minutos en los recipientes de refuerzo diferido, sería posible esperar que el condicionamiento del **Simultáneo** sea más fuerte que el del **Diferido 0**. El propósito de los siguientes experimentos es explorar si la hipotermia tiene un efecto diferencial sobre esos grupos, mayor en el **Simultáneo** que en el **Diferido 0**.

5.4.1 Procedimiento experimental:

Se utilizaron 40 animales por cada grupo. Dos grupos fueron entrenados según el protocolo **Simultáneo**, pero uno de ellos recibió un tratamiento de frío luego del entrenamiento (30 min. a 0°C), mientras que el otro permaneció como control. Otros dos grupos fueron entrenados con el protocolo **Diferido 0**, uno se utilizó como control y el otro recibió un tratamiento de hipotermia. Las sesiones de evaluación se hicieron a las 24 horas.

5.4.2 Resultados:

En la Figura 13 se muestran los histogramas correspondientes a los grupos **Simultáneo** (control y tratado) y **Diferido 0** (control y tratado), durante la evaluación. Se encontraron diferencias significativas sólo para la variable del recorrido. Las diferencias entre controles y tratados fueron de $t(1,78) = 3.1$, $p < 0.05$ y $t(1,78) = 2.06$, $p < 0.05$, para los grupos **Simultáneo** y **Diferido 0**, respectivamente.

En ningún caso se observaron diferencias significativas para el análisis de las latencias de salida entre los grupos experimental y su respectivo control.

Efecto de la hipotermia sobre distintos protocolos de entrenamiento

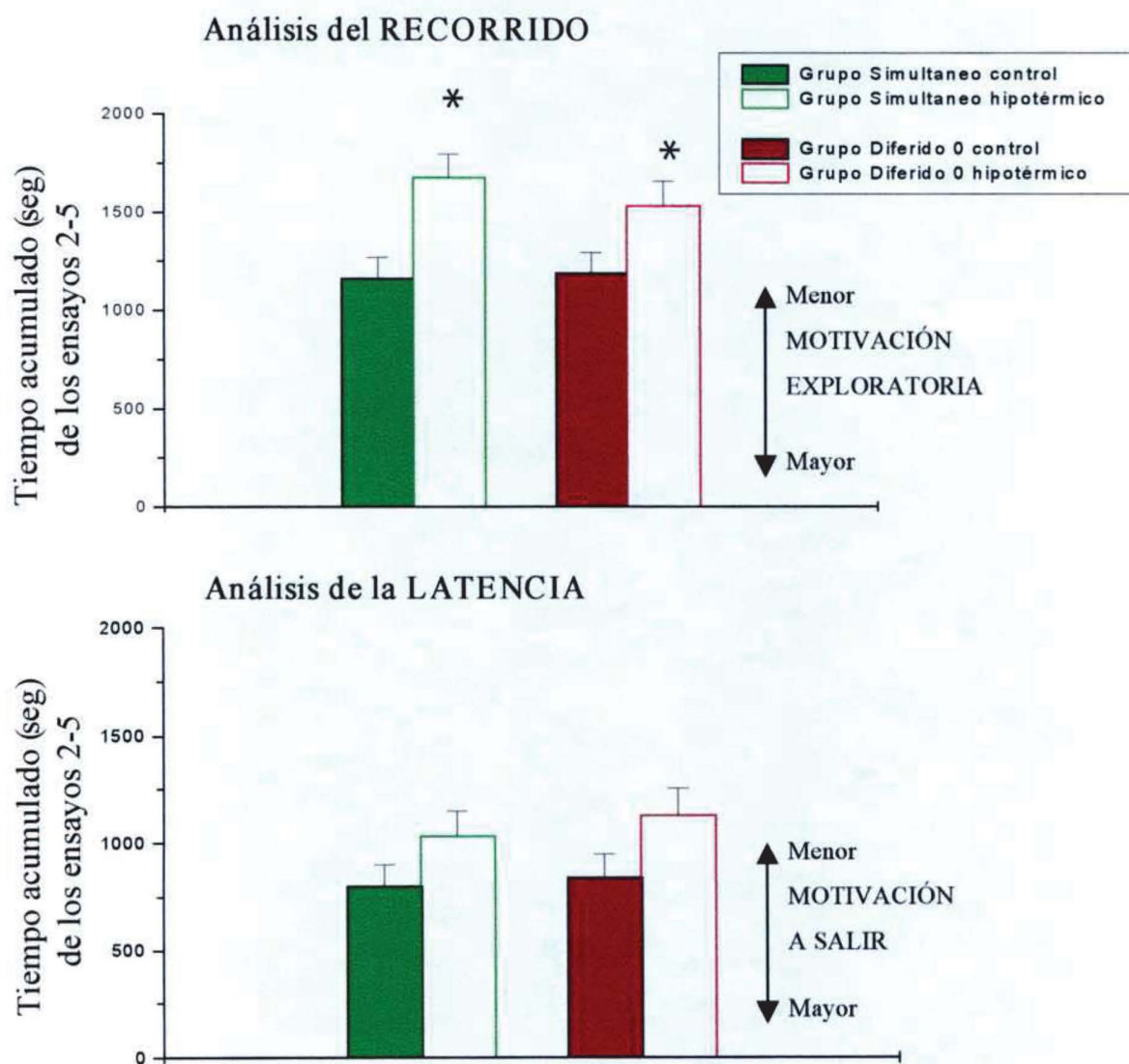


FIGURA 13: Comparación del efecto de la hipotermia en un grupo Simultáneo y un grupo Diferido 0. Los grupos control no recibieron tratamiento hipotérmico.
(*) Diferencia significativa entre los grupos durante la evaluación.

5.4.3 Discusión:

Estos resultados sugieren que la hipotermia afecta de una manera similar al grupo de condicionamiento con simultaneidad de los estímulos (**Simultáneo**), que al grupo que recibió el refuerzo de manera estrechamente contigua, una vez finalizado el entrenamiento en la caja de actividad (**Diferido 0**).

La ausencia de significancia estadística para el caso de las latencias apoya la idea de una mayor resistencia de la motivación a salir a su reducción por parte del agente amnésico.

Como se mencionó en el Capítulo 4, la latencia parece constituir una variable que expresa una fuerte tendencia natural a salir y por lo tanto constituye una respuesta difícil de modificar. Es por este motivo que el potencial efecto del agente amnésico no puede ser observado.

5.5 Posible efecto de la hipotermia sobre la habituación exploratoria

El siguiente experimento fue realizado con el propósito de comenzar el estudio de un posible efecto diferencial de este agente sobre la habituación exploratoria y el condicionamiento alimentario.

5.5.1 Procedimiento experimental:

Se entrenaron 80 animales en la caja experimental que recibieron un protocolo de entrenamiento de habituación exploratoria (grupo **Sin Alimentar**). Cuarenta animales recibieron luego del entrenamiento un tratamiento de hipotermia (30 min. a 0°C. sumergido). Este grupo de animales fue comparado con un grupo control que no recibió tratamiento hipotérmico.

5.5.2 Resultados y Discusión.

En la Figura 14 se ilustran los resultados obtenidos del análisis de la evaluación, tanto del recorrido como de la latencia. No se encontraron diferencias significativas entre el grupo **Sin Alimentar** tratado y el control para ninguna de las dos variables. Cabe señalar que este experimento es preliminar. La similitud entre ambos grupos permitiría sugerir que la hipotermia no tiene efecto amnésico sobre la habituación. De confirmarse este resultado en estudios posteriores, abre la posibilidad que este agente constituya una herramienta útil para distinguir entre mecanismos que sirven a distintos procesos de memoria.

Efecto de la hipotermia sobre la habituación exploratoria

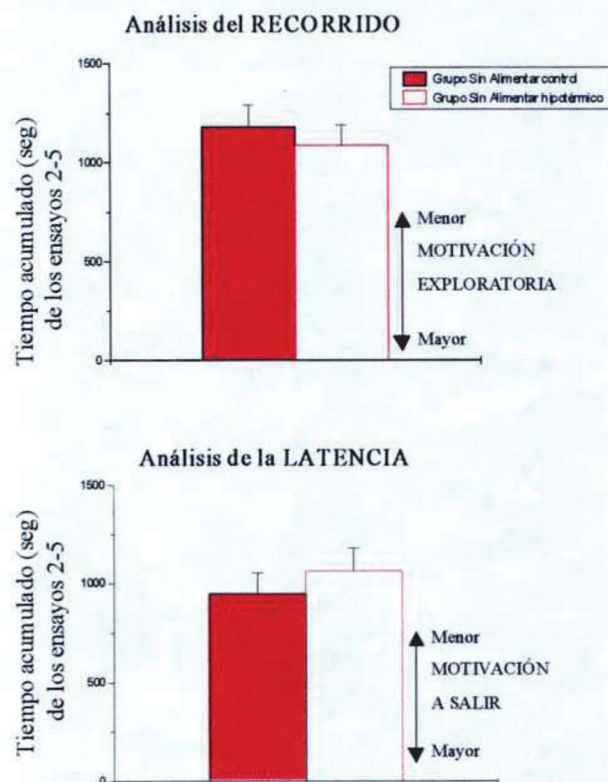


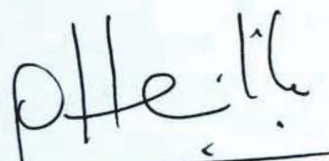
FIGURA 14: Comparación entre dos grupos que no reciben comida (Sin Alimentar). Un grupo recibe tratamiento de hipotermia. El control no es tratado con este agente. El histograma representa el bloque de ensayos 2 al 5 de la evaluación.

CONCLUSIONES

- ✓ Se ha encontrado que *Chasmagnathus* presenta una ventana temporal de disponibilidad asociativa (EC-EI) que se extiende durante más de 2 horas después de finalizado el entrenamiento, pero menos de 4 horas.
- ✓ A diferencia del caso en que el alimento es dado inmediatamente después del entrenamiento, es posible distinguir en los grupos Diferidos por 1 hora o por dos horas y media, una disminución en los niveles de motivación exploratoria y a salir que se interpreta como síntoma de habituación. Es decir, un mayor entrenamiento permite aumentar el peso relativo de la habituación (Diferido vs. Simultáneo).
- ✓ Se ha observado reiteradamente durante el desarrollo del trabajo que los parámetros (latencia y recorrido) permiten distinguir dos estados distintos de motivación en la actividad desplegada por los animales. La latencia reflejaría una fuerte **tendencia natural a salir**. Esta respuesta es posible que sea difícil de modificar por el entrenamiento ya que en la naturaleza la tendencia a salir significa estar dispuesto para el reconocimiento de un nuevo ambiente, si es que se presentan las condiciones para ello. La **tendencia a explorar**, por el contrario, es susceptible de ser modificada en función del valor que el animal le asigna al ambiente.
- ✓ La ventana de acción del agente amnésico estaría restringida a un período de alrededor de una hora una vez finalizado el entrenamiento, sugiriendo que superado este tiempo la memoria ya fue consolidada.

-
- ✓ La hipotermia interfirió sobre la formación de la memoria de igual manera sobre los grupos que recibieron protocolos de entrenamiento Simultáneo y Diferido 0. Ni la diferencia en el tiempo disponible para la alimentación, ni el retardo entre entrenamiento en la caja de actividad y la presentación del refuerzo parecen debilitar el condicionamiento en el grupo Diferido 0.
 - ✓ La hipotermia es capaz de interferir sobre el proceso de formación de la memoria del condicionamiento alimentario. Resultados preliminares sugieren que este agente no interferiría sobre el proceso de habituación, apoyando la idea que diferentes mecanismos subyacen a ambos procesos.


Ariane Rossem


Dr. G. Hermite
Director

Capítulo 7

BIBLIOGRAFIA

- ☞ Aréchiga H, Huberman A and Naylor E. Hormonal modulation of circadian neural activity in the crab *Carcinus maenas*. Proc. Roy. Soc. Lond. 187: 299-313 (1974).
- ☞ Botzer D, Marcovich S and Susswein A. Multiple memory processes following training that a food is inedible in *Aplysia*. Learning and Memory. 5: 204-219 (1999).
- ☞ Brown B, Hemmes N and Cabeza de Vaca S. Timing of the CS-US interval by pigeon in trace and delay autoshaping. Journal of Experimental Psychology. 50B (1): 40-53 (1997).
- ☞ Cervino CO, Medesani D and Rodriguez EM. Effect of feeding on metabolic rate of the crab *Chasmagnathus granulatus*. Nauplius, Río grande. 3: 155-162 (1995).
- ☞ Crow T and Forrester J. Inhibition of protein synthesis blocks long-term enhancement of generator potentials produced by one-trial in vivo conditioning in *Hermisenda*. Pros. Nat. Acad. Sci. USA. 87: 4490-4494 (1990)
- ☞ Davis HP and Squire LR. Protein synthesis and memory: A review. Psychol. Bull. 96: 518-559 (1984).
- ☞ de la Iglesia HO, Rodriguez EM and Dezi RE. Burrow plugging in the crab *Uca uruguayensis* and its synchronization with photoperiod and tides. Physiol Behav. 55(5): 913-919 (1994).
- ☞ Delamater A, Kruse J, Marlin S and Lolordo V. Conditioned inhibition in taste aversion learning: Testing Methodology and Empirical Status. 14 (1): 1-14 (1986).

-
- 📖 Dimant B. Comportamiento exploratorio en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus*. Habitación y aprendizaje apetitivo. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires (1991).
 - 📖 Dimant B and Maldonado H. Habituation and associative learning during exploratory behaviour of the crab *Chasmagnathus*. Journal of Comparative Physiology. 170: 749-759 (1992).
 - 📖 Elisabetsky E, Vedite DA and Izquierdo I. Memory channels in the rat: Effect of post-training application of potassium chloride on the hippocampus. Behav. Neural. Biol. 27: 354-361 (1979).
 - 📖 Erber J; Masuhr T and Menzel R. Localization of short-term memory in the brain of the bees *Apis mellifera*. Physiology and Entomology. 5: 343-358 (1980).
 - 📖 Fantino and Logan. The experimental analysis of behavior (1980).
 - 📖 Garcia J and Koelling R. Relation of cue to consequence in avoidance learning. Psycho. Sci. 4: 123-124 (1966).
 - 📖 García J, McGowan BK, Ervin FR and Koelling RA. Cues: Their relative effectiveness as a function of the reinforcer. Science 160: 794-795 (1968).
 - 📖 Hebb DO. The Organization of behavior, John Wiley and Sons (1949).
 - 📖 Hermitte G. Mecanismos asociativos en el aprendizaje apetitivamente motivado del cangrejo *Chasmagnathus granulatus*. Memoria del contexto. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires (1995).
 - 📖 Hermitte G, Pedreira ME, Tomsic D and Maldonado H. Context shift and protein synthesis inhibition disrupt long term habituation after spaced, but not massed, training in the crab *Chasmagnathus*. Neurobiology of Learning and Memory (1998).

-
- 📖 Izquierdo I and Cavalheiro E. Three main factors in rat shuttle behaviour: Their pharmacology and sequential entry in operation during a two-way avoidance session. *Psychopharmacology*. 49: 145-157 (1976).
 - 📖 Izquierdo I. Effects of naloxone and morphine on various forms of memory in the rat: Possible role of endogenous opiate mechanisms in memory consolidation. *Psychopharmacology*. 66: 199-203 (1979).
 - 📖 Izquierdo I, Souza DO, Días RD, Carrasco MA, Volkmer N, Perry M and Netto CA. Effect of various behavioral training and testing procedure on brain B-enkephalin-like immunoreactivity and the possible role of β -endorphin in behavioral regulation. *Psychoneuroendocrinology*. 9: 381-389 (1984).
 - 📖 Izquierdo I and Netto CA. The brain β - endorphin system and behavior: The modulation of consecutively and simultaneously processed memories. *Behav Neural Biol*. 44: 249-265 (1985).
 - 📖 Izquierdo I, Medina JH, Vianna MR, Izquierdo LA and Barros DM. Separate mechanisms for short-term and long-term memory. *Behav. Brain Res*. 103 (1): 1-11 (1999).
 - 📖 Kandel ER and Schwartz JH. Molecular biology of learning: Modification of transmitter release. *Science*. 218: 433-442 (1982).
 - 📖 Kasprow W. Enhancement of short-term retention by appetitive-reinforcer reminder treatment. *Animal Learning and Behavior*. 15 (4): 412-416 (1987).
 - 📖 Kemenes G and Benjamin PR. Goal-Traking Behavior in the Pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Behavioral and neural biology*. 52: 260-270 (1989).
 - 📖 Koob GF, Le Moel M and Bloom FE. Enkephalin and endorphin influences on appetitive and aversive conditioning. *Endogenous Peptides and Learning and Memory Processes*. Academic Press. New York, 249-267 (1981).

-
- 📖 Maldonado H, Romano A and Tomsic D. Long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*: a model for behavioral and mechanistic studies of memory. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 30: 813-126 (1997).
 - 📖 Mazur J. Conditioned reinforcement and choice with delayed and uncertain primary reinforcers. Journal of Experimental Analysis of Behaviour. 63: 139-150 (1995).
 - 📖 Menzel R, Wittstock S and Kaatz H. Inhibition of brain protein synthesis by cycloheximide does not affect formation of long-term memory in honeybees after olfactory conditioning. The journal of Neuroscience. 13 (4): 1379-1386 (1993).
 - 📖 Menzel R and Wittstock S. Color learning and memory in honeybees are not affected by protein synthesis inhibition. Behavioral and Neural Biology. 62: 224-229 (1994).
 - 📖 Netto CA, Dias R and Izquierdo I. Differential effect of post training naloxone, β -endorphin, leu-enkephaline and electroconvulsive shock administration upon memory of an open-field habituation and of a water-finding task. Psychoneuroendocrinology. 11 (4): 437-446 (1986).
 - 📖 Nevine J, Smith L and Roberts J. Does contingent reinforcement strengthen operant behaviour?. Journal of Experimental Analysis of Behavior. 48: 17-33 (1987).
 - 📖 Pedreira ME, Dimant B, Tomsic D, Quesada-Allué LA and Maldonado H. Cicloheximida inhibits context memory and long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 52 (2): 385-95 (1995).
 - 📖 Pedreira ME, Dimant B and Maldonado H. Inhibitors of protein and RNA synthesis block context memory and long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 54: 124-127 (1996).

-
- 📖 Pedreira ME, Romano A, Tomsic D, Lozada M and Maldonado H. Massed and spaced training build up different components of long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*. *Animal Learning and Behavior*. 26 (1): 34-45 (1997).
 - 📖 Pereyra P, de la Iglesia H and Maldonado H. Training to testing intervals different from 24 hours impair habituation in the crab *Chasmagnathus*. *Physiology and Behavior*. 59: 19-25 (1996).
 - 📖 Reilly S and MacPhail E. Discrimination training, partial reinforcement and increases in intertrial interval all reduced response speed in a continuously reinforced key-pecking task. *Journal of Experimental Analysis Behavior*. 64: 215-224 (1995).
 - 📖 Rescorla R. Behavioral studies of Pavlovian conditioning. *Ann. Rev. Neurosci*. 11: 329-352 (1988).
 - 📖 Reuter JH and Chung HS. The contribution of the rewarded and the non rewarded stimulus in visual discrimination learning in mice. *Behavioral Brain Research*. 27: 269-272 (1988).
 - 📖 Rosenthal R and Rosnow R. Contrast analysis focused comparisons in the analysis of variance. Cambridge University press. (1985).
 - 📖 Schmitt A and Santos E. Behavioral and haemolymphatic ionic composition of intertidal crab *Chasmagnathus granulatus* (Dana, 1851) during emersion. *Comp. Biochem. Physiology*. 106A (2): 337-342 (1993).
 - 📖 Squire L. Memory and Brain. Oxford University press (1987).
 - 📖 Sptaz H. Hebb`s concept of synaptic plasticity and neuronal cell assemblies. *Behavioral Brain Research* (1996).
 - 📖 Tomsic D, Massoni V and Maldonado H. Habituation to a danger stimulus in two semi terrestrial crabs: Ontogenic, ecological and opioid modulation correlates. *Journal of Comparative Physiology*. 173: 621-33 (1993).

-
- 📖 Tomsic D, Pedreira E, Romano A, Hermitte G and Maldonado H. Context- US association as a determinant of long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*. *Animal Learning and Behaviour*. 26 (2): 196-209 (1998).
 - 📖 Tully T, Preat T, Boynton S C and Del Vecchio M. Genetic dissection of consolidated memory in *Drosophila*. *Cell*. 79: 35-47 (1994).
 - 📖 Warman C, Abelló P and Naylor E. Behavioral responses of *Carcinus mediterraneus* (Czerniavsky, 1884) to changes in salinity. *Sci. Mar.* 55 (4): 637-643 (1991).
 - 📖 Xia S-Zn, Guo A- K and Feng C-H. Temporary amnesia induced by cold anesthesia and hypoxia in *Drosophila*. *Physiology and Behaviour*. 65 (4-5): 617-623 (1998).