

Tesis de Posgrado

Estudio del aprendizaje asociativo en el anfibio anuro Bufo arenarum : aspectos comparados

Muzio, Ruben Nestor

1995

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

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría 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 doctoral 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:

Muzio, Ruben Nestor. (1995). Estudio del aprendizaje asociativo en el anfibio anuro Bufo arenarum : aspectos comparados. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2716_Muzio.pdf

Cita tipo Chicago:

Muzio, Ruben Nestor. "Estudio del aprendizaje asociativo en el anfibio anuro Bufo arenarum : aspectos comparados". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1995. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2716_Muzio.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

Tesis
2716
ej.2

**Estudio del aprendizaje asociativo en
el anfibio anuro *Bufo arenarum*.
Aspectos comparados**

RUBEN NESTOR MUZIO



Tesis para optar al Título de Doctor en Ciencias Biológicas
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, 1995

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

**ESTUDIO DEL APRENDIZAJE ASOCIATIVO EN
EL ANFIBIO ANURO *Bufo arenarum*.
Aspectos comparados**

AUTOR: RUBEN NESTOR MUZIO

DIRECTORES: ENRIQUE TEODORO SEGURA

MAURICIO ROBERTO PAPINI

Laboratorio de Biología del Comportamiento
Instituto de Biología y Medicina Experimental

Tesis para optar al Título de Doctor en Ciencias Biológicas

1995

R. Muzio
J. S.

A mis viejos

A Mercedes y Danu

RESUMEN

Estudios comparativos del comportamiento instrumental de algunas especies de vertebrados sugieren la posibilidad de diferencias en los procesos de aprendizaje asociativo. Dicha hipótesis está basada en el estudio de los efectos paradójicos del reforzamiento, un grupo de fenómenos de aprendizaje basados en el ajuste comportamental ante cambios en las condiciones de reforzamiento y que no responden a las predicciones de las teorías clásicas del aprendizaje. Dentro de estos fenómenos, los más estudiados son: el efecto del reforzamiento parcial sobre la extinción (ERPE), el efecto de la magnitud de reforzamiento sobre la extinción (EMRE) y el efecto de contraste negativo sucesivo (ECNS). Estos efectos han sido encontrados en estudios con especies de aves y mamíferos, pero no aparecieron en experimentos análogos con peces y reptiles. Tomando como referencia una serie de estudios previos realizados en nuestro laboratorio sobre las bases fisiológicas del control del balance acuoso en el sapo *Bufo arenarum*, y además un experimento preliminar que indicaba la ausencia de contraste negativo en esta especie, se inició el estudio sistemático de estos fenómenos. Además, se estudiaron los efectos sobre el aprendizaje de la lesión del pallium medial (una estructura cerebral de los anfibios que se cree homóloga a la formación hipocampal de los mamíferos, en base a estudios anatómicos e histoquímicos). Así, en este trabajo de tesis se presentan experimentos que estudian los efectos de cambios en la frecuencia o la magnitud del reforzamiento sobre el aprendizaje en *Bufo arenarum*, usando el acceso a agua como refuerzo en animales deshidratados.

Se observaron diversos fenómenos de aprendizaje comunes a una amplia variedad de vertebrados, tales como la adquisición bajo condiciones de entrenamiento masivo y espaciado, la extinción, la recuperación espontánea, el efecto subsiguiente al refuerzo, y el efecto de la magnitud del reforzamiento sobre la adquisición. En general, en todas las situaciones la lesión del pallium medial no tuvo efectos sobre el desempeño ni sobre la tasa de captación de agua durante la adquisición, pero retardó significativamente la extinción de la respuesta instrumental respecto de controles con operación simulada o intactos. Estos resultados sugieren que el pallium medial de los sapos juega un papel en la inhibición de respuestas previamente aprendidas.

El reforzamiento parcial empeoró la adquisición y determinó una respuesta menor durante la extinción comparado con el reforzamiento continuo, sin evidencia del efecto del reforzamiento parcial sobre la extinción. La lesión del pallium medial no tuvo efectos sobre la adquisición, pero aumentó la resistencia a la extinción tanto después de

un entrenamiento con refuerzo continuo como después de uno con refuerzo parcial.

El cambio de una magnitud de refuerzo grande o pequeña a extinción produjo tasas de extinción similares, sin aportar indicios del efecto de la magnitud del reforzamiento sobre la extinción. Por otra parte, el cambio de una magnitud de refuerzo grande a una pequeña fue seguido por un cambio gradual en el desempeño sin evidencia de contraste negativo. La ablación del pallium medial no produjo efectos sobre la adquisición del aprendizaje, ya sea con magnitudes de reforzamiento grandes o pequeñas, pero la lesión eliminó completamente el ajuste del desempeño luego del cambio de una magnitud de reforzamiento grande a una pequeña.

El conjunto de resultados obtenidos apoya la hipótesis de que el pallium medial de los anfibios es homólogo a la formación hipocampal de los mamíferos y también indica que las diferencias entre especies en estos fenómenos de aprendizaje pueden estar relacionados con los diferentes grados de desarrollo del sistema septo-hipocampal.

Los resultados contenidos en esta tesis han sido publicados total o parcialmente en los siguientes artículos:

Muzio, R. N.; Segura, E. T. and Papini, M. R. (1992). Effect of schedule and magnitude of reinforcement on instrumental acquisition and extinction in the toad, *Bufo arenarum*. *Learning and Motivation*, 23, 406-429.

Muzio, R. N.; Segura, E. T. and Papini, M. R. (1993). Effects of lesions in the medial pallium on instrumental learning in the toad (*Bufo arenarum*). *Physiology and Behavior*, 54, 185-188.

Muzio, R. N.; Segura, E. T. and Papini, M. R. (1994). Learning under partial reinforcement in the toad (*Bufo arenarum*): Effects of lesions in the medial pallium. *Behavioral and Neural Biology*, 61, 36-46.

Papini, M. R.; Muzio, R. N. and Segura, E. T. (1995). Instrumental learning in toads (*Bufo arenarum*): Reinforcer magnitude and the medial pallium. *Brain, Behavior and Evolution*. En prensa.

Fotografía de la portada: Ejemplar adulto del sapo común (*Bufo arenarum*). Foto: M. Lamamí.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todos aquellos que me han ayudado a que este trabajo de tesis haya llegado a su culminación:

- A Enrique Segura, quien desde un principio me brindó su apoyo para iniciarme en la investigación y luego me permitió desarrollar este plan de tesis en su laboratorio con su inapreciable colaboración.
- A Mauricio Papini, que también colaboró decisivamente en la elaboración de esta tesis y me contagió su pasión por el estudio del comportamiento animal, aún desde lejos, y a pesar de las dificultades propias de la comunicación a distancia vía correo electrónico.
- A Silvano Zanutto, quien desinteresadamente (lo que constituye su estilo) prestó su tiempo para diseñar y poner a punto los equipos electrónicos que se utilizaron en todos los experimentos de esta tesis.
- A Jorge Brun, que gentilmente y con buena voluntad armó los equipos mencionados anteriormente.
- A Ana Valeros, que me ayudó en algunos experimentos preliminares a los incluidos en este trabajo.
- A Patricia Cuasnicú y Débora Cohen por facilitarme el microscopio con el que realicé las fotografías de los preparados histológicos.
- A Marcelo Cassini, Fabián Gabelli, Andrés Lemoine, Juan Carlos Reborada y Pablo Tubaro, quienes colaboraron con la lectura crítica de las varias "versiones previas".
- A Ricardo Damnotti y Marcelo Lamami, por el apoyo brindado en la parte gráfica.
- A mis compañeros de laboratorio, Jorge Brun, Marcelo Cassini, Sergio D'Agostino, Gustavo Fernández, Fabián Gabelli, Andrés Lemoine, Claudia Marro, Viviana Massoni, Myriam Mermoz, Lorena Pompilio, Juan Carlos Reborada, Germán Simonetti, Pablo Tubaro, Ana Valeros, Alberto Yorio y Silvano Zanutto, quienes me dieron toda su calidez y "buenas ondas" en las horas de investigación compartidas.
- A Leonardo Bussmann, quien me brinda todo su cariño permanente y es el hermano mayor que nunca tuve.
- A mis amigos y compañeros de Facultad, Oscar Amín, Sergio Angel, Jorge Blanco, Mariana Cadaveira, Graciela Dran, Alejandro Farías, Fabián Gabelli, Alejandra Goldman, María Pía Livini, Alicia Lorenzo, Alejandra Marechal, Ingrid Mozetich,

Marcela Piñeiro, Marcelo Pérez, Ana Rakitín, Olga Suárez y Rodolfo "Bubu" Werner, con quienes siempre comparto muy buenos momentos y que con su afecto (aún los que están lejos) me ayudan a seguir adelante con mi trabajo.

- A mis padres, Ida y Víctor, por brindarme todo su amor y alentarme desde siempre a realizar lo que me apasiona en el plano vocacional. Por "bancarme" incondicionalmente en mis estudios de Facultad y, junto a mi hermano Fabio, por el apoyo y comprensión constantes en cada momento de mis investigaciones.

- A mi hija, Daniela, que me enseñó a discriminar las cosas realmente importantes de la vida.

- Y en especial a mi mujer, Mercedes, por aceptar pacientemente mi ritmo sostenido de trabajo, aún los fines de semana y, por sobre todas las cosas, por hacerme feliz diariamente con su amor.

INDICE

CAPITULO 1. INTRODUCCION GENERAL.....	1
Objetivos generales de la tesis.....	2
Biología general de los anfibios.....	3
CAPITULO 2. MARCO TEORICO DE LA TESIS	
Aspectos generales y alcance de las teorías del aprendizaje.....	10
Consecuencias de la reducción del reforzamiento sobre el comportamiento:	
Efectos paradójicos del reforzamiento.....	12
Interpretaciones del término "paradójico".....	12
Descripción de los efectos paradójicos.....	12
Teoría de la Frustración como un mecanismo para explicar los efectos paradójicos.....	14
Análisis comparativo del aprendizaje	
Diferencias entre especies en los efectos paradójicos.....	18
Análisis ontogenético de los efectos paradójicos.....	21
Bases neurofisiológicas de los efectos paradójicos.....	22
CAPITULO 3. APRENDIZAJE INSTRUMENTAL EN ANFIBIOS: ESTUDIOS PRELIMINARES	
Introducción.....	24
Experimento 1: Aprendizaje instrumental en un corredor recto.....	25
Método.....	25
Resultados.....	28
Discusión.....	31
Experimento 2: Efecto de la lesión bilateral del pallium medial sobre el aprendizaje instrumental de un corredor recto.....	32
Método.....	32
Resultados.....	33
Discusión.....	36

CAPITULO 4. EFECTO DEL REFORZAMIENTO PARCIAL SOBRE EL APRENDIZAJE

Introducción.....	37
Experimento 3: Efecto del reforzamiento parcial sobre el aprendizaje instrumental de un corredor recto en condiciones de entrenamiento masivo.....	39
Método.....	40
Resultados.....	40
Discusión.....	45
Experimento 4: Efecto del reforzamiento parcial sobre el aprendizaje instrumental de un corredor recto en condiciones de entrenamiento distribuido.....	46
Método.....	46
Resultados.....	46
Discusión.....	49
Experimento 5: Efecto del reforzamiento parcial sobre el aprendizaje instrumental de un corredor recto con nuevos parámetros en condiciones de entrenamiento distribuido.....	50
Método.....	50
Resultados.....	51
Discusión.....	53
Experimento 6: Efecto de la lesión bilateral del pallium medial sobre el aprendizaje de un programa de reforzamiento parcial.....	54
Método.....	55
Resultados.....	56
Discusión.....	59

CAPITULO 5. EFECTO DE LA MAGNITUD DEL REFORZAMIENTO SOBRE EL APRENDIZAJE

Introducción.....	61
Experimento 7: Efecto de la magnitud del reforzamiento sobre el aprendizaje instrumental de un corredor recto en condiciones de entrenamiento distribuido.....	63
Método.....	63
Resultados.....	63
Discusión.....	66
Experimento 8: Efecto de la magnitud del reforzamiento y de sus cambios sobre el aprendizaje con nuevos parámetros de entrenamiento.....	67
Método.....	67
Resultados.....	68
Discusión.....	71

Experimento 9: Efecto de la lesión bilateral del pallium medial sobre el aprendizaje de cambios en la magnitud del reforzamiento.....	72
Método.....	72
Resultados.....	73
Discusión.....	76
CAPITULO 6. DISCUSION GENERAL.....	77
REFERENCIAS.....	83

CAPITULO 1

INTRODUCCION GENERAL

Los fenómenos de aprendizaje se refieren a la habilidad de detectar regularidades, temporales o espaciales, en la ocurrencia de eventos en el ambiente y convertirlas en información que pueda ser usada en términos de ajustes comportamentales (Hollis, 1982). En especial, el aprendizaje asociativo puede ser visto como el aprendizaje acerca de la relación secuencial entre eventos.

A pesar de las vastas diferencias en la organización cerebral (Ebbesson, 1980) y una amplia evolución divergente (Chaline, 1990), los estudios comparativos han producido poca evidencia de divergencia en el aprendizaje asociativo entre especies de vertebrados (Bitterman, 1975; Macphail, 1982, 1987). Un patrón de resultados consistente proviene del estudio de los denominados efectos paradójicos del reforzamiento, una familia de fenómenos de aprendizaje basados en el ajuste comportamental a cambios en las condiciones de reforzamiento (Amsel & Stanton, 1980). Estas situaciones involucran el efecto de la magnitud del reforzamiento sobre la resistencia a la extinción del aprendizaje y el ajuste conductual a cambios en la magnitud o la calidad del reforzamiento.

Sobre esta concepción global de los fenómenos de aprendizaje, cabe preguntarse: qué aporte puede esperarse del análisis sistemático del aprendizaje en anfibios? Por un lado, existe muy poca información disponible sobre aprendizaje en anfibios en general (Macphail, 1982; Suboski, 1992) y, en particular, sobre los fenómenos que se describen en este trabajo de tesis (para los que se cuenta con información comparativa relevante). En general tenemos datos aislados sobre problemas específicos, pero carecemos de un estudio sistemático. Por otra parte, los anfibios representan dentro de los vertebrados un grado de organización cerebral intermedio entre peces teleósteos y mamíferos (los grupos mejor estudiados). Además, si se conoce poco acerca del aprendizaje en anfibios en general, se sabe aun menos acerca de las relaciones cerebro-aprendizaje (Macphail, 1982), a pesar de la importancia de este grupo (el primero que colonizó el medio terrestre) para el conocimiento del aprendizaje en vertebrados. Esto es atribuible, al menos en parte, a la dificultad de encontrar condiciones de entrenamiento apropiadas para las especies de anfibios (Mackintosh, 1974; Ruibal, 1962; Thompson & Boice, 1975), lo cual ha representado un impedimento que en el pasado ha detenido la investigación. Los procedimientos de entrenamiento desarrollados en esta tesis podrían revertir esta situación.

El presente trabajo de tesis tiene por objetivo comenzar a obtener información sistemática sobre el aprendizaje asociativo en anfibios, utilizando una especie de anfibio anuro: *Bufo arenarum*. Para ello, fue necesario desarrollar y perfeccionar preparaciones adecuadas para el estudio de los procesos básicos del condicionamiento en esta especie, en base a estudios preliminares (Schmajuk et al., 1980, 1981). Las bases fisiológicas del modelo de aprendizaje utilizado en *Bufo arenarum* involucran un circuito reflejo en el que están comprometidos la piel y el sistema nervioso central. La

validez funcional de este circuito está bien sustentada en una serie de experimentos previos realizados en nuestro laboratorio en donde se estudió el control del balance acuoso en esta especie (Reboreda & Segura, 1984; Segura et al., 1982a, 1982b, 1984, 1987). Se determinó que en el control del balance acuoso están involucrados componentes neuroendócrinos y neurogénicos. También se observó que estos componentes actúan tanto ante cambios del medio interno como ante cambios del medio externo del animal. Así, arginina vasotocina (AVT), la principal hormona antidiurética de los anfibios, actúa modificando la permeabilidad de los epitelios involucrados en los procesos de reabsorción de agua: túbulo colector del riñón y vejiga urinaria (Reboreda & Segura, 1992). Además, a diferencia de otros grupos de vertebrados, la angiotensina II (AII) no está involucrada en la conducta de ingesta de agua (Reboreda & Segura, 1989). Pero, por otro lado, el sistema nervioso participa activamente en el control de la permeabilidad de los epitelios involucrados en el balance acuoso. Esta participación parece ser muy importante en el control de la captación de agua a través de la piel, la cual es estimulada por efectores β -adrenérgicos (Reboreda et al., 1991). Finalmente, también se obtuvo una respuesta antidiurética asociada a la administración intracarotídea de soluciones hipertónicas de NaCl.

Una vez que se dispuso de toda esta información y que fueron resueltos ciertos problemas prácticos (como lo son el mantenimiento y la crianza de animales en el laboratorio), fue posible plantear preguntas a partir del marco general esbozado anteriormente.

OBJETIVOS GENERALES DE LA TESIS

Los objetivos de esta tesis son los siguientes:

- 1) Presentar una revisión de los aspectos principales de la biología general y comparada en anfibios.
- 2) Desarrollar una preparación adecuada para estudiar el aprendizaje asociativo en el anfibio anuro *Bufo arenarum*, utilizando agua como reforzador, tomando como base la información obtenida previamente en nuestro laboratorio sobre la regulación del metabolismo hidrosalino en esta especie.
- 3) Estudiar los efectos del programa y la magnitud del reforzamiento sobre el aprendizaje asociativo en anfibios. Específicamente, situaciones que involucran un cambio en la frecuencia o la magnitud del refuerzo, para las cuales se cuenta con gran cantidad de información en otros grupos (peces, reptiles, aves y mamíferos -metatherios y eutherios-).
- 4) Estudiar el correlato neural del aprendizaje asociativo en anfibios, tomando al pallium medial como punto inicial de este análisis.

BIOLOGIA GENERAL DE LOS ANFIBIOS

El objetivo de esta sección es presentar un resumen de la biología general y comparada de este grupo, brindando así los elementos necesarios para evaluar la relevancia de los datos experimentales aportados en esta tesis.

Importancia evolutiva y clasificación de los anfibios.

Los anfibios fueron los primeros vertebrados que ocuparon el medio terrestre durante gran parte de su ciclo de vida. Este hecho fundamental en la evolución de los vertebrados sólo fue posible mediante el desarrollo de especializaciones a diversos niveles funcionales. Entre ellas merecen destacarse: a) nuevos mecanismos para el intercambio respiratorio (desarrollo de pulmones), y b) aparición de adaptaciones relacionadas con la economía de sodio (sistema mineralocorticoideo suprarrenal) y del agua (sistema antidiurético neuro-hipofisario). En el desarrollo de la presente tesis, estos mecanismos aparecen directamente implicados en el paradigma de aprendizaje utilizado en el sapo *Bufo arenarum*.

Las especies vivientes están divididas en tres órdenes: *Anura* (que incluye ranas y sapos), *Urodela* (llamado también *Caudata*, que agrupa tritones y salamandras) y *Gymnophiona* (también conocido como *Apoda*, que incluye especies vermiformes y de vida subterránea).

La importancia comparativa de los anfibios radica en sus relaciones filogenéticas con otros vertebrados. Representantes fósiles de anfibios anuros (sapos y ranas) están presentes desde el Jurásico, cerca de 190 millones de años atrás (Estes & Reig, 1973), y se piensa que ellos han derivado de un grupo de laberintodontes anfibios que fueron los que primero colonizaron la tierra durante el Devónico, hace unos 350 millones de años (Panchen & Smithson, 1988). Los principales competidores de los anfibios anuros durante su evolución temprana probablemente hayan sido los reptiles, de los cuales difieren, entre otras cosas, por su mayor dependencia del agua para su supervivencia y reproducción (Duellman & Trueb, 1986).

Organización cerebral.

A pesar de una larga historia evolutiva independiente, las estructuras cerebrales de los tres órdenes vivientes de anfibios son a grandes rasgos similares (Macphail, 1982). En particular, el cerebro de los anuros ha sido motivo de numerosos estudios morfológicos que han permitido caracterizar con bastante precisión la organización general de sus núcleos.

En cuanto a la especie de anuro estudiada en esta tesis, *Bufo arenarum*, se han realizado estudios anatómicos detallados (Lascano et al., 1971). Así, se pueden describir en forma sucesiva las siguientes estructuras cerebrales: telencéfalo, diencefalo, mesencefalo y rombencefalo. La Figura 1 muestra estas estructuras en una vista dorsal del cerebro del sapo (A) y diversas áreas cerebrales en una sección frontal a nivel medio del telencéfalo (B).

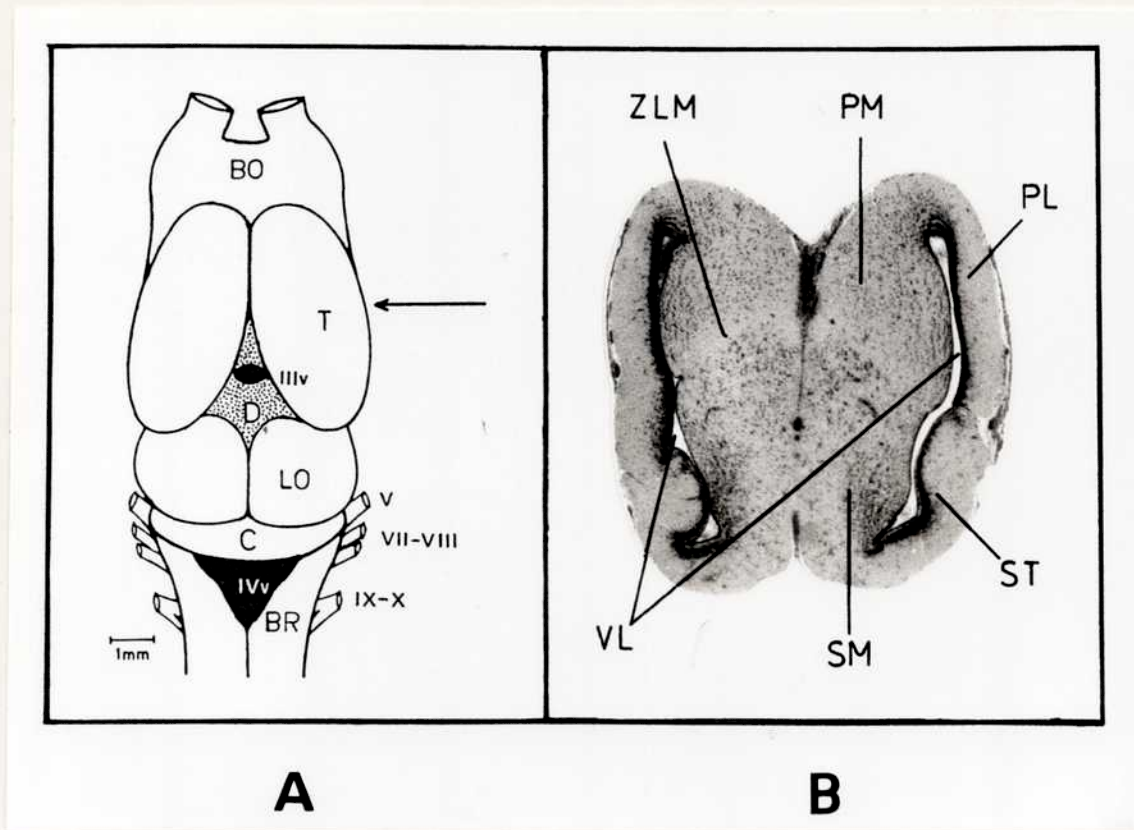


Figura 1. (A) Vista dorsal del cerebro de *Bufo arenarum*. BO: bulbo olfatorio. BR: bulbo raquídeo. C: cerebelo. D: diencéfalo. LO: lóbulo óptico. T: telencéfalo. IIIv: tercer ventrículo. IVv: cuarto ventrículo. Además, se muestra la posición de algunos nervios craneanos [V: trigémino. VII: facial. VIII: acústico. IX: glossofaríngeo. X: neumogástrico]. (B) Sección frontal (x50) a nivel medio del telencéfalo de *Bufo arenarum* (coloración Hematoxilina-eosina). PL: pallium lateral. PM: pallium medial. SM: septum medial. ST: striatum. VL: ventrículos laterales. ZLM: zona limitans medialis.

El **telencéfalo** está compuesto por estructuras bilaterales: los bulbos olfatorios y los hemisferios cerebrales. Los bulbos olfatorios se encuentran en la porción más rostral del cerebro. Tienen forma redondeada y están fusionados en la línea media. Un surco circular señala el límite con los hemisferios cerebrales. Los hemisferios son las estructuras de mayor tamaño del cerebro del sapo. Tienen forma ovoidal y se encuentran adosados medialmente en los tres cuartos anteriores de su longitud. Luego se separan y rodean al **diencéfalo**, que presenta una forma cónica con el ápice dirigido hacia la parte rostral del cerebro. Cada hemisferio cerebral está dividido en un pallium dorsal y un subpallium ventral (Llinás & Precht, 1976). Ambas áreas están separadas por una zona limitans medialis, con escasa cantidad de células. El pallium dorsal se diferencia en un primordium hippocampi interno (o pallium medial) y un primordium piriforme externo (o pallium lateral). En el subpallium se distinguen el septum medial y el striatum. El telencéfalo contiene interiormente a los ventrículos laterales, que se extienden desde la región anterior hasta la posterior. El extremo caudal de los hemisferios está al mismo nivel que la terminación del diencéfalo y limita con los lóbulos ópticos.

En el **mesencéfalo** se encuentran los lóbulos ópticos, estructuras bilaterales de forma esférica que están cubiertas por una rica red vascular y separadas entre sí por un surco medial. En su extremo caudal limitan con el cerebelo.

Finalmente, en el **rombencéfalo** está el cerebelo, que es una estructura oval única, limitando en su extremo anterior con los lóbulos ópticos y posteriormente con el bulbo raquídeo y el cuarto ventrículo.

Importancia evolutiva de la etapa larval y de la metamorfosis.

La importancia evolutiva de la larva está basada esencialmente en que los anfibios llevan a lo largo de su ciclo reproductivo dos tipos de vida diferentes. Generalmente, las larvas son acuáticas y los adultos terrestres. Así, larvas y adultos (especialmente en los anuros) difieren entre sí en sus modos de respiración, locomoción y alimentación (incluida su dieta). Estas diferencias se reflejan en el comportamiento de los individuos y en sus respuestas a los estímulos ambientales. Debido a que utilizan dos fuentes de recursos independientes, las larvas no compiten con los adultos por alimento o refugio. Por lo tanto, las presiones de selección son bastante diferentes en larvas y adultos.

Aunque existen varios grupos de animales que sufren una metamorfosis durante la ontogenia, este proceso está más estudiado en insectos y en anfibios. La *metamorfosis* se puede definir como una serie de cambios abruptos post-embrionarios que implican transformaciones estructurales, fisiológicas, bioquímicas y comportamentales (Duellman & Trueb, 1986).

La metamorfosis de los anfibios se presenta como un fenómeno único entre los vertebrados. Los tres grandes cambios que ocurren durante la misma son: a) regresión de estructuras y funciones que sólo son significativas para la larva; b) transformaciones de estructuras larvales en formas útiles para el uso del individuo adulto; y c) desarrollo de nuevas estructuras y funciones que son esenciales para el adulto. Los cambios más notorios durante la metamorfosis de los anfibios son los morfológicos. Estos cambios estructurales se acentúan en los anuros, en donde la larva acuática sufre una transformación drástica para convertirse en un adulto terrestre. Siendo las larvas de los anuros organismos tan diferentes a los adultos, tanto morfológica como ecológicamente, no resulta sorprendente que la transición larva-adulto sea abrupta y drástica. Las patas posteriores crecen y maduran; las patas anteriores se desarrollan en las cámaras branquiales, de las que emergen en el último período de la metamorfosis. Las branquias internas y los vasos sanguíneos asociados degeneran, en tanto que se desarrollan los pulmones. La cola es reabsorbida y la piel se hace más gruesa con el desarrollo de glándulas dérmicas. Las estructuras orales de las larvas degeneran y se forma la boca del adulto, en la que crecen la lengua (excepto en pípidos) y las estructuras laríngeas asociadas. El intestino se acorta y se diferencia el tracto digestivo. Los ojos se agrandan y sufren cambios estructurales y también se desarrollan los párpados.

Las transformaciones a nivel del sistema nervioso son de gran magnitud. Se ha demostrado (Kollros, 1981) que los cambios que ocurren en algunas estructuras del sistema nervioso de los anfibios durante la metamorfosis dependen del aumento de la cantidad de hormona tiroidea (T_4). Estos cambios drásticos en el sistema nervioso central incluyen (en anuros) una reducción del tamaño y, al mismo tiempo, un engrosamiento de las paredes de los ventrículos del cerebelo y la médula; también un ensanchamiento del diencéfalo, que además se acorta. Durante el último período de la metamorfosis hay una degeneración selectiva de algunos componentes celulares de la

médula espinal y de los ganglios del cuerpo. En particular, estos componentes sufren una degeneración completa en la cola de los anuros.

Relación con el ambiente y economía de agua.

Los anfibios, especialmente aquellos que en su estado adulto abandonan el agua, generalmente habitan ambientes que son hostiles a su fisiología básica. Debido a que son ectotermos y que tienen un tegumento corporal permeable, son más susceptibles a las vicisitudes del medio que cualquier otro tetrápodo. Sin embargo, a través de la combinación de estructuras morfológicas, mecanismos fisiológicos y respuestas comportamentales, se han adaptado a los más diversos ambientes terrestres (Duellman & Trueb, 1986).

Los anfibios terrestres como los anuros pasan parte de su vida en ambientes acuáticos y otra parte en ambientes terrestres. Esta situación particular hace que la regulación del balance acuoso sea más compleja que en un anfibio exclusivamente acuático, ya que deben solucionar el problema de la entrada osmótica de agua mientras permanecen en ambientes acuáticos y las pérdidas por evaporación cuando están en ambientes secos.

Además, los anfibios terrestres han tenido que desarrollar adaptaciones para enfrentar el problema de la pérdida inevitable de agua asociada al mantenimiento de una piel húmeda (a través de la cual intercambian gases). El contenido de agua de los anfibios es del 70-80% del peso corporal, observándose los porcentajes mayores en las especies acuáticas (Thorson, 1964). Los mecanismos conservadores de agua funcionan potencialmente en diferentes sitios: en las superficies respiratorias (pulmones y piel), en el sistema digestivo y en el aparato urinario (riñones y vejiga urinaria).

Los anfibios no ingieren agua por la boca en condiciones naturales (Bentley, 1966). La principal vía de ganancia de agua es a través de la piel. El agua es almacenada en la vejiga urinaria, cuyo contenido puede llegar al 30 o 40 % del peso del cuerpo en algunos anuros terrestres (Ruibal, 1962).

La piel funciona, al mismo tiempo, como la vía principal por la que los anfibios pierden agua, aunque también pierden grandes cantidades a través de los riñones (Shoemaker & Nagy, 1977).

En conclusión, los mecanismos involucrados en la conservación del agua serían: la captación y la pérdida de agua a través de la piel, eliminación de agua asociada a productos de excreción de los riñones y la acumulación de agua en la vejiga urinaria.

Teniendo en cuenta los procesos de intercambio de agua con el medio que sufren estos animales, es evidente que la supervivencia en ambientes terrestres requiere de mecanismos que aseguren la rehidratación. De esta forma, los anfibios han desarrollado diferentes adaptaciones en relación con la economía del agua:

a) *Adaptaciones comportamentales.* Los anuros terrestres son generalmente nocturnos, evitando así las altas temperaturas y baja humedad atmosférica del día. Los refugios diurnos de estos animales tienen en general un alto contenido de humedad, evitando los lugares muy soleados y expuestos a corrientes de aire. Así, pueden permanecer debajo de piedras, en el interior de troncos o entre la hojarasca. También algunas especies construyen cuevas o utilizan como refugio cuevas abandonadas por otros animales (Bentley et al., 1958; Ruibal et al. 1969).

Otra vía para minimizar la pérdida de agua es la reducción de la superficie de evaporación. Esta disminución puede lograrse mediante posturas corporales (Pough et

al., 1983; Ray, 1958) o a través de la agregación de individuos (Gehlbach et al., 1969; Johnson, 1969).

Cuando un anfibio se deshidrata adquiere motivaciones competitivas. Así, para escapar de las condiciones de desecación debe aumentar su actividad corporal, asumiendo el costo de estar elevando al mismo tiempo las pérdidas de agua por evaporación (Heatwole et al., 1969). Si, tomando una estrategia alternativa, el animal adopta una postura de conservación de agua, aunque reduce las pérdidas de agua por evaporación, no puede escapar de la situación a la que está expuesto si las condiciones de desecación persisten.

b) *Adaptaciones morfológicas*. La piel de los anfibios es altamente permeable. Al igual que en la mayoría de los vertebrados, el tegumento está formado por una capa externa de origen ectodérmico, la epidermis, y una capa subyacente, la dermis, que en su mayor parte deriva del mesodermo. Las únicas estructuras de origen ectodérmico presentes en la dermis son las células pigmentarias y las glándulas mucosas y granulosa (Lascano et al., 1971; Llinás & Precht, 1976; Whitear, 1977).

La piel de los anfibios está inervada por componentes somáticos y autonómicos. En la dermis encontramos terminaciones mielínicas y amielínicas. Algunas fibras mielínicas forman terminaciones de tipo expandido, las cuales serían sensoriales (Whitear, 1955). A partir de la dermis se proyectan hacia la epidermis fibras que son principalmente amielínicas.

La presencia de glándulas mucosas y de vascularización en la dermis es muy variable entre especies y tiene cierta relación con la absorción de agua.

El relieve de la epidermis cumple una función importante en la rehidratación. La mayoría de las salamandras y ranas que viven en ambientes acuáticos tienen una piel lisa en la superficie ventral y lateral del cuerpo; en contraste, la mayoría de los anuros terrestres y arborícolas poseen una piel granulosa. El área ventral irregular provee una mayor superficie que puede estar en contacto con el sustrato y, de esta forma, permite aumentar la tasa de captación de agua. Así, se puede observar una correlación general entre el relieve de la superficie ventral de la piel y el hábitat de los anfibios (Duellman & Trueb, 1986). En particular, se observó en la piel ventral de *Bufo bufo* la presencia de finos surcos que forman canales cutáneos que facilitan la absorción de agua a través de la epidermis (Christensen, 1974).

Por otra parte, se ha determinado que la piel ventral de la región pélvica es el área principal de captación de agua en los anuros (Dole, 1967; Baldwin, 1974). Los estudios comparativos de la vascularización de la piel de la región pélvica ventral de diversos anuros (Roth, 1973; Christensen, 1974) llevaron a dos conclusiones importantes. Primero, que esta zona posee una hipervascularización comparada con otras regiones del cuerpo. Y segundo, que los anfibios terrestres (tales como *Bufo sp.*) tienen una mayor vascularización que los semiacuáticos (como *Rana sp.*), los que a su vez poseen una mayor vascularización que los exclusivamente acuáticos (como *Xenopus sp.*). Sin embargo, hay que considerar que aunque la presencia de una intensa vascularización de la piel ventral de la región pélvica facilita una mayor captación de agua, al mismo tiempo (al llevar una gran cantidad de sangre cerca de la superficie) también aumenta la pérdida de agua por evaporación, con el consiguiente riesgo para estos animales (Duellman & Trueb, 1986).

La vejiga urinaria de los anfibios es otra estructura implicada en los mecanismos de conservación de agua. Es una proyección ventral de la cloaca que en anuros permanece distendida en forma de bolsa bilobulada cuando se encuentra llena de orina.

El tamaño de la vejiga varía entre especies de acuerdo a los ambientes a los que se han adaptado. Por ejemplo, la vejiga de especies acuáticas del género *Xenopus* es pequeña, pudiendo almacenar sólo el 1 % de su peso corporal en fluidos. En contraste, la vejiga urinaria de especies del género *Bufo* que habitan zonas áridas puede llegar a acumular hasta un 30 % del peso corporal en orina altamente diluida (Claussen, 1974; Ruibal, 1962).

También se ha determinado la utilidad potencial de la orina diluida almacenada en la vejiga en los procesos de osmoregulación. Por ejemplo, sapos del género *Bufo* sometidos a deshidratación mantienen constante la concentración de sus fluidos corporales hasta que se agotan sus reservas de orina vesical (Ruibal, 1962; Shoemaker, 1964). Por lo tanto, la principal función de la vejiga urinaria de los anfibios sería proveer reservas de agua para ser utilizada en períodos de sequía (Claussen, 1974; McClanahan, 1972).

c) *Adaptaciones fisiológicas*. Los mecanismos fisiológicos asociados con la economía de agua en anfibios incluyen la reducción de la pérdida de agua por evaporación a través de la piel, el aumento de la permeabilidad de la piel en condiciones favorables de humedad ambiental, el control de la presión de filtración glomerular y de la reabsorción tubular de agua en los riñones y también el control de la reabsorción en la vejiga (Duellman & Trueb, 1986).

Los anfibios incorporan agua osmóticamente a través de la piel. La captación de agua de animales mantenidos en condiciones estacionarias es de aproximadamente 500 ml/kg·día (Bentley, 1974; Shoemaker & Nagy, 1977). La piel de la mayoría de los anfibios prácticamente no ofrece resistencia a la evaporación de agua. La velocidad de evaporación depende de la humedad ambiental, de la temperatura, de la velocidad del viento y del tamaño corporal. En *Rana pipiens*, por ejemplo, la tasa de evaporación de agua varía entre 30 y 1600 ml/kg·día (Tracy, 1976). En términos generales, el factor intrínseco más importante que afecta la pérdida de agua por evaporación en anfibios es el tamaño corporal (Seymour & Lee, 1974; Spight, 1967).

La permeabilidad de la piel de varias especies de anfibios, incluyendo anuros, es afectada por oxitocina, arginina vasotocina o arginina vasopresina, además de hallarse bajo control nervioso por vías adrenérgicas (Bentley, 1974; Reboreda et al., 1991). Por otra parte, se ha demostrado que la piel de los anfibios anuros adultos puede captar sodio y cloro desde un medio acuático en contra de un gradiente (Salibian, 1977). En particular, en la piel del sapo *Bufo arenarum* se han descrito receptores cutáneos a electrolitos que podrían estar involucrados en las respuestas del animal ante cambios del medio externo (Reboreda & Segura, 1984).

Los riñones de los anfibios están muy bien adaptados al funcionamiento en un ambiente acuático. Animales mantenidos en agua excretan una orina altamente diluida. En los anuros, por ejemplo, sólo la mitad del filtrado glomerular se reabsorbe en los túbulos, pero la reabsorción de sodio y cloro puede llegar al 99% (Garland & Henderson, 1975). El aumento de la concentración del medio (Mayer, 1969) o la privación de agua (Sawyer & Pang, 1975) producen una disminución de la excreción de orina mediante la reducción de la tasa de filtración glomerular y el aumento de la reabsorción tubular. Bajo estas condiciones la concentración de la orina se aproxima a la del plasma, ya que los anfibios anuros son incapaces de producir orina hipertónica.

Finalmente, el agua contenida en la orina vesical puede ser reabsorbida osmóticamente hacia los tejidos. Este proceso se acelera en animales deshidratados (Ruibal, 1962). Además, al igual que los riñones, la vejiga de los anfibios puede

reabsorber sodio activamente (Bentley, 1974; DeSousa & Grosso, 1981). De esta manera, la vejiga de los anfibios presenta una forma de adaptación que soluciona las pérdidas de sodio en especies acuáticas y que funciona como un reservorio de agua para compensar las pérdidas por evaporación en anfibios terrestres.

CAPITULO 2

MARCO TEORICO DE LA TESIS

ASPECTOS GENERALES Y ALCANCE DE LAS TEORIAS DEL APRENDIZAJE.

Las primeras teorías del aprendizaje, como la "ley del efecto" de Thorndike (1911), sostenían que las respuestas que obtienen consecuencias "satisfactorias" son fortalecidas, aumentando la frecuencia o probabilidad de ocurrencia en situaciones similares, mientras que las respuestas que obtienen consecuencias "insatisfactorias" son debilitadas y dejan de producirse. Estas formulaciones dieron lugar al desarrollo de otras teorías que básicamente explicaban que la fuerza de una asociación aumenta en proporción directa al reforzamiento o recompensa. Todos los postulados acerca del aprendizaje en estas teorías clásicas apoyan la idea que los cambios en la probabilidad o fuerza asociativa de una respuesta aprendida se pueden expresar en una ecuación lineal simple. Así, varias teorías del aprendizaje han sido formalizadas mediante la elaboración de modelos lineales (e.g.: Hull, 1943; Estes, 1950; Bush & Mosteller, 1951). Por ejemplo, la teoría de Hull (1943) establece una ecuación básica (lineal) para el crecimiento de la "fuerza del hábito". En esta teoría la fuerza del hábito nunca decrece; por lo tanto, se asume que el proceso de extinción es una consecuencia del crecimiento de una fuerza asociativa inhibitoria o de una fuerza asociativa que controla una respuesta alternativa. Más recientemente, Rescorla y Wagner (1972) desarrollaron una teoría asociativa mediante un modelo lineal, para explicar la selección de estímulos en el condicionamiento pavloviano. Estos autores sostienen que existiría una "fuerza asociativa" que crece con el reforzamiento y decrece con el no reforzamiento.

Una suposición simplificadora de algunos modelos lineales teóricos es que los efectos, ya sea de un aumento como de una disminución del refuerzo, dependerían de mecanismos cognitivos similares. Esto es posible cuando dichos efectos son registrados como cambios en la probabilidad de respuesta (Bush & Mosteller, 1955; Estes, 1950) o como cambios en la fuerza asociativa (Rescorla & Wagner, 1972). En base a estos modelos, cabría considerar los efectos de una disminución del refuerzo como la inversa de los efectos de un aumento del mismo. Así, por ejemplo, las curvas de extinción presentan un patrón similar al de las curvas de adquisición. Por otra parte, el deterioro del desempeño (en inglés, performance), fuerza asociativa o probabilidad de respuesta luego de una disminución de la densidad o magnitud del reforzamiento se ajusta a los niveles apropiados para dicho valor de reforzamiento (Amsel & Stanton, 1980).

Sin embargo, aún antes de que los trabajos de Hull fuesen publicados, ya había evidencia en experimentos de aprendizaje que algunos fenómenos que ocurrían en el curso de la extinción no estaban de acuerdo con la hipótesis de la fuerza del hábito.

Rápidamente se encontraron ejemplos que confirmaban la ausencia de la esperada relación directa entre la fuerza del hábito y el desempeño, reflejada en la resistencia a la extinción. Básicamente, se observaba que una menor frecuencia o magnitud de reforzamiento durante la adquisición desencadenaba una mayor resistencia a la extinción, comparado con un reforzamiento de mayor magnitud o con mayor frecuencia. Así, varios autores publicaron trabajos en los que daban cuenta de alguno de los siguientes efectos: efecto del reforzamiento parcial sobre la extinción -ERPE- (Humphreys, 1939), efecto de la magnitud del reforzamiento sobre la extinción -EMRE- (Hulse, 1958; Wagner, 1961) y efecto de contraste negativo sucesivo -ECNS- (Elliott, 1928; Crespi, 1942). Globalmente, todos estos fenómenos representan cambios en el desempeño que no están de acuerdo con las predicciones de cualquier modelo lineal simple de aprendizaje (razón por la cual, como veremos, se los denominó "paradójicos"). Aparentemente, todos ellos se manifestarían en casos en los cuales durante la adquisición se establece una expectativa de refuerzo o anticipación de la respuesta consumatoria que luego no es satisfecha (Amsel & Stanton, 1980). Se observa, además, que estos efectos son en general mucho más salientes en el condicionamiento instrumental que en el clásico (Amsel, 1972b). Esto, tal vez, podría estar asociado a que en el condicionamiento instrumental, en contraposición al condicionamiento clásico, es el animal el que determina con su respuesta la administración del reforzador (estímulo incondicionado).

CONSECUENCIAS DE LA REDUCCION DEL REFORZAMIENTO SOBRE EL COMPORTAMIENTO: EFECTOS PARADOJICOS DEL REFORZAMIENTO.

En esta tesis se describirán las consecuencias de la reducción del refuerzo, ya sea por omisión o por una disminución de su magnitud, sobre el comportamiento del anfibio anuro *Bufo arenarum*. Precisamente, situaciones en las cuales en algún momento de la adquisición se recibe un refuerzo menos preferido o más pequeño (si es que se obtiene alguno) bajo condiciones que señalan un refuerzo más preferido o más grande, permiten expresar en cierto grupo de animales una familia de fenómenos de aprendizaje que no responden a las premisas de las teorías clásicas y que están basados en el ajuste a cambios en las condiciones de reforzamiento: los *efectos paradójicos del reforzamiento* (Amsel & Stanton, 1980).

INTERPRETACIONES DEL TERMINO "PARADOJICO".

Existen dos razones que permiten asignar a estos efectos el carácter de paradójicos (Amsel & Stanton, 1980).

Uno de los motivos es básicamente de fundamentación teórica. Se debe a que ninguno de ellos se ajusta a las predicciones de las teorías clásicas del aprendizaje. Principalmente, aquella que dice que la fuerza de una asociación aumenta en relación directa con la frecuencia y la magnitud del reforzamiento (ver Aspectos generales de las teorías del aprendizaje).

El otro motivo por el cual estos efectos son paradójicos es menos formal. Expresado en su forma más sencilla, podría decirse que, en cada caso, más produce menos, y menos produce más. Por ejemplo, el efecto de la magnitud del reforzamiento sobre la extinción (EMRE) es un caso en el que una menor magnitud de refuerzo durante la adquisición, conduce a una mayor resistencia a la extinción (i.e., se necesitan más sesiones sin refuerzo para extinguir lo aprendido).

DESCRIPCION DE LOS EFECTOS PARADOJICOS.

Los efectos paradójicos del reforzamiento que han sido más estudiados son los siguientes:

- a) Efecto del Reforzamiento Parcial -o Intermitente- sobre la Extinción (ERPE). En este caso, el efecto se manifiesta cuando una secuencia de refuerzo parcial (RP) durante la adquisición produce una mayor resistencia a la extinción, comparada con un refuerzo continuo (RC).
- b) Efecto de la Magnitud del Reforzamiento sobre la Extinción (EMRE). En esta situación, el efecto se manifiesta cuando existe mayor resistencia a la extinción después de un refuerzo pequeño (P) durante la adquisición, que luego de un refuerzo grande (G).
- c) Efecto de Contraste Negativo Sucesivo (ECNS). En este caso, el efecto se manifiesta cuando se observa un menor nivel de respuesta después que se produce un cambio de una magnitud de refuerzo grande a una pequeña (G-P), que si se mantiene una magnitud de refuerzo pequeña (P-P) a través de toda la adquisición.

En la Figura 2 se observa una representación gráfica idealizada de estos tres efectos paradójicos del reforzamiento:

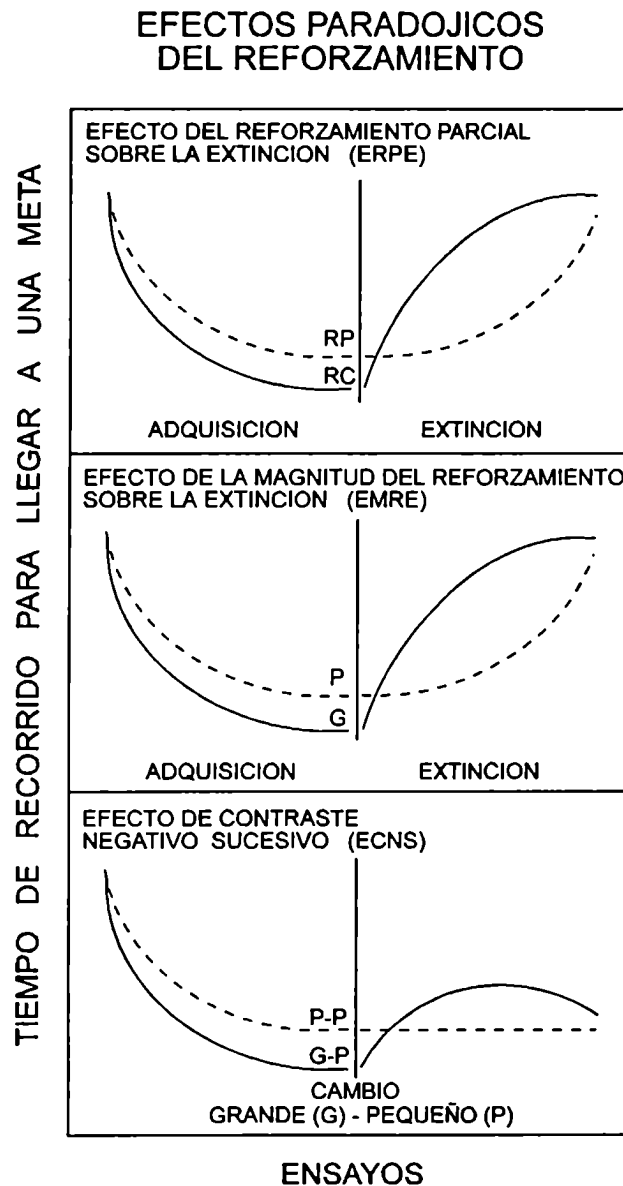


Figura 2. Representación gráfica idealizada de efectos paradójicos del reforzamiento: efecto del reforzamiento parcial sobre la extinción [ERPE], efecto de la magnitud del reforzamiento sobre la extinción [EMRE] y efecto de contraste negativo sucesivo [ECNS] (adaptado de Amsel, 1986).

TEORIA DE LA FRUSTRACION COMO UN MECANISMO PARA EXPLICAR LOS EFECTOS PARADOJICOS.

El planteo esbozado en las teorías clásicas del aprendizaje no alcanza para dar explicación a los efectos paradójicos del reforzamiento. Esto se debe básicamente, como ya se mencionó, a que en estos fenómenos la disminución del desempeño que ocurre luego de una omisión o reducción del refuerzo no es directamente proporcional a ese nivel de reforzamiento. Por lo tanto, los modelos lineales de aprendizaje sólo describen relaciones monotónicas simples tanto en la adquisición del aprendizaje como en la extinción, pero no pueden explicar los efectos paradójicos del reforzamiento.

En una serie de publicaciones teóricas, Amsel (1958, 1962, 1967, 1972a, 1972b, 1990, 1992) ha desarrollado una explicación acerca de un conjunto de fenómenos de aprendizaje que dependen de una variedad de secuencias de reforzamientos y no reforzamientos. Estos efectos se manifiestan en la adquisición y en la extinción y están relacionados con el reforzamiento apetitivo (continuo y parcial) y con el aprendizaje discriminativo.

Una premisa de esta explicación es que en el condicionamiento instrumental la disminución de la respuesta durante la extinción no consiste exclusivamente en una disminución de la fuerza asociativa o probabilidad de respuesta establecida en la adquisición, sino además, en el aprendizaje de una nueva asociación basada en las propiedades frustrantes de la omisión o la reducción del reforzamiento. Estas propiedades son aversivas y producen respuestas de escape y evitación que son incompatibles con la respuesta apetitiva de aproximación establecida en la adquisición. Esta es una caracterización "activa" de los efectos de la ausencia de reforzamiento, o reforzamiento reducido: la disminución de la respuesta sugiere el aprendizaje de una nueva tendencia de respuesta que compite con la anterior, más que el olvido de la antigua.

En el condicionamiento instrumental el *reforzador*, E_M (estímulo meta, incondicionado) desencadena una *respuesta meta primaria*, R_M (también incondicionada). Tanto E_M como R_M ocurren en este tipo de condicionamiento al final de la respuesta instrumental (por ejemplo, en la caja meta de un corredor recto). De acuerdo a este marco teórico, entre las clases de respuestas meta primarias se pueden identificar dos: (a) R_R , *respuesta de reforzamiento*, que se obtiene ante la presencia del reforzador, y (b) R_F , *respuesta de frustración primaria*, que se obtiene con la ausencia de un refuerzo esperado. En este esquema, r_R , *respuesta de reforzamiento anticipado*, y r_F , *respuesta de frustración anticipada*, son posteriormente las respuestas condicionadas a las señales del aparato o situación experimental (estímulos asociados con ensayos reforzados, R, o no reforzados, N, respectivamente).

Frustración Primaria y Frustración Anticipada.

Específicamente, esta teoría define cuatro propiedades de la frustración (Figura 3). En primer lugar, asume que en un aprendizaje instrumental se establece una **anticipación o expectativa de reforzamiento** (r_R-e_R) que comienza a controlar la respuesta de aproximación a la meta. Una vez establecida esta expectativa, la omisión o la reducción del reforzamiento provoca (como ya se mencionó) un estado motivacional aversivo llamado **Frustración Primaria** (R_F). La frustración primaria es siempre una respuesta incondicionada debida al evento frustrante. La consecuencia inmediata de R_F es el aumento a corto plazo de la motivación general, cuya consecuencia comportamental se conoce como **Efecto de Frustración**. La segunda

propiedad de la frustración es la existencia del *Estímulo de emisión de la Frustración Primaria* (E_F). Este es un estímulo de retroalimentación de la frustración primaria que actúa, como cualquier otro estímulo condicionado, señalando o dirigiendo el comportamiento (en otras palabras, actúa en forma asociativa). La tercera y la cuarta propiedades de la frustración son respectivamente la *Frustración Anticipada* o *Condicionada* (r_F) y su *Estímulo de Retroalimentación* (e_F). Cuando los ensayos no reforzados se suceden, también se repite el apareamiento de los estímulos condicionados del ambiente con los estímulos incondicionados de la ausencia de reforzamiento que determinan la frustración primaria (R_F). De esta forma, la frustración primaria puede actuar como reforzador (R_F-E_F), y los estímulos condicionados provocar una "forma condicionada" de frustración primaria que es la frustración anticipada (designada r_F , con su estímulo de retroalimentación asociado e_F), lo cual lleva a respuestas de evitación de la meta (Figura 3). Esta evitación de la meta se fortalece pues, ante la omisión repetida del reforzamiento, ese estímulo de retroalimentación (condicionado) desencadena respuestas que compiten con la respuesta instrumental previamente establecida, aumentando así la variabilidad de respuesta.

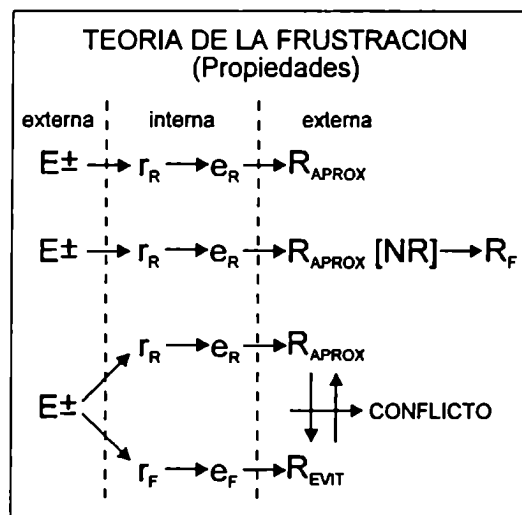


Figura 3. Diagrama que representa las diferentes propiedades definidas por la teoría de la frustración.

Resumiendo, la teoría sugiere que además de que durante la extinción hay una disminución de la fuerza asociativa de la conducta instrumental, existe una reacción emocional a la expectativa de reforzamiento no satisfecha, cuya anticipación interfiere aún más con la respuesta instrumental.

La explicación de la teoría de la frustración de los efectos paradójicos se basa en la suposición de que el condicionamiento de evitación (en la extinción, en el contraste o en otros efectos de reducción relativa del refuerzo) depende de la magnitud de la frustración primaria (R_F). Esta magnitud de R_F se establece de acuerdo a la discrepancia que existe entre la expectativa de refuerzo generada (r_R-e_R) y el refuerzo efectivamente obtenido. Así, los factores que aumentan la fuerza o el valor de la

expectativa del refuerzo (e.g., una magnitud de refuerzo grande o un reforzador preferido), incrementan la frustración primaria cuando se omite el refuerzo. Por lo tanto, llevarán a un aumento de la evitación de la meta y, en consecuencia, a una más rápida extinción (Mackintosh, 1974). Además, durante la extinción, la fuerza de esta respuesta condicionada (i.e., la frustración anticipada) se incrementa como una función del número y magnitud de los ensayos reforzados en la adquisición, alcanzando un nivel asintótico apropiado de acuerdo a la fuerza de la frustración primaria establecida previamente.

De esta forma, una gran magnitud de refuerzo en la adquisición producirá una más rápida extinción que refuerzos pequeños (efecto de la magnitud del reforzamiento sobre la extinción, EMRE). El mismo razonamiento vale para el efecto de contraste negativo sucesivo (ECNS), que sería una versión menos drástica del EMRE, donde el cambio es a una magnitud de refuerzo menor y no a cero.

Contracondicionamiento.

La teoría de la frustración también puede explicar el efecto del reforzamiento parcial sobre la extinción (ERPE), pero para ello hace una suposición adicional: la existencia del *Contracondicionamiento de la Frustración Anticipada*. Este caso particular al que se aplica la teoría responde a un esquema de reforzamiento parcial o intermitente. Es decir, en una condición (reforzamiento parcial, RP), para una misma respuesta instrumental los refuerzos y no refuerzos están intercalados al azar durante la adquisición, cada uno con un porcentaje determinado, mientras que en la otra condición (reforzamiento continuo, RC), los refuerzos ocurren en todos los ensayos.

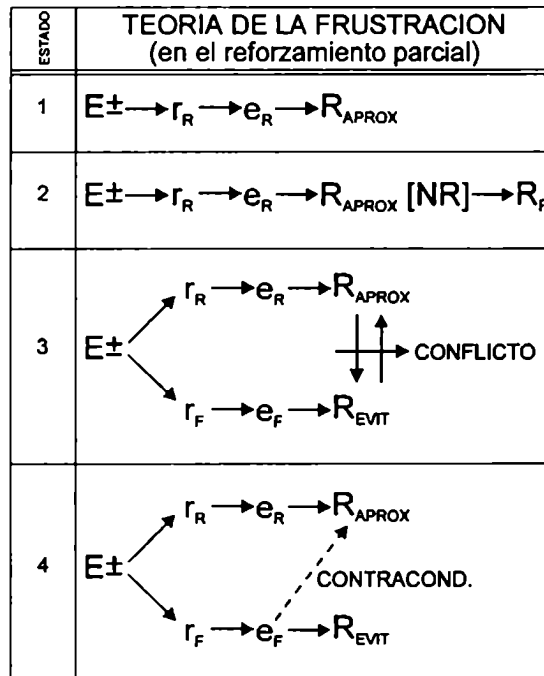


Figura 4. Representación de los cuatro estados hipotéticos definidos por la teoría de la frustración en el reforzamiento parcial o intermitente.

La explicación consta de cuatro estados hipotéticos sucesivos (Figura 4) que llevan a desarrollar una mayor resistencia a la extinción en la condición RP. En el primer estado, los refuerzos iniciales en el entrenamiento RP determinan el condicionamiento de la expectativa de refuerzo (r_R-e_R) a los estímulos del ambiente ($E\pm$), generando una respuesta de aproximación a la meta (R_{APROX}). En el segundo estado, una vez que la expectativa de refuerzo es suficientemente fuerte, la omisión del refuerzo provoca frustración primaria (R_F), respuesta incondicionada que se convierte luego en un reforzador para el condicionamiento de la frustración anticipada (r_F) y su estímulo de retroalimentación (e_F) a los estímulos ambientales ($E\pm$). En el tercer estado, debido a que r_F se fortalece luego de cada ensayo no reforzado, e_F produce una respuesta de evitación de la meta (R_{EVI}). Esta respuesta de evitación compite con la respuesta de aproximación provocada por la expectativa de refuerzo, que se fortalece después de cada ensayo reforzado. En el último estado, se puede causar una aproximación a la meta durante la frustración anticipatoria por el contracondicionamiento del estímulo de retroalimentación e_F (esto es posible pues bajo este programa de reforzamiento, e_F adquiere alguna asociación con la respuesta de aproximación).

Así, la frustración anticipatoria, que inicialmente produce una respuesta de evitación (que es la que causa los efectos de la magnitud del reforzamiento y de contraste), cuando va seguida por reforzamiento (como en el reforzamiento parcial) puede contracondicionarse; es decir, quedar asociada a una tendencia conductual (aproximación) opuesta a la inicial (evitación). En el entrenamiento RC, en cambio, la respuesta se deteriora rápidamente pues la primera experiencia de frustración en la extinción (frustración primaria) y su posterior condicionamiento (frustración condicionada) determinan una fuerte tendencia de evitación, que nunca es contrapuesta por una tendencia de aproximación contracondicionada. En consecuencia, estos mecanismos determinarían una mayor resistencia a la extinción en la condición RP respecto de la condición RC.

Finalmente, existe evidencia experimental que sugiere que algunos de los efectos paradójicos del reforzamiento son producidos por unos pocos procesos comunes, tal como lo postula la teoría de la frustración, en base a estudios realizados con ratas adultas (Amsel, 1958, 1962; Daly & Daly, 1982; Gonzalez & Bitterman, 1969) y también con ratas lactantes (Amsel & Stanton, 1980; Daly, 1991).

ANALISIS COMPARATIVO DEL APRENDIZAJE:

Similitudes y diferencias en el aprendizaje asociativo entre especies de vertebrados.

DIFERENCIAS ENTRE ESPECIES EN LOS EFECTOS PARADOJICOS.

Los estudios comparativos realizados hasta el presente aportan datos acerca de una cierta divergencia en el aprendizaje asociativo en vertebrados, aunque desafortunadamente, la información es incompleta pues falta una investigación sistemática en un número suficiente de especies. Los argumentos de mayor valor provienen de la comparación del desempeño instrumental de ratas (*Rattus norvegicus*) y peces teleósteos (*Carassius auratus*) en situaciones análogas de entrenamiento.

Bajo condiciones de entrenamiento espaciado, en ratas se observa (1) mayor resistencia a la extinción luego de un entrenamiento con reforzamiento parcial que después de reforzamiento continuo (efecto del reforzamiento parcial sobre la extinción, ERPE); (2) más resistencia a la extinción después de un entrenamiento con una pequeña magnitud de reforzamiento que con una magnitud de reforzamiento grande (efecto en la extinción de la magnitud de reforzamiento, EMRE); y (3) mayor rechazo de un reforzador menos preferido después de un entrenamiento con uno más preferido en comparación con ratas siempre entrenadas con un reforzador menos preferido (efecto de contraste negativo sucesivo, ECNS) (Bitterman, 1969; Crespi, 1942; Elliott, 1928; Gonzalez & Bitterman, 1969; Hulse, 1958; Vogel et al., 1968; Wagner, 1961; Weinstock, 1954, 1958).

En cambio, bajo condiciones de entrenamiento espaciado los peces muestran (1) más rápida extinción después de reforzamiento parcial que después de reforzamiento continuo; (2) más rápida extinción luego de un entrenamiento con refuerzos pequeños que después de un entrenamiento con magnitudes grandes de reforzador; y (3) ningún cambio en la performance cuando es disminuida la magnitud de reforzamiento o la calidad del reforzador (Boitano & Foskett, 1968; Couvillon & Bitterman, 1985a; Gonzalez et al., 1972; Lowes & Bitterman, 1967; Schultz & Bitterman, 1969).

Macphail (1982, 1987) sugirió que estas diferencias entre especies en experimentos de aprendizaje reflejan el efecto de variables contextuales (diferencias entre especies en las capacidades perceptuales, motivacionales y/o motoras), más que una divergencia en los procesos de aprendizaje. Por ejemplo, es posible que en peces no se observe un determinado efecto paradójico debido a que las magnitudes de reforzamiento utilizadas no son las adecuadas o por los requerimientos perceptuales o motrices de la situación en la que se entrenan los animales. La aproximación estándar para abordar la explicación contextual de las diferencias entre especies en el desempeño es el método de *variación sistemática*. Las variables que se sabe afectan el desempeño son manipuladas intentando eliminar las diferencias y mostrar los aspectos comunes de los procesos de aprendizaje subyacentes (Bitterman, 1975). Pero, además de la variación sistemática, la búsqueda de patrones de resultados (i.e., los efectos paradójicos de reforzamiento) en otras especies proveería información acerca de la medida en que una diferencia particular en el desempeño depende de variables contextuales (Papini, 1987). Así, la generalidad comparativa de estos patrones resulta luego intrínsecamente importante como también apropiada para entender el origen de las diferencias comportamentales (i.e., aprendizaje vs desempeño) observadas en experimentos con ratas y peces teleósteos.

Algunos de estos efectos paradójicos de reforzamiento han sido descritos en vertebrados homeotermos bajo condiciones de entrenamiento análogas abarcando motivación por alimento sólido o por agua. Por ejemplo, el ERPE ha sido encontrado en palomas (*Columba livia*, Roberts et al., 1963). Además, el ECNS fue descrito en humanos (Kobre & Lipsitt, 1972), chimpancés juveniles (*Pan troglodytes*, Cowles & Nissen, 1937), monos (*Macaca spp.*, Tinklepaugh, 1928), y marsupiales didélfidos (*Didelphis albiventris* y *Lutreonina crassicaudata*, Papini et al., 1988).

Efectos no paradójicos han sido obtenidos en otros peces teleósteos (*Tilapia macrocephala*, Gonzalez et al., 1965, 1967; Longo & Bitterman, 1960), en sapos (*Bufo arenarum*, Schmajuck et al., 1981), y en tortugas (*Chrysemys picta picta* y *Geoclemys reevesii*, González & Bitterman, 1962; Ishida & Papini, 1993; Papini & Ishida, 1994; Pert & Bitterman, 1970; Pert & Gonzalez, 1974). En todos estos casos, el ajuste a cambios en las condiciones de reforzamiento es similar a aquella descrita anteriormente para peces.

Sin embargo, dado que estas investigaciones comparativas han estado dirigidas en general a alguno de estos fenómenos en particular, no se ha logrado hasta el presente una versión completa del comportamiento de estas especies ante una variedad de situaciones paradójicas.

Persistencia Sensorial.

Existe una excepción a esta generalización, ya que algunos de estos fenómenos aparecen cuando los ensayos se programan con intervalos cortos (i.e., ensayos masivos), tanto en peces (Gonzalez & Bitterman, 1967) como en tortugas (Murillo et al., 1961). Actualmente, existe evidencia de que bajo ciertas condiciones masivas operan procesos de *Persistencia Sensorial (Sensory Carry-Over)* que imitan procesos asociativos más complejos y pueden dar resultados superficialmente análogos. La persistencia sensorial es la habilidad que tiene un reforzador, presente en un ensayo, de controlar el desempeño en el ensayo siguiente (Hull, 1952). En consecuencia, es un factor importante a tener en cuenta, ya que puede producir conductas "paradójicas" aún en ausencia de frustración. Por lo tanto, este tipo de estudios se hacen más informativos cuando se eliminan los efectos de la persistencia sensorial. La forma más simple de hacerlo es mediante el aumento del intervalo inter-ensayo; por ejemplo, intervalos de 24 hs (Weinstock, 1954). Así, se observa en general que los estudios comparativos comprenden un ensayo por día (de esa manera no pueden existir interpretaciones sujetas al estímulo de persistencia sensorial).

Resumen del análisis comparativo.

La Tabla 1 presenta un resumen de los experimentos comportamentales que han estudiado el ERPE, el EMRE, y el ECNS con *animales adultos y procedimientos de entrenamiento espaciado*. El uso de un ensayo por día es crucial para atenuar el efecto de los procesos de persistencia sensorial del estímulo, los cuales pueden reducir estos efectos del cambio del reforzamiento a un caso especial de disminución de la generalización de estímulos (Sheffield, 1949). Un hecho interesante de este resumen es la covariación de estos tres efectos de aprendizaje. Siempre que fueron estudiados en una especie dada, ellos estaban todos presentes o todos ausentes, aunque como también muestra la Tabla 1, esta conclusión debe ser tomada con cuidado pues clases y familias enteras de vertebrados aún no han sido estudiadas.

TABLA 1. Efectos paradójicos del reforzamiento en vertebrados adultos bajo condiciones de entrenamiento espaciado.						
Especies			Respuesta	Reforzador	Aparato	
ERPE	EMRE	ECNS				
<i>Macaca spp.</i> (monos) ¹						
-	-	Si	Manipulación	Alim. sólido	Tipo WGTA	
<i>Rattus norvegicus</i> (rata albina) ²						
Si	Si	Si	Recorrido	Alim. sólido	Corredor recto	
-	-	Si	Recorrido	Alim. sólido	Laberinto complejo	
Si	-	-	Palanqueo	Alim. sólido	Caja de Skinner	
Si	-	Si	Ingestión de líquido	Alim. líquido/ Agua	Consumatorio	
<i>Didelphis albiventris</i> (comadreja overa), <i>Lutreolina crassicaudata</i> (comadreja colorada) ³						
		Si	Ingestión de líquido	Alim. líquido	Consumatorio	
<i>Columba livia</i> (paloma) ⁴						
Si	-	-	Recorrido	Alim. sólido	Corredor recto	
<i>Dipsosaurus dorsalis</i> (iguana desértica) ⁵						
No			Recorrido (escape)	Temperatura	Corredor recto	
<i>Chrysemys picta</i> , <i>Geoclemys reevesii</i> (tortugas) ⁶						
No	No	No	Recorrido	Alim. sólido	Corredor recto	
<i>Bufo arenarum</i> (sapo) ⁷						
-	-	No	Recorrido	Agua	Corredor recto	
<i>Carassius auratus</i> (pez teleósteo) ⁸						
No	No	No	Natación	Alim. sólido	Corredor recto	
-	-	No	Succión	Alim. líquido	Consumatorio	
<i>Tilapia macrocephala</i> (pez teleósteo) ⁹						
No	No	-	Natación	Alim. sólido	Corredor recto	

Nota. Si: el efecto fue encontrado. No: el efecto no fue encontrado. - : no existen datos disponibles. En el experimento de Tinklepaugh (1928), el aparato utilizado fue luego descrito como el aparato de testeo general de Wisconsin (en inglés, WGTA).

¹ Tinklepaugh (1928).

² Crespi (1942); Elliott (1928); Gonzalez & Bitterman (1969); Hulse (1958); Lykely et al. (1971); Shanab et al. (1975); Vogel et al. (1968); Wagner (1961); Weinstock (1954, 1958); Wilson et al. (1955).

³ Papini et al. (1988).

⁴ Roberts et al. (1963).

⁵ Graf (1972).

⁶ Gonzalez & Bitterman (1962); Ishida & Papini (1993); Papini & Ishida, 1994; Pert & Bitterman (1970).

⁷ Schmajuk et al. (1981).

⁸ Boitano & Foskett (1968); Couvillon & Bitterman (1985); Gonzalez et al. (1972); Lowes & Bitterman (1967); Schutz & Bitterman (1969).

⁹ Gonzalez et al. (1965, 1967); Longo & Bitterman (1960).

Un segundo hecho interesante de los resultados comparativos resumidos en la Tabla 1 está relacionado a su distribución taxonómica. Los efectos sólo se han observado en todas las especies de aves y mamíferos estudiadas hasta el momento. En cambio, las especies de reptiles, anfibios y peces estudiadas, bajo condiciones análogas de entrenamiento, siempre mostraron modos diferentes de ajuste a la transición en las condiciones de reforzamiento. En estos animales, después de un entrenamiento de adquisición con ensayos espaciados y una magnitud de refuerzo pequeña o con reforzamiento parcial, se observa que el desempeño de extinción es más pobre, o la tasa de extinción es más alta, que luego de un entrenamiento con una magnitud de refuerzo grande o con reforzamiento continuo. Además, un cambio de una magnitud de refuerzo grande a una pequeña, o bien no tiene efectos sobre la respuesta, o produce un ajuste gradual que iguala el nivel del grupo control que siempre fue entrenado con una magnitud pequeña. Por lo tanto, no existe hasta el presente evidencia de un ERPE, un EMRE o un ECNS en experimentos con reptiles, anfibios o peces teleósteos con ensayos espaciados (ver referencias en la Tabla 1).

ANALISIS ONTOGENETICO DE LOS EFECTOS PARADOJICOS.

Junto al estudio comparado de los efectos paradójicos, el análisis de sus variaciones durante la ontogenia ofrece posibilidades teóricas de similar interés, de modo que ambos abordajes resultan complementarios (Amsel & Stanton, 1980).

Los estudios ontogenéticos realizados en ratas muestran que los efectos paradójicos aparecen gradualmente durante el desarrollo. Experimentos hechos con ratas lactantes muestran que a los 10 días de edad no exhiben el ERPE y que este fenómeno lo desarrollan en los días subsiguientes (Chen & Amsel, 1980a, 1980b; Letz et al., 1978). Otros experimentos también con ratas lactantes (Chen et al., 1981) indican que un cambio a extinción después de un entrenamiento con una magnitud de reforzamiento grande o pequeña no lleva a un EMRE, y que un cambio de una magnitud de reforzamiento grande a una pequeña no da evidencia del ECNS (ver también Burdette et al., 1976; Stanton & Amsel, 1980). En realidad, todos estos fenómenos paradójicos aparecen gradualmente en ratas lactantes desde los 10 a los 26 días de edad.

Amsel (1992) sugirió que la emergencia gradual de estos efectos de aprendizaje en ratas lactantes está relacionada a los cambios morfogenéticos y sinaptogenéticos que ocurren en la formación hipocampal durante este periodo (Altman & Bayer, 1975; Bayer, 1980a, 1980b; Cotman et al., 1973). Daly (1991) ha mostrado que para explicar la emergencia gradual de estos efectos de aprendizaje en ratas lactantes es necesaria una simple suposición de desarrollo. El ERPE es observado por primera vez en ratas de 15 días de edad, el EMRE en ratas de 20 días de edad, y el ECNS en ratas de 25 días de edad (Amsel, 1992). Esta secuencia de aparición puede ser explicada por un modelo que asume que el no reforzamiento en ratas lactantes aumenta su aversividad desde el día 12 al día 26 después del nacimiento (Daly, 1991). En otras palabras, este modelo asume que la habilidad para anticipar una respuesta de frustración aumenta durante ese período.

BASES NEUROFISIOLÓGICAS DE LOS EFECTOS PARADÓJICOS.

Amsel y Stanton (1980), en base a estudios desarrollados en mamíferos -fundamentalmente en ratas-, sugirieron que el sistema límbico podría constituir parte del sustrato neural involucrado en el mecanismo de los efectos paradójicos explicados en términos de frustración. El componente del circuito límbico que ha sido más enfatizado en esta discusión es el sistema septo-hipocampal.

La premisa referida a la emergencia gradual de estos efectos de aprendizaje en ratas lactantes se basa en la observación de que durante la ontogenia la capa de células granulares del giro dentado (una porción de la formación hipocampal), muestra una rápida tasa de crecimiento postnatal durante el mismo período en el que aparecen los efectos paradójicos (10-25 días) (Altman & Bayer, 1975; Bayer, 1982).

Teniendo en cuenta que la aparición gradual de los efectos paradójicos podría estar relacionada con el desarrollo de la formación hipocampal, las lesiones del sistema septo-hipocampal deberían eliminar dichos efectos de aprendizaje. El tratamiento con rayos X de ratas durante el crecimiento (proceso que afecta la neurogénesis de la capa de células del giro dentado hipocampal) reduce el ERPE cuando esos individuos son adultos (Brunner et al., 1974). En ratas adultas, se ha demostrado que alguno de estos efectos dependen de la integridad de la formación hipocampal (Gray & McNaughton, 1983). En general, las lesiones de las estructuras que están dentro del sistema septo-hipocampal eliminan en ratas adultas el ERPE, el EMRE y el ECNS. Específicamente, en el reforzamiento parcial la lesión del hipocampo lleva a un incremento de la resistencia a la extinción después de un entrenamiento RC y a una reducción de la resistencia a la extinción luego de un entrenamiento RP (Brunner et al., 1974; Feldon et al., 1985; Jarrard & Isaacson, 1965; Rawlins et al., 1980; Winocur & Mills, 1969). En el caso del contraste, las lesiones del hipocampo o del área septal llevan a una ausencia de variación en la respuesta luego de un cambio de un refuerzo grande a uno pequeño (Franchina & Brown, 1971; Flaherty et al., 1973). Además, se observó que las lesiones septales eliminan el efecto de la magnitud del reforzamiento pues llevan a un aumento de la resistencia a la extinción luego de un entrenamiento con una magnitud de refuerzo grande respecto de la extinción después de un entrenamiento con magnitud pequeña (Wolfe et al., 1966).

Existen también evidencias que relacionan otros componentes del sistema límbico con los efectos paradójicos. Por ejemplo, las lesiones de la amígdala hacen que desaparezca la sensibilidad a los cambios en el refuerzo (Schwartzbaum, 1960) y las lesiones de la corteza del cíngulo eliminan el ECNS (Gurowitz et al., 1970).

En un aspecto complementario, existe evidencia experimental que indica que luego de una omisión o reducción inesperada del reforzamiento, los mamíferos muestran elevados niveles de corticosterona circulante, una hormona asociada normalmente a reacciones de estrés (Dantzer et al., 1980; Flaherty et al., 1985; Goldman et al., 1973). En forma similar, drogas ansiolíticas tales como el amobarbital sódico, clordiazepóxido y etanol, reducen o eliminan en ratas el ERPE (Barry et al., 1962; Devenport, 1984; Feldon & Gray, 1981a, 1981b; Feldon et al., 1979; Gray, 1969; Gray & Dudderidge, 1971; McNaughton, 1984; Willner & Crowe, 1977) y el ECNS (Becker & Flaherty, 1982; Flaherty & Driscoll, 1980; Flaherty et al., 1980, 1982, 1986, 1990; Rosen & Tessel, 1970; Rosen et al., 1967), alterando por otra parte la actividad eléctrica de estructuras límbicas (Guerrero-Figueroa et al., 1973). De acuerdo a estos resultados, el sistema septo-hipocampal podría funcionar como el sustrato de la inhibición en el condicionamiento instrumental (Gray, 1977; Gray et al., 1978). Este sistema suprimiría

respuestas que tienen salidas aversivas (como un castigo o, simplemente, ausencia de un reforzamiento esperado).

En conclusión, los mamíferos no sólo reaccionarían emocionalmente a una reducción inesperada en la calidad o cantidad del refuerzo, sino que también aprenderían a anticipar la ocurrencia de dichas reacciones emocionales. En este planteo, el sistema septo-hipocampal puede ser el sitio donde ocurre tal aprendizaje (Amsel, 1992; Gray, 1987).

En esta tesis se intentará determinar si este marco teórico-experimental desarrollado en mamíferos se ajusta a los procesos de aprendizaje en anfibios, estudiando específicamente el aprendizaje instrumental del sapo *Bufo arenarum*.

CAPITULO 3

APRENDIZAJE INSTRUMENTAL EN ANFIBIOS: ESTUDIOS PRELIMINARES

INTRODUCCION

Los experimentos que comprende esta tesis continuan esfuerzos preliminares para estudiar los efectos de contraste en el sapo *Bufo arenarum* (Schmajuk et al., 1981).

Se sabe que los anfibios dependen en gran medida del agua tanto para la supervivencia como para la reproducción (Duellman & Trueb, 1986). En base a esto, la situación de entrenamiento usada en estos experimentos está basada en una rehidratación después de una deprivación de agua. De acuerdo a estudios previos, se ha determinado que la rehidratación en los sapos es llevada a cabo por la absorción de agua a través del parche ventral de piel en la región pélvica (Christensen, 1974; Reboreda et al., 1991).

Existe poca información en cuanto a las bases neurofisiológicas del aprendizaje en anfibios (Macphail, 1982). Sí hay estudios respecto de la homología de ciertas áreas del cerebro de los anfibios con algunas regiones cerebrales de los mamíferos. El pallium medial de los anfibios es usualmente considerado homólogo al hipocampo de los mamíferos. Primero, la posición del pallium medial en el telencéfalo de los anfibios se corresponde con la posición dorsomedial del hipocampo en monotremas y marsupiales (Angevine, 1975; Hoffman, 1967). Segundo, las principales aferencias (desde el bulbo olfatorio, septum, amígdala, tálamo y los núcleos del rafe) y las conexiones eferentes (a las mismas áreas, más núcleos accumbens e hipocampo) son muy similares a las conexiones del subicular y campos CA de la formación hipocampal de los mamíferos (Bayer, 1985; Hoffman, 1963; Northcutt & Ronan, 1992; Schwerdtfeger & Germroth, 1990). Finalmente, la formación hipocampal de los mamíferos y el pallium medial de los anfibios muestran concentraciones similares de algunas enzimas, tales como succinato deshidrogenasa, acetilcolinesterasa, y monoamino oxidasa (Contestabile et al., 1990; Northcutt, 1974; Walaas, 1983).

EXPERIMENTO 1

Aprendizaje instrumental en un corredor recto.

La información disponible sobre aprendizaje asociativo en anfibios es limitada y en la mayor parte de los casos involucra el uso de reforzadores aversivos (Macphail, 1982). En particular, en la especie con la que trabajamos, *Bufo arenarum*, los datos existentes sobre aprendizaje son escasos. En el primer experimento, se intenta replicar una observación preliminar de Schmajuk, Segura y Rebores (1980, Experimento 1), quienes encontraron que el desempeño en un corredor recto mejoraba después de una serie de siete sesiones de entrenamiento, y era seguido de una relativamente rápida extinción cuando el reforzamiento era retirado. Además, se describen otras características del desempeño de los sapos, entre las cuales está el comportamiento durante el primer ensayo de cada sesión, el desempeño intra-sesión durante la extinción y la captación de agua durante la adquisición.

METODO

Sujetos. Se utilizaron ocho sapos machos adultos, capturados en los alrededores de Buenos Aires, Argentina. Desde su llegada al laboratorio, permanecieron al menos durante dos semanas en grupos, dentro de jaulas con libre acceso a agua corriente. Cada 3 días fueron alimentados con pequeños trozos de hígado de vaca y con larvas vivas de *Tenebrio molitor*. La temperatura del cuarto donde se encontraban se mantuvo entre 21 y 23°C, bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12:12 hs (luz desde las 7:00 hs hasta las 19:00 hs). Antes del comienzo del experimento, los sapos fueron transferidos a cajas individuales con libre acceso a agua deionizada (luego usada como reforzador). Al principio del experimento los sapos no tenían experiencia previa y sus pesos estándar variaban entre 94.8 y 119.2 g (el *peso estándar* es el peso de un animal totalmente hidratado con sus vejigas urinarias vacías; Ruibal, 1962).

Aparatos. Los animales se entrenaron en un corredor recto de Plexiglas negro, de 100 cm de largo, 12 cm de ancho y 20 cm de alto. Estaba dividido en un compartimiento de partida (20 cm de largo), un corredor (60 cm de largo) y un compartimiento meta (20 cm de largo). Dos puertas guillotina controlaban la entrada al corredor desde el compartimiento de partida, y la entrada al compartimiento meta desde el corredor. En cada una de las tres secciones había una luz blanca (15 W) que daba iluminación uniforme. En el compartimiento meta estaba ubicado un recipiente de plástico de 13 cm de largo, 10 cm de ancho y 3 cm de alto, con agua deionizada. El acceso al agua, utilizado como refuerzo, era regulado por la altura de una grilla de alambre tejido. Cuando la grilla se ubicaba a nivel de la superficie del agua, el parche pélvico ventral del animal hacía contacto con el agua. Cuando la grilla era ubicada por encima de la superficie del agua, el animal no podía hacer contacto con el agua, impidiéndose así la conducta consumatoria. Este procedimiento aseguraba que las señales sensoriales provenientes del agua (olfatorias o visuales) se mantuvieran constantes tanto en los ensayos reforzados como en los no reforzados. La parte superior del aparato estaba cubierta con una tapa de Plexiglas transparente, la cual funcionaba como pantalla y proveía aislamiento.

Los animales que se desplazaban dentro del corredor recto eran observados constantemente a través de un espejo rectangular colocado por encima del corredor en un ángulo conveniente.

La temperatura del cuarto de experimentación se mantenía entre 21-23°C mediante un equipo de aire acondicionado frío-calor.

El cuarto de experimentación estaba provisto de un parlante conectado a un generador de ruido blanco. Este proveía un rango de frecuencias aproximado de 20 Hz a 30 kHz.

El ciclo diario de luz-oscuridad era controlado por un reloj Diehl de programa diario con reserva de marcha.

La humedad ambiente del cuarto de experimentación se mantenía entre 48-52% HR mediante un humidificador.

Procedimiento. Previo al entrenamiento, hubo un período de habituación al laboratorio. El objetivo fue proveer a los animales de una fase inicial de acostumbamiento a las nuevas condiciones de cautiverio. Esta etapa tuvo una duración aproximada de 2 semanas, durante las cuales se dejó a los animales bajo las condiciones de mantenimiento descriptas anteriormente.

La selección de los animales experimentales se realizaba en todos los casos en base a un *examen general de aptitud*, con el objeto de descartar aquellos animales que tenían malformaciones físicas o que se habían deteriorado en el traslado hacia el laboratorio. Este examen tenía un protocolo de exploración física-neurológica por observación que constaba de los siguientes puntos:

- a) Pupilas: observar su simetría y su reactividad a la luz.
- b) RVO (Reflejo vestibulo-ocular): observar la tendencia del globo ocular a permanecer en la misma posición relativa ante un movimiento de la cabeza en sentido inferior-superior.
- c) RVC (Reflejo vestibulo-cefálico): observar la tendencia de la cabeza a permanecer en la misma posición relativa ante un movimiento en sentido inferior-superior.
- d) Abrazo: observar su existencia y su liberación ("release").
- e) Enderezamiento inmediato: observar su presencia al invertir el cuerpo del animal.
- f) Respuestas de defensa: determinar la presencia de
 - 1) Respuesta de defensa catatónica (al oprimir el esternón el animal se queda inmóvil).
 - 2) Reflejo de defensa cefálico "unken" (poniendo un obstáculo en contacto con la trompa, el animal empuja hacia adelante).
 - 3) Reflejo de defensa "kicking" (estimulando los flancos, el animal da una patada).
 - 4) Reflejo de limpieza en miembros -segmentario-:
 - *anterior: estimulando la trompa, el animal pasa por ésta su miembro anterior.
 - *posterior: estimulando el miembro posterior, lo retira hacia el cuerpo.
- g) Tono y fuerza muscular: determinar su existencia en cada miembro.
- h) Marcha a saltos: observar que la marcha sea sin tropiezos.
- i) Canto: verificar su presencia al tomar al animal por sus flancos.
- j) Reflejo de esfínteres: observar durante la manipulación la liberación de orina.
- k) Natación: verificar que sea regular.
- l) Morfología: observar simetría general.

Una vez concluido este examen, los sapos seleccionados se colocaban en cajas de plástico individuales que contenían agua deionizada. Posteriormente, se determinaba el

peso estándar de cada uno. Los animales, entonces, permanecían en sus cajas hasta el comienzo del preentrenamiento.

El preentrenamiento tenía como objetivo habituar a los sapos a las condiciones experimentales y adaptarlos a un programa diario de privación de agua de aproximadamente 16 horas de duración. Durante el período de privación de agua, los animales permanecían en jaulas individuales donde se deshidrataban parcialmente hasta llegar al 80% de su peso estándar (con este peso los animales comenzaban tanto las sesiones de preentrenamiento como las de entrenamiento). El preentrenamiento constaba de 4 sesiones, una por día, de 20 minutos cada una. Durante estas sesiones cada uno de los animales era ubicado en el compartimiento de partida del corredor recto con las dos puertas guillotina elevadas. Sobre el piso del aparato se distribuían unas gotas de agua deionizada, con el objeto de facilitar el desarrollo de la rutina de desplazamiento a través del corredor hacia el compartimiento meta. El agua deionizada se usa rutinariamente en experimentos que involucran absorción de agua en sapos, entre otras cosas, pues es más fácil de replicar a través de los laboratorios que, por ejemplo, el agua corriente. En la cuarta sesión de preentrenamiento, los sapos podían tener acceso al agua en el recipiente ubicado dentro del compartimiento meta durante 4 ensayos sucesivos. El intervalo entre ensayos fue de 10 s y el tiempo que se le permitió consumir agua (tiempo de reforzamiento) fue de 120 s en cada ensayo.

El entrenamiento de adquisición comenzó al día siguiente y abarcó 10 sesiones, una por día, cada una con 8 ensayos y un intervalo entre ensayos de 10 s. Igual que durante el preentrenamiento, el reforzamiento fue un período de 120 s de acceso al agua al final de cada ensayo. Las 5 sesiones siguientes, también una por día, fueron de extinción. Estas sesiones fueron idénticas a las previas, excepto que la grilla de alambre tejido se elevó a una posición que no permitía el contacto de la piel ventral con el agua deionizada.

Los animales fueron pesados antes y al final de cada sesión con el objeto de determinar la cantidad de agua captada. La diferencia entre estos dos pesos (en gramos) fue dividida por el peso estandar registrado antes de la primera sesión de acuerdo a la técnica de Ruibal y multiplicada por 100, para proveer una medida relativa de la captación de agua ajustada al peso del cuerpo. Este procedimiento fue usado en todos los experimentos que comprende esta tesis. Aquí hay que hacer notar que aunque por lo general los animales ganan peso durante las sesiones como resultado del reforzamiento, bajo algunas condiciones también pierden peso si la cantidad de agua ganada durante la rehidratación no compensa el agua perdida por micción o evaporación.

Luego de terminar la sesión diaria los animales eran colocados dentro de sus cajas individuales. Aproximadamente 30 minutos después, recibían allí un complemento de agua deionizada suficiente para llegar al 95% de su peso estándar. Las sesiones de entrenamiento se extendieron entre las 13:00 hs y las 20:00 hs. Todos los días a las 21:00 hs los animales fueron trasladados a sus jaulas de deshidratación individuales, donde permanecían hasta la próxima sesión en el día siguiente. Al igual que para las sesiones de preentrenamiento, los sapos estaban a un 80 % de su peso estándar al comienzo de cada sesión de entrenamiento. Debido a que la secuencia en que se entrenaban los animales se cambiaba diariamente, la cantidad de tiempo que cada animal estaba privado de agua era variable, con un mínimo de 16 horas.

Se tomó como variable dependiente al **Tiempo de recorrido (Tr)**, definido como el tiempo (en segundos) desde que el animal estaba completamente dentro del corredor y afuera del compartimiento de partida, hasta que entraba al compartimiento meta con

sus cuatro patas. Este tiempo fue registrado mediante la operación manual de un cronómetro digital. El protocolo de entrenamiento contaba con los siguientes criterios. A cada animal se le permitió un máximo de 300 s para abandonar el compartimiento de partida y un máximo de 180 s para entrar en el compartimiento meta, si ya estaba en el corredor. Se asignó a un ensayo un tiempo de recorrido (Tr) de 180 s cuando: (1) el animal no abandonaba el compartimiento de partida después de 300 s, o (2) el animal salía del compartimiento de partida antes del máximo de 300 s, pero no entraba en el compartimiento meta dentro de los 180 s siguientes. Los ensayos incompletos finalizaban ubicando al animal en el compartimiento meta, donde recibía el estímulo comportamental programado para ese ensayo particular.

RESULTADOS

Haciendo una descripción cualitativa del comportamiento observado durante el entrenamiento, podemos decir que los sapos, cuando eran ubicados en el compartimiento de partida, permanecían quietos por un breve período, y luego intentaban escapar trepando las paredes. En las primeras sesiones, cuando la puerta guillotina era abierta, se quedaban inmóviles. Durante el desarrollo del experimento se produjo un acostumbamiento, de forma que en las últimas sesiones los sapos "esperaban" la apertura de la puerta, algunas veces empujándola. Cuando los animales llegaban al compartimiento meta, entraban en el recipiente con agua y sumergían sus vientres.

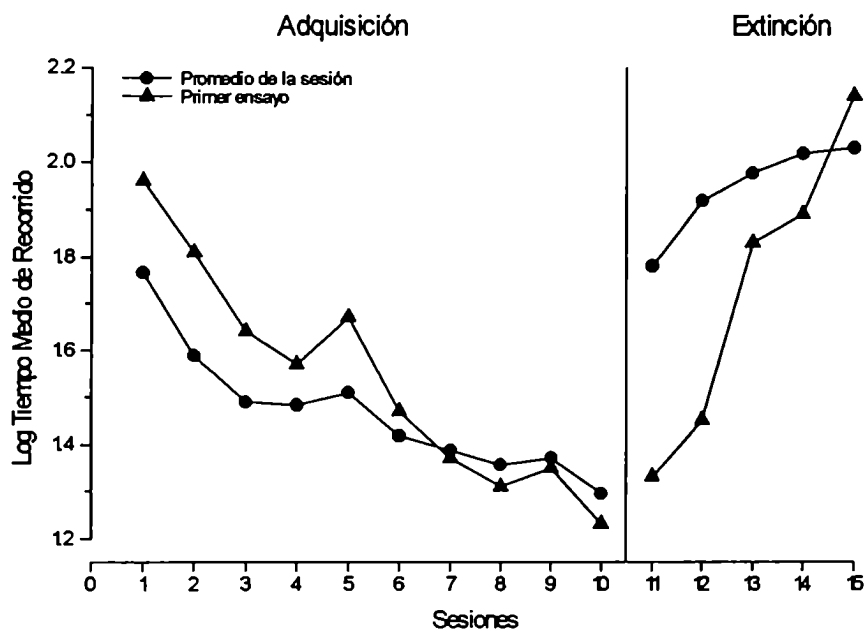


Figura 5. Desempeño en un corredor recto del grupo de sapos del Experimento 1 durante la adquisición (sesiones 1 a 10) y luego en la extinción (sesiones 11 a 15). Cada punto representa la media del grupo en una sesión diaria de ocho ensayos cada una.

El tiempo de recorrido (T_r) registrado en cada ensayo, expresado en segundos, fue transformado en Log_{10} con el objeto de proveer normalidad a la muestra y permitir el uso de estadísticos paramétricos. La Figura 5 muestra los tiempos de recorrido (media de la sesión) durante la adquisición y la extinción.

Mediante un análisis de la varianza (ANOVA) de un factor para medidas repetidas se determinó que hubo cambios graduales significativos en el desempeño, tanto durante la adquisición ($F_{[9,63]} = 22.62$, $p < .0001$) como durante la extinción ($F_{[4,28]} = 8.73$, $p < .0001$). También se intentó determinar si la adquisición y la extinción podían ser observadas durante el primer ensayo de cada sesión. Tal resultado indicaría que la adquisición no depende enteramente de los estímulos de persistencia sensorial de los ensayos previos (ver Capítulo 2), un punto que necesitábamos aclarar dado nuestro interés en entrenamientos ampliamente espaciados (ver Experimentos 2, 4, 5, 6, 7, 8 y 9). Esta información también está registrada en la Figura 5 (primer ensayo). En este caso también se encontraron cambios significativos del tiempo de recorrido, tanto en la adquisición ($F_{[9,63]} = 21.41$, $p < .0001$) como en la extinción ($F_{[4,28]} = 10.29$, $p < .0001$).

Se intentó determinar, además, si existía un empeoramiento intra-sesión durante las sesiones de extinción. La Figura 6 muestra el desempeño de extinción ensayo por ensayo.

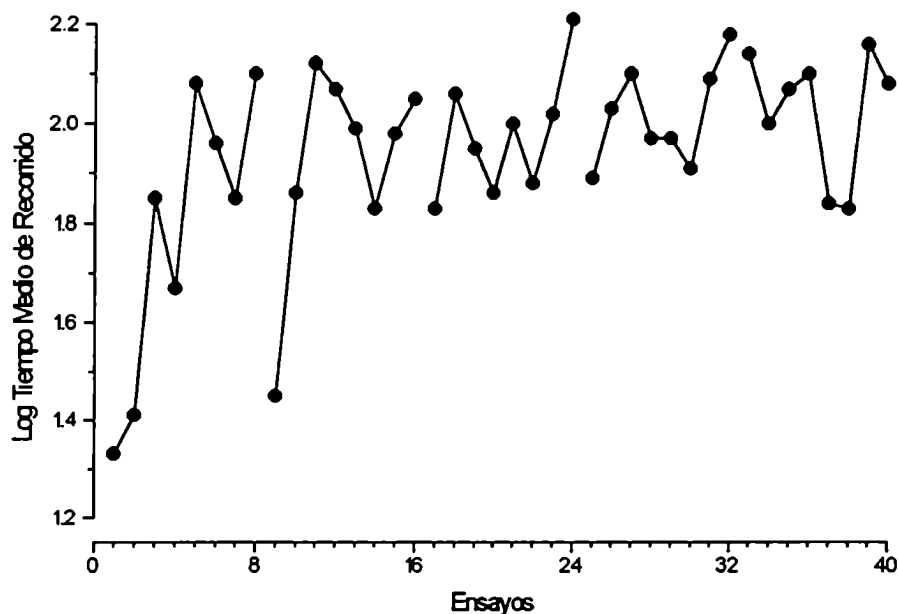


Figura 6. Desempeño ensayo por ensayo durante las cinco sesiones de extinción del grupo de sapos del Experimento 1.

Durante los ensayos iniciales de la primera sesión de extinción, los tiempos de recorrido (T_r) fueron similares a los de la última sesión de adquisición (ver Fig. 5). Hubo una considerable extinción de la respuesta de recorrido durante la primera sesión. La Figura 6 también indica que los tiempos de recorrido aumentaron a lo largo

de los ensayos, pero mostraron una *recuperación espontánea* desde el final de una sesión hasta el primer ensayo de la sesión siguiente. Un ANOVA de dos factores para las primeras tres sesiones de extinción, con Sesiones y Ensayos como factores con medidas repetidas, indicó cambios significativos a través de los Ensayos ($F_{[7,16]} = 6.46, p < .0001$) y a través de las Sesiones ($F_{[2,161]} = 5.62, p < .005$). La interacción Ensayo x Sesión fue marginalmente significativa ($F_{[14,161]} = 1.74, p = .052$). El análisis de los tiempos de recorrido (Tr) del último ensayo de cada sesión de extinción versus el primer ensayo de la siguiente sesión reveló un *efecto de recuperación espontánea* significativo ($F_{[1,63]} = 28.36, p < .0001$), un incremento significativo de los Tr a lo largo de las Sesiones ($F_{[3,63]} = 8.21, p < .0001$) y una interacción significativa, que indicaba que la recuperación espontánea disminuía durante las sesiones de extinción ($F_{[3,63]} = 4.90, p < .005$).

Se sabe muy poco acerca de la dinámica de la captación de agua en *Bufo arenarum* a través de las sesiones de entrenamiento en experimentos de aprendizaje. Schmajuk y colaboradores (1980), por ejemplo, encontraron que un acceso a agua durante 2 min (el mismo tiempo usado en este experimento) significaba un incremento promedio de peso de 1.5 g. Debido a que teníamos interés en entender la relación entre el desempeño instrumental y la magnitud del reforzamiento (ver Capítulo 5), medimos la captación de agua para todas las sesiones en cada animal. Los resultados están graficados en la Figura 7 en términos de captación relativa de agua por ensayo (gramos ganados por 100 g de peso, dividido por el número de ensayos para facilitar las comparaciones entre experimentos) en función de las sesiones. Cada punto representa la captación promedio de los animales por ensayo, considerando la sesión completa (un total de 16 min = 960 s de exposición al agua por sesión).

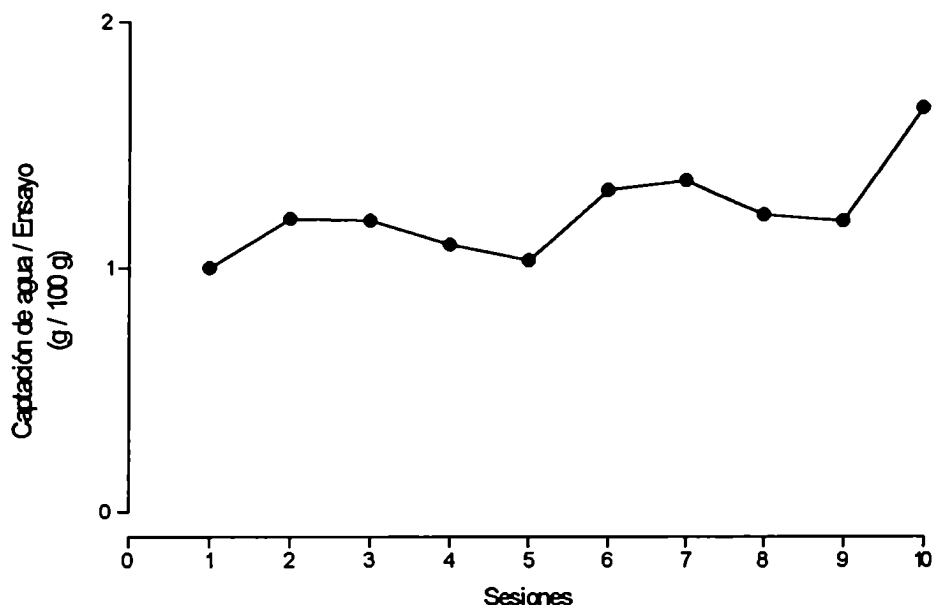


Figura 7. Captación media de agua (en g/100g) por ensayo en función de las 10 sesiones iniciales de entrenamiento (adquisición) en el Experimento 1.

Un ANOVA de un factor para medidas repetidas indicó un aumento significativo de la captación de agua a través de las sesiones ($F_{[9,36]} = 3.96, p < .001$).

DISCUSION

La preparación de corredor recto utilizada en este experimento parece ser apropiada para el estudio de la respuesta instrumental en el sapo *Bufo arenarum*. Se reprodujeron los resultados previos de Schmajuk y colaboradores (1980), tal como la relativamente rápida adquisición y extinción observadas bajo las presentes condiciones de entrenamiento. Además, el mejoramiento significativo de la respuesta de recorrido durante el primer ensayo de las sesiones de adquisición, sugiere claramente que el aprendizaje en esta situación no puede ser reducido completamente a los efectos de persistencia sensorial que operan dentro de cada sesión. Los dos hechos principales del desempeño de extinción son, por un lado, su naturaleza gradual, y por el otro, la presencia de recuperación espontánea de la respuesta de recorrido. Globalmente, estos resultados sugieren que la respuesta de recorrido del sapo está basada, al menos parcialmente, en los mismos factores que subyacen respuestas análogas en otras especies de vertebrados (Macphail, 1982), tales como la adquisición bajo condiciones de entrenamiento masivo, la extinción y la recuperación espontánea.

EXPERIMENTO 2

Efecto de la lesión bilateral del pallium medial sobre el aprendizaje instrumental de un corredor recto.

En este experimento comenzamos el análisis de los efectos de lesiones en el pallium medial sobre el aprendizaje, usando parámetros de entrenamiento que, como veremos, producen una rápida adquisición bajo condiciones de entrenamiento ampliamente espaciado (un ensayo por día). Se ha postulado que el pallium medial es homólogo al hipocampo de los mamíferos basándose en su ubicación en el telencéfalo (Hoffman, 1967), sus conexiones con otras estructuras cerebrales (Northcutt & Ronan, 1992) y sus propiedades histoquímicas (Northcutt, 1974). Pero realmente no se conoce nada acerca de los efectos de lesiones en el pallium medial sobre el aprendizaje en anfibios. Tal información funcional podría ser particularmente interesante si las condiciones de entrenamiento fueran análogas a las de los experimentos en los que se estudiaron los efectos de la hipocampectomía sobre el aprendizaje en otros animales como, por ejemplo, en ratas. A continuación analizamos los resultados de un experimento en el que animales lesionados, con operación simulada ("sham") e intactos fueron entrenados en un corredor recto en una situación análoga a la que fue usada con ratas (Feldon et al., 1985; Jarrard & Isaacson, 1965; Jarrard et al., 1964; Schmaltz & Isaacson, 1967; Winocur & Mills, 1969).

METODO

Sujetos y aparatos. Se utilizaron 16 sapos machos adultos sin experiencia previa, obtenidos como en el experimento anterior. Los pesos estándar variaban entre 91.5 y 149.0 g al comienzo del entrenamiento. Los animales fueron mantenidos bajo un ciclo de luz-oscuridad de 16:8 hs (luz desde las 3:00 hs hasta las 19:00 hs). Las condiciones de mantenimiento, la selección de los animales experimentales y los aparatos de entrenamiento fueron descritos en el experimento previo.

Procedimiento quirúrgico e histología. Los animales fueron sometidos a cirugía luego de un período de habituación al laboratorio, tal como se describió en el experimento previo. Los sapos fueron anestesiados mediante una inyección subcutánea de tricaina-metansulfonato (MS222) (0.3 g/kg). A seis animales se les practicaron lesiones bilaterales del pallium medial, a través de una abertura de la piel, el hueso y la envoltura dural que están por encima del telencéfalo dorso-medial (Lascano et al., 1971). La lesión del pallium medial se produjo por aspiración de tejido desde el telencéfalo anterior, inmediatamente posterior a los bulbos olfatorios, hasta el telencéfalo posterior. El objeto de la lesión era afectar la región dorsal del telencéfalo medial, evitando dañar al núcleo septal subyacente y a las células localizadas sobre las paredes internas de los ventrículos laterales (ver Figura 1 del Capítulo 1 para ubicar estas áreas cerebrales). El pallium medial y el núcleo septal están claramente separados por la zona limitans medialis, un área caracterizada por la relativa ausencia de núcleos celulares (Lascano et al., 1971). Inmediatamente después del procedimiento de lesión, la región afectada era cubierta con una lámina de gelfoam (la misma está compuesta de una gelatina absorbible impregnada con una sustancia hemostática cicatrizante). Luego, el hueso y la piel removidos previamente se ubicaban sobre el gelfoam y la abertura era cerrada con una sutura. Por último, se aplicaba externamente sulfamida en

polvo como desinfectante. A cinco sapos adicionales se les realizó el mismo procedimiento, excepto que el tejido neural no fue aspirado (grupo con operación simulada). Todos los animales fueron cuidadosamente observados durante el período post-operatorio. En este sentido, se verificó la recuperación total de diferentes reflejos básicos de los animales como una medida de su estado de salud general. Dos días después de la última sesión de entrenamiento, los sapos con intervención quirúrgica recibieron una sobredosis de éter y sus cerebros fueron extraídos y colocados en una solución de formol-salina al 10 %. Luego, el telencéfalo fue incluido en parafina, seccionado en serie a 25 μ m y teñido con hematoxilina-eosina, a fin de establecer con precisión la ubicación y amplitud de las lesiones.

El programa de entrenamiento se inició cuando los animales operados estaban recuperados, aproximadamente 72 hs después de la intervención quirúrgica.

Procedimiento de entrenamiento. El preentrenamiento siguió el procedimiento descrito en el experimento previo, excepto que se omitió la última sesión (i.e., constó de tres sesiones, una por día).

Durante el entrenamiento se establecieron tres grupos de animales: PM (con lesión bilateral del pallium medial, n=6), IN (intactos, n=5) y OS (con operación simulada, n=5). Debido a que este experimento fue el primer estudio sobre lesiones, se incluyó un grupo de animales intactos para evaluar los efectos de la operación simulada, utilizada como control de la intervención quirúrgica sobre el desempeño y la captación de agua de los animales.

El entrenamiento comenzó luego de los tres días iniciales de preentrenamiento y continuó durante 24 sesiones, una por día. La adquisición tuvo 12 sesiones, seguidas por otras 12 sesiones de extinción. Las condiciones de entrenamiento eran iguales a las descritas para el experimento previo, excepto que se administró en cada sesión un ensayo y el reforzamiento fue el acceso a agua durante 300 s. Las sesiones de entrenamiento se extendieron entre las 12:00 hs y las 18:00 hs. Todos los días a las 19:00 hs los animales eran trasladados a sus jaulas de deshidratación individuales, donde permanecían hasta la sesión siguiente. Otros aspectos del entrenamiento fueron similares a los del Experimento 1.

RESULTADOS

La Figura 8 (A) muestra la vista dorsal del cerebro de *Bufo arenarum*. El área sombreada en el telencéfalo (T) indica el sitio de la lesión y la flecha marca el punto de la sección frontal a nivel medio del telencéfalo mostrada en la Figura 8 (B).

La lesión estuvo limitada en general al pallium medial, aunque en todos los animales lesionados siempre fue preservado el tejido adyacente a los ventrículos laterales. En el telencéfalo de los animales con operación simulada nunca fue observado daño alguno.

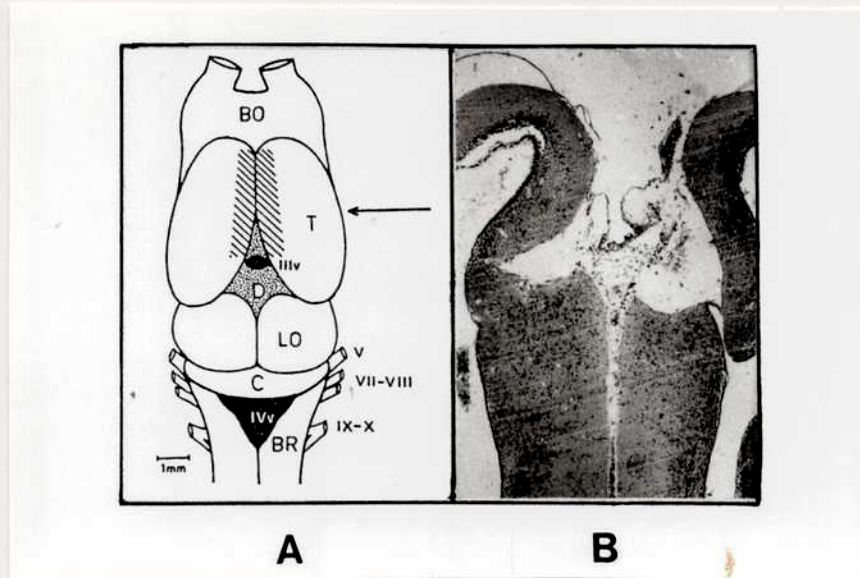


Figura 8. (A) Vista dorsal del cerebro de *Bufo arenarum*. El área sombreada muestra la ubicación y magnitud de la lesión. BO: bulbo olfatorio. BR: bulbo raquídeo. C: cerebelo. D: diencefalo. LO: lóbulo óptico. T: telencéfalo. IIIv: tercer ventrículo. IVv: cuarto ventrículo. Además, se muestra la posición de algunos nervios craneanos. La flecha indica el nivel de la sección frontal mostrada en B. (B) Sección frontal a nivel medio del telencéfalo ilustrando una lesión bilateral del pallium medial de tamaño intermedio.

La Figura 9 representa el desempeño en adquisición y extinción de los tres grupos.

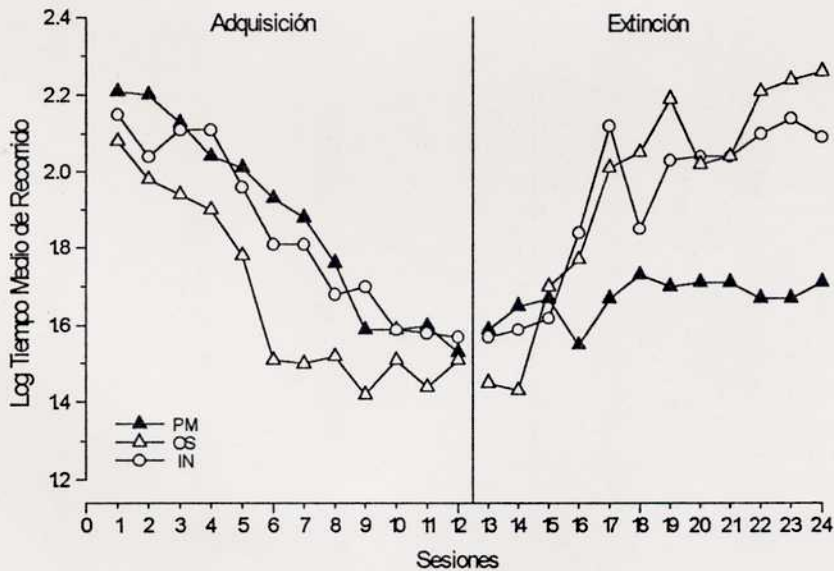


Figura 9. Tiempo medio de recorrido (en Log s) de los tres grupos de sapos del Experimento 2 durante la fase de adquisición (sesiones 1 a 12) y de extinción (sesiones 13 a 24), entrenados después de uno de los siguientes tratamientos: PM (lesión bilateral del pallium medial), OS (operación simulada) o IN (animales intactos -sin operación-). Cada punto representa el desempeño del grupo en una sesión diaria.

Los tiempos de recorrido fueron transformados, al igual que en el Experimento 1, en el Log_{10} para proveer normalidad a la muestra y permitir el uso de estadísticos paramétricos. Un ANOVA de Grupo por Sesión de los resultados de adquisición (Sesión fue el factor con medidas repetidas) indica sólo un efecto significativo de Sesiones ($F_{[11,143]} = 23.75$, $p < .0001$). Tanto la diferencia entre Grupos ($F_{[2,13]} = 1.26$) como la interacción Grupo x Sesión ($F < 1$) no fueron significativas. La Figura 9 también muestra que mientras que los grupos intacto y con operación simulada extinguen la respuesta en forma relativamente rápida, los animales lesionados en el pallium medial mostraron muy poco cambio en los tiempos de recorrido. Los animales lesionados mantuvieron la respuesta en ausencia de reforzamiento. En el análisis global, la diferencia entre Grupos fue marginalmente significativa ($F_{[2,13]} = 2.91$, $p < .09$), pero el efecto de extinción a través de las Sesiones ($F_{[11,143]} = 10.29$, $p < .0001$) así como la interacción Grupo x Sesión ($F_{[22,143]} = 2.25$, $p < .005$) fueron altamente significativos. Aplicando comparaciones de a pares, basadas en la interacción significativa y con el término del error derivado del análisis principal, se comprueba que: (1) durante la primera sesión de extinción ninguno de los grupos difiere entre sí (todos los $F_s < 1$) y (2) durante las tres últimas sesiones de extinción el desempeño de los animales lesionados es significativamente distinto del desempeño de los animales con operación simulada (todos los $F_{s[1,50]} = 8.92$, $p < .005$) y del desempeño de los animales intactos ($F_{s[1,50]} = 4.69$, $p < .05$), los cuales, a su vez, no difieren entre sí (todos los $F_s < 1$).

La lesión del pallium medial no afecta la tasa de captación de agua durante la adquisición (Figura 10).

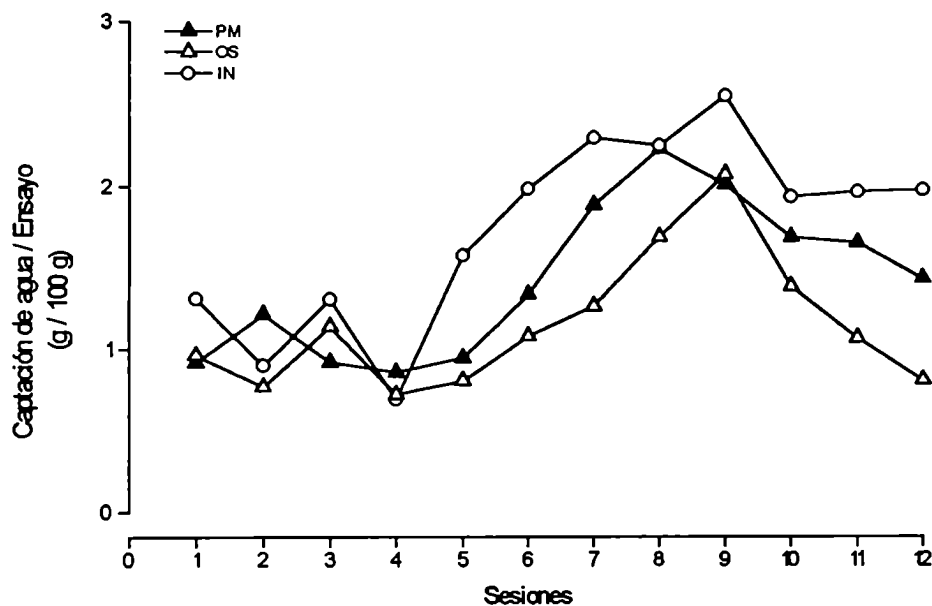


Figura 10. Captación media de agua (en g/100g) por ensayo en los tres grupos de sapos del Experimento 2, durante las 12 sesiones de adquisición. PM :lesión bilateral del pallium medial. OS: operación simulada. IN: animales intactos (sin operación).

La captación de agua (en gramos por 100g de peso) durante las cinco sesiones finales de la adquisición fue 1.80 (SD=1.01) para los animales lesionados, 1.40 (SD=.53) para los animales con operación simulada y 2.13 (SD=.89) para los animales intactos. La captación de agua aumenta durante las sesiones de adquisición en todos los grupos. Los cambios a lo largo de las Sesiones alcanzaron niveles significativos ($F_{[11,143]} = 10.13$, $p < .0001$), aunque la diferencia entre Grupos ($F_{[2,13]} = 1.65$) y la interacción Grupo x Sesión ($F < 1$) no fueron significativas.

DISCUSION

Las lesiones en el pallium medial en sapos no produjeron efectos detectables sobre la adquisición de una respuesta en un corredor recto, pero aumentaron la resistencia a la extinción cuando los animales fueron cambiados a un programa de ensayos no reforzados. Es interesante notar que este comportamiento también fue obtenido en ratas con lesiones hipocampales entrenadas bajo condiciones análogas y con intervalos entre ensayos intermedios (4 a 10 min) (Jarrard & Isaacson, 1965; Jarrard, et al., 1964; Rawlins, et al., 1980; Schmaltz & Isaacson, 1967; Winocur & Mills, 1969).

En el análisis del aprendizaje en situaciones de entrenamiento con ensayos espaciados, el sistema hipocampal ha sido relacionado con el desarrollo de la tolerancia a la ausencia de refuerzo (Gray, 1987). Pero la evidencia disponible en anfibios en general (Macphail, 1982; Suboski, 1992), y en nuestra situación de entrenamiento en sapos, sugiere que la extinción del desempeño en un corredor recto puede involucrar simplemente el debilitamiento de asociaciones desarrolladas durante la adquisición. Hasta el presente, no se puede citar ninguna evidencia de experimentos en anfibios que apoye la hipótesis de que una reducción en la magnitud del reforzamiento induce una reacción emocional (e.g., frustración) semejante a la que se piensa que controla el desempeño de ratas entrenadas bajo condiciones similares (Amsel, 1992). La similitud de los efectos de las lesiones del pallium medial del sapo y del hipocampo de la rata sugiere una interpretación más parsimoniosa del aumento de la resistencia a la extinción después de un entrenamiento con reforzamiento continuo. En ambos casos, el aumento de la resistencia a la extinción en los animales lesionados podría reflejar una falla para inhibir respuestas previamente adquiridas, más que una falta de respuestas emocionales competitivas inducidas por una reducción inesperada de la magnitud del refuerzo. En ratas hipocampectomizadas entrenadas bajo condiciones altamente masivas, la resistencia a la extinción podría disminuir debido a un mayor peso de la disminución de la generalización del estímulo en la extinción. Así, los estudios que se muestran en el capítulo próximo sobre el efecto en la extinción de las lesiones del pallium medial de los sapos después de reforzamiento parcial, contribuirá a entender mejor las similitudes funcionales entre el pallium medial de los anfibios y el hipocampo de los mamíferos.

CAPITULO 4

EFECTO DEL REFORZAMIENTO PARCIAL
SOBRE EL APRENDIZAJE

INTRODUCCION

Experimentos en los que ratas o palomas reciben un ensayo por día en un corredor recto muestran mayor resistencia a la extinción luego de un entrenamiento con reforzamiento parcial (RP) que después de un entrenamiento con reforzamiento continuo (RC). Como se mencionó en el Capítulo 2, este fenómeno es llamado efecto del reforzamiento parcial sobre la extinción (ERPE) (Hulse, 1958; Roberts et al., 1963; Wagner, 1961; Weinstock, 1954, 1958). El ERPE no es un fenómeno general de aprendizaje, ya que no ha aparecido bajo condiciones similares de entrenamiento espaciado en otras especies de vertebrados, incluyendo iguanas, *Dipsosaurus dorsalis* (Graf, 1972), tortugas, *Crisemys picta picta* y *Geoclemys reevesii* (Gonzalez & Bitterman, 1962; Ishida & Papini, 1993; Pert & Bitterman, 1970), y peces, *Carassius auratus* (Boitano & Foskett, 1968; Schutz & Bitterman, 1969) y *Tilapia macrocephala* (Gonzalez & Bitterman, 1967; Gonzalez et al., 1965; Longo & Bitterman, 1960).

Del mismo modo, estudios ontogenéticos en ratas han mostrado que ratas lactantes de 10 días tampoco muestran el ERPE, el cual desarrollan durante los días subsiguientes (Chen & Amsel, 1980b; Letz et al., 1978). Como se mencionó en el Capítulo 2 (ver Bases neurofisiológicas de los efectos paradójicos), la evidencia disponible vincula este resultado al desarrollo de la formación hipocampal (Altman & Bayer, 1975; Cotman et al., 1973).

Además de esta correlación en el desarrollo, los estudios con lesiones muestran que para que se exprese el ERPE se necesita un hipocampo intacto. Se ha descrito que una lesión del hipocampo provoca un aumento de la resistencia a la extinción después de un entrenamiento con RC y que esto depende además del uso de un intervalo entre ensayos intermedio (10 min), ya que con un intervalo inter-ensayo menor (10 s) este aumento de la resistencia a la extinción no se observa (Jarrard & Isaacson, 1965; Jarrard et al., 1964; Winocur & Mills, 1969). Por otro lado, Rawlins y colaboradores (1980) mostraron que ratas hipocampectomizadas tienen un desempeño normal durante la adquisición (comparado con el desempeño de ratas con operación simulada o con control cortical de la lesión), aunque ninguna evidencia del ERPE pues los animales RP tuvieron menor resistencia a la extinción que sus respectivos controles RC. La reducción de la resistencia a la extinción después de una lesión hipocampal y un entrenamiento con RP también depende del uso de intervalos inter-ensayo intermedios (6-8 min), pues en ratas hipocampectomizadas entrenadas con intervalos entre ensayos muy cortos (1-3 s) se obtiene un "ERPE" explicable por procesos de persistencia sensorial (Rawlins et al., 1985).

En anfibios, existe muy poca información sobre los efectos de tales manipulaciones sobre el aprendizaje (Macphail, 1982). Una manera de entender las diferencias comportamentales entre estas especies es a través del estudio de las consecuencias comportamentales de lesiones en áreas del cerebro de los anfibios equivalentes a áreas del telencéfalo de los mamíferos que están relacionadas a estos fenómenos de aprendizaje en experimentos con ratas. Como se mencionó en el Capítulo 2, se ha seleccionado al pallium medial debido a la evidencia anatómica e histológica que sugiere que esta área es homóloga a partes del hipocampo de los mamíferos (Angevine, 1975; Hoffman, 1967; Kuhlbeck, 1977; Northcutt, 1974; Northcutt & Ronan, 1992; Veenman et al., 1989).

En el Experimento 2 se mostró que las lesiones del pallium medial aumentan la resistencia a la extinción de una respuesta continuamente reforzada en un corredor recto. Este resultado equipara el efecto de las lesiones hipocámpales en ratas descrito anteriormente y sugiere que estas dos áreas también comparten algunas propiedades funcionales.

El objetivo de los siguientes experimentos fue estudiar el ajuste de la respuesta comportamental del sapo *Bufo arenarum* a un programa de reforzamiento parcial en un corredor recto, usando agua como reforzador. Este estudio, comprendió condiciones de entrenamiento masivo (Experimento 3) como distribuido (Experimentos 4, 5 y 6). Además, se intentó determinar qué papel funcional desempeña el pallium medial de los anfibios en el caso del reforzamiento parcial (Experimento 6).

EXPERIMENTO 3

Efecto del reforzamiento parcial sobre el aprendizaje instrumental de un corredor recto en condiciones de entrenamiento masivo.

El presente experimento exploró el efecto del reforzamiento parcial sobre la adquisición y la extinción utilizando parámetros con los que frecuentemente se ha producido evidencia de ERPE. Estos parámetros incluyen condiciones de entrenamiento masivo en adquisición con ensayos múltiples por sesión, lo cual brinda una mayor exposición a la contingencia de reforzamiento de lo que se produce en un diseño experimental con ensayos distribuidos. Bajo estas condiciones de entrenamiento masivo, el ERPE se encontró en diferentes especies de peces (Goldstein & Hall, 1990; Gonzalez & Bitterman, 1967) y tortugas (Ishida & Kitamura, 1988; Murillo et al., 1961; Wise & Gallagher, 1964). Pero en todos estos casos, sin embargo, este ERPE puede ser explicado en términos del efecto de persistencia sensorial (Capaldi, 1967; Sheffield, 1949), sin hacer referencia a la teoría de la frustración (ver Capítulo 2). Este efecto es muy importante pues cuando se da esta condición de ensayos masivos se pueden producir conductas "paradójicas", aún en ausencia de frustración. En esta situación de entrenamiento masivo, el reforzador que recibe un animal en un ensayo puede persistir hasta el siguiente ensayo. Si bajo la presencia de estos estímulos remanentes del reforzador el animal recibe un nuevo reforzamiento, éstos pueden comenzar a controlar el comportamiento en los ensayos subsiguientes. Esto podría explicar la disminución de las diferencias comportamentales observadas entre un programa de reforzamiento RC y uno RP en cualquier situación con entrenamiento masivo.

En una situación de reforzamiento parcial se asume que hay dos estímulos de persistencia sensorial: uno que corresponde a los ensayos R (reforzados) y otro a los ensayos N (no reforzados). El comportamiento de los animales sujetos a reforzamiento parcial pasa a estar controlado por estos estímulos más los esteroceptivos del aparato de condicionamiento. Así, cuando se los transfiere a extinción, donde nunca hay ensayos reforzados (o sea, todos N) la situación no es enteramente diferente a la adquisición porque N estuvo presente en ambas fases. Como resultado, los animales son más resistentes a la extinción, comparados con otros que fueron entrenados durante la adquisición con reforzamiento continuo. En la condición de reforzamiento continuo la transición a extinción está acompañada por una mayor disminución de la generalización del estímulo que en la de reforzamiento parcial (Hull, 1952; Sheffield, 1949). En otras palabras, con intervalos inter-ensayo cortos, los animales RP (y no los animales RC) aprenden a responder mientras están bajo la influencia del efecto secundario del no refuerzo del ensayo previo. Como consecuencia, un cambio a extinción en los animales RP está acompañado por una menor variación en las condiciones del estímulo (i.e., mayor generalización) respecto a los animales RC, ya que estos últimos nunca experimentaron antes de la extinción la influencia del estímulo del efecto secundario del no refuerzo previo (i.e., menor generalización).

Debido a que normalmente se asume que los vestigios del estímulo que resulta de ensayos previos decae en el tiempo, se espera que el efecto de persistencia sensorial afecte al comportamiento en condiciones de entrenamiento relativamente masivas (Weinstock, 1954). El hecho de que el ERPE haya sido encontrado fácilmente bajo condiciones de entrenamiento masivas en especies que no presentan este efecto en situaciones de entrenamiento ampliamente espaciado (ver Capítulo 2) sugiere que los

mecanismos de persistencia sensorial podrían tener una generalidad sustancial entre especies (Couvillon et al., 1980). En el presente experimento, se manipula en un diseño factorial tanto el programa de reforzamiento (reforzamiento parcial del 50% vs reforzamiento continuo) y el largo del intervalo inter-ensayo (15 s vs 300 s). El objetivo fue determinar si las condiciones que favorecen el control de la conducta instrumental a través de los procesos de persistencia sensorial facilitan la aparición del ERPE en la presente situación de entrenamiento.

METODO

Sujetos y aparatos. Se utilizaron 24 sapos machos adultos sin experiencia previa, con pesos estándar entre 94.0 y 123.0 g al comienzo del entrenamiento. Se utilizó un ciclo de luz-oscuridad de 16:8 hs (luz desde las 3:00 hs hasta las 19:00 hs). Las condiciones de mantenimiento y privación de los animales y los aparatos de entrenamiento fueron descritos en el Experimento 1.

Procedimiento. Tanto la habituación al laboratorio como la selección de los animales experimentales fueron iguales a las del Experimento 1.

El preentrenamiento siguió el procedimiento descrito en el Experimento 1.

El entrenamiento comenzó luego de las cuatro sesiones iniciales de preentrenamiento y continuó durante 20 sesiones, una por día, con ocho ensayos cada una. Durante el entrenamiento los animales fueron asignados azarosamente a cuatro grupos ($n=6$). El Grupo RC/15 recibió las 20 sesiones de ocho ensayos cada una, los cuales estaban separados por un intervalo inter-ensayo fijo de 15 s. Durante las primeras 12 sesiones (adquisición), cada ensayo terminó con un período de 120 s de acceso a agua en el compartimiento meta. Durante las últimas 8 sesiones (extinción), el animal también permanecía 120 s en el compartimiento meta pero no accedía al agua porque se elevaba la altura de la grilla de alambre tejido. El Grupo RC/300 recibió el mismo entrenamiento excepto que el intervalo inter-ensayo durante la adquisición y la extinción fue de 300 s.

El Grupo RP/15 era equivalente al RC/15 excepto que durante la adquisición los ensayos R y N eran presentados de acuerdo a una secuencia pseudoazarosa con las siguientes restricciones: cada sesión contenía 4 ensayos R y 4 ensayos N; se permitían hasta tres ensayos sucesivos R o N; y el primer ensayo de cada sesión era siempre R. La secuencia variaba de sesión a sesión, pero fue la misma para todos los animales. Los ensayos R y N fueron iguales a los ensayos de adquisición y extinción del Grupo RC/15 descrito arriba. El Grupo RP/300 recibió el mismo entrenamiento que el RP/15 excepto que el intervalo inter-ensayo durante la adquisición y la extinción fue de 300 s. Así, este es un diseño de reforzamiento parcial con ensayos igualados. Otros aspectos del entrenamiento fueron similares a los del Experimento 1.

RESULTADOS

Uno de los animales del grupo RC/300 murió durante el curso del experimento, dejando por lo tanto a este grupo con 5 sujetos.

La Figura 11 muestra el Log_{10} del tiempo de recorrido (en segundos) para cada grupo a través de las sesiones de adquisición y de extinción.

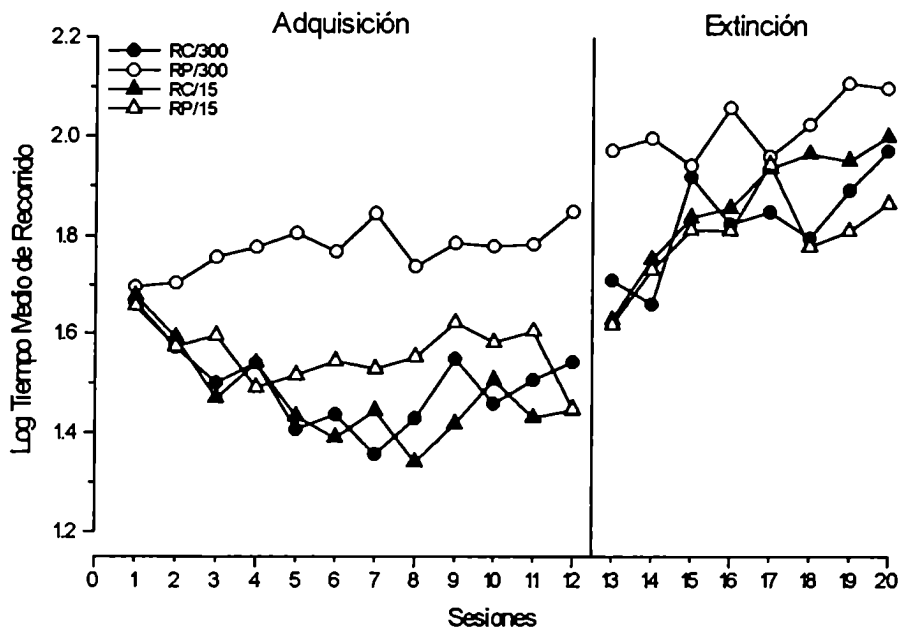


Figura 11. Desempeño de cuatro grupos durante la fase de adquisición (sesiones 1 a 12) y de extinción (sesiones 13 a 20) en el Experimento 3. RC y RP significan reforzamiento continuo y parcial del 50%, respectivamente, mientras que 15 y 300 se refieren a la duración (en segundos) del intervalo inter-ensayo. Cada punto representa el desempeño medio del grupo en una sesión diaria de ocho ensayos cada una.

Una inspección visual de la figura permite sacar varias conclusiones, algunas de las cuales son confirmadas por un ANOVA que tuvo como factores al Programa de reforzamiento, la Longitud del intervalo inter-ensayo y las Sesiones (este último factor con medidas repetidas).

Primero, los animales con reforzamiento continuo tuvieron una adquisición más rápida que aquellos animales con reforzamiento parcial. Esto fue corroborado por una interacción significativa de Programa x Sesiones ($F_{[11,209]} = 3.37, p < .0005$).

Segundo, aunque hubo un efecto significativo de Sesiones de entrenamiento ($F_{[11,209]} = 3.12, p < .01$), el grupo RP/300 (con reforzamiento parcial y un intervalo entre ensayos relativamente largo) no mostró un mejoramiento del desempeño durante la adquisición, aún cuando los tiempos de recorrido de este grupo aumentaron significativamente durante la extinción. Se sabe que en algunos casos el reforzamiento parcial impide la adquisición en algunas especies (e.g., Papini & Bitterman, 1991). En nuestro caso, sin embargo, parece que el nivel inicial de adquisición mostrado por todos los grupos en este experimento fue afectado por el extenso reforzamiento de la respuesta de recorrido durante el preentrenamiento. La cuarta sesión de preentrenamiento, por ejemplo, incluía cuatro ensayos reforzados sucesivos con un período de acceso a agua de 120 s y un intervalo corto entre ellos (10 s). El hecho de que el nivel terminal de la extinción fue mayor que el nivel terminal de adquisición

apoya esta suposición. Un caso similar fue obtenido en el Experimento 1, en el que se usó el mismo procedimiento de preentrenamiento. Por lo tanto, el reforzamiento parcial aparentemente no mantuvo el desempeño de adquisición por debajo del nivel alcanzado al final de la cuarta sesión de preentrenamiento.

Tercero, el desempeño de extinción fue similar a través de todos los grupos, observándose que los tiempos de recorrido se incrementaron rápidamente. A pesar de esto, hubo algún indicio del cruzamiento típico del ERPE en los grupos entrenados con intervalos inter-ensayos cortos. Un análisis global indica que el único efecto significativo durante la extinción fue el de Sesiones ($F_{[7,133]} = 4.32, p < .0005$). Debido a que se obtuvo una insinuación de aumento de la resistencia a la extinción en el Grupo RP/15, relativo al Grupo RC/15, se hicieron además dos análisis diferentes intentando obtener evidencia de ERPE. Un análisis de estos dos grupos no mostró efectos significativos de Grupo ($F_{[1,10]} = 0.82, p > .05$) o de la interacción Grupo x Sesión ($F_{[7,70]} = 0.51, p > .05$). Sin embargo, el proceso de extinción sí fue significativo ($F_{[7,70]} = 2.49, p < .05$).

Debido a que el desempeño de estos dos grupos (RP/15 y RC/15) se diferenció hacia el final del periodo de extinción, también se analizó la media de las tres últimas sesiones de extinción para todos los grupos. La Figura 12 grafica estos datos, mostrando que en la condición de intervalo entre ensayos de 300 s hay un mayor tiempo de recorrido (i.e., mayor extinción) después de reforzamiento parcial que después de reforzamiento continuo, pero que hay una relación inversa después de un entrenamiento con un intervalo inter-ensayo de 15 s.

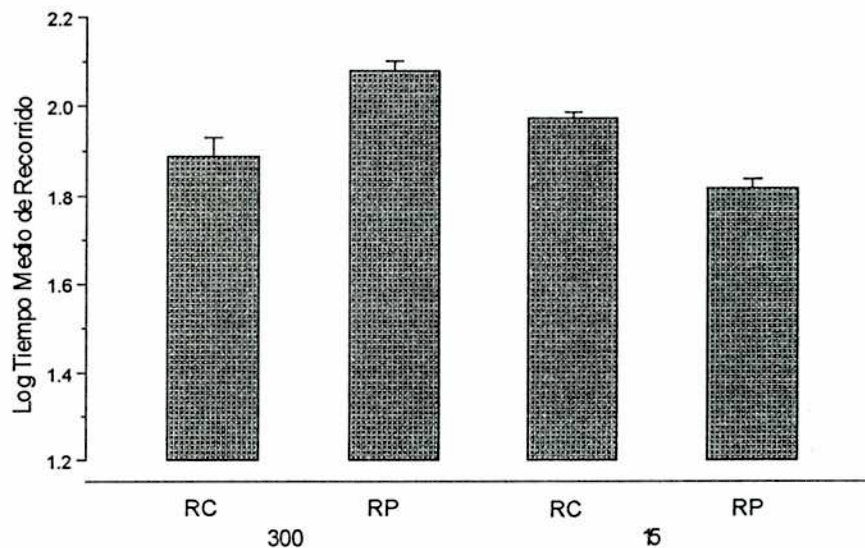


Figura 12. Desempeño medio durante las últimas tres sesiones de extinción (sesiones 18 a 20) en el Experimento 3. RC y RP significan reforzamiento continuo y parcial del 50%, respectivamente, mientras que 15 y 300 se refieren a la duración (en segundos) del intervalo inter-ensayo. Las barras representan los errores estándares de cada grupo.

El análisis de estos tiempos de recorrido indicaron una interacción significativa entre Programa x Intervalo inter-ensayo ($F_{[1,19]} = 5.43, p < .05$); ninguno de los efectos simples fue significativo ($F_s < 1$). Análisis de a pares no produjeron diferencias significativas a través de los grupos continuo y parcial, tanto con el intervalo inter-ensayo de 15 s ($F_{[1,10]} = 1.99, p > .05$) como con el de 300s ($F_{[1,9]} = 3.56, p > .05$). Por lo tanto, la única evidencia que sugiere que con un intervalo inter-ensayo corto se puede obtener un ERPE, presuntamente debido a persistencia sensorial, es la interacción significativa entre Programa x Intervalo inter-ensayo al final de la extinción. Esta evidencia es, en el mejor de los casos, extremadamente débil. El efecto está claramente ausente cuando el intervalo es de 300 s. Además, debería indicarse que la baja respuesta de adquisición del Grupo RP/300 no necesariamente impide la aparición del ERPE, que frecuentemente se manifiesta en un cruzamiento de las curvas de extinción después de una adquisición con reforzamiento continuo y parcial (Roberts et al., 1963; Weinstock, 1954).

También se analizó la respuesta de los animales durante el primer ensayo de cada sesión, tanto en adquisición como en extinción (Figura 13).

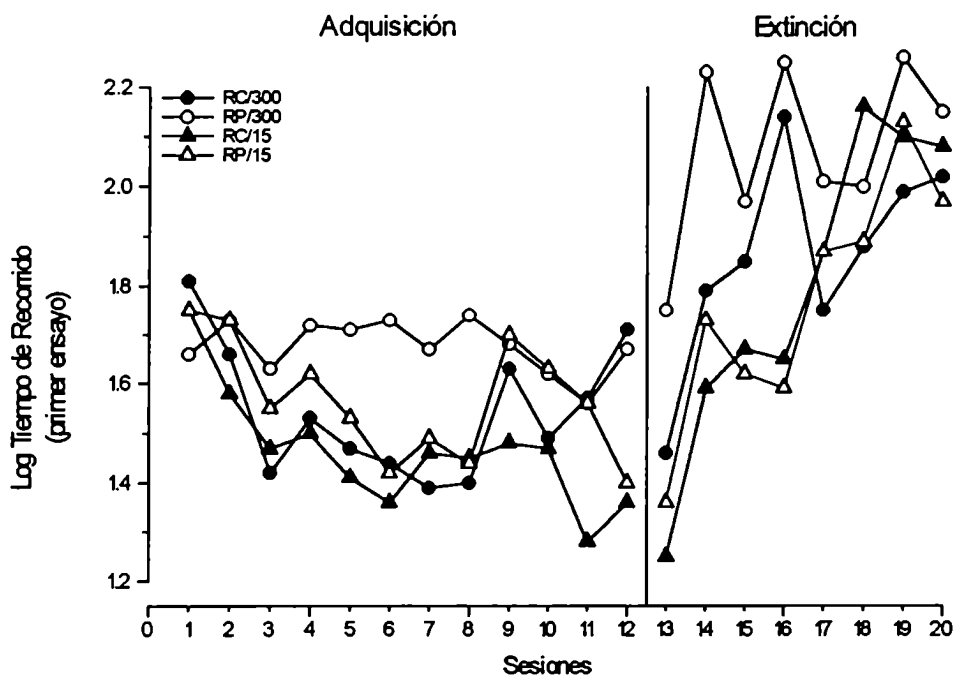


Figura 13. Tiempo medio de recorrido (en Log s) del primer ensayo en los cuatro grupos de sapos del Experimento 3, durante la fase de adquisición (sesiones 1 a 12) y de extinción (sesiones 13 a 20). RC y RP significan reforzamiento continuo y parcial del 50%, respectivamente, mientras que 15 y 300 se refieren a la duración (en segundos) del intervalo inter-ensayo.

En este caso, el único factor que mostró un efecto significativo durante la adquisición fue Sesiones de entrenamiento ($F_{[11,209]} = 2.66, p < .005$). Sin embargo, en la extinción hubo un efecto significativo de la Longitud del intervalo inter-ensayo

($F_{[1,19]} = 7.64, p < .05$): un intervalo de 300 s produjo una más rápida extinción que un intervalo de 15 s. El cambio a través de las Sesiones también fue significativo ($F_{[7,133]} = 9.74, p < .0001$), así como la interacción de la Longitud del intervalo inter-ensayo x Sesiones ($F_{[7,133]} = 2.94, p < .01$). En cambio, considerando el primer ensayo de cada sesión, no se observó ningún efecto del Programa administrado en la adquisición sobre el nivel de respuesta durante la extinción.

Los análisis de los datos de extinción para el primer ensayo de cada una de las sesiones, similares a los análisis realizados para las sesiones completas, produjeron resultados negativos. Primero, un análisis Grupo por Sesión del desempeño del Grupo RC/15 y RP/15 no mostró efectos significativos entre Grupos ($F_{[1,10]} = 0.08, p > .05$) ni tampoco en la interacción Grupo x Sesión ($F_{[7,70]} = 0.42, p > .05$), aunque existió un efecto significativo de extinción a lo largo de las Sesiones ($F_{[7,70]} = 7.79, p < .0001$). Segundo, un análisis Programa por Intervalo inter-ensayo de las medias de grupo para las últimas tres sesiones de extinción no produjo una interacción significativa ($F_{[1,19]} = 2.41, p > .05$). Por lo tanto, tampoco hubo evidencia de ERPE para la condición de intervalo inter-ensayo corto considerando el primer ensayo de cada sesión de extinción.

La Figura 14 muestra la captación relativa de agua por ensayo en cada grupo a través de las 12 sesiones de adquisición.

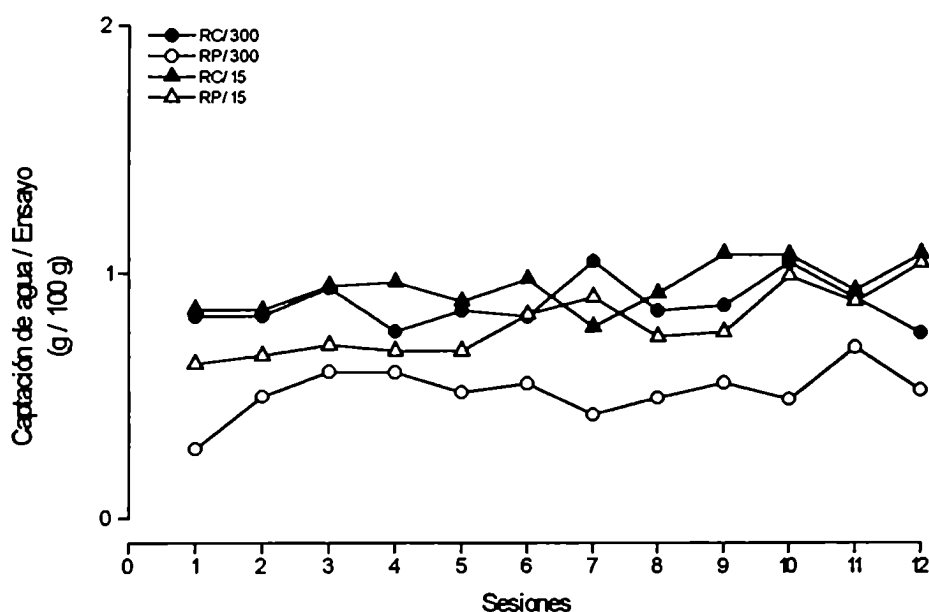


Figura 14. Captación de agua (en g/100g) por ensayo en los cuatro grupos del Experimento 3. RC y RP significan reforzamiento continuo y parcial del 50%, respectivamente, mientras que 15 y 300 se refieren a la duración (en segundos) del intervalo inter-ensayo.

El hecho más obvio es la relativamente baja captación de agua en el Grupo RP/300 durante las sesiones de adquisición. El Grupo RP/15 también mostró una baja

captación durante las primeras cinco sesiones, pero luego alcanzó los niveles de los dos grupos reforzados continuamente. Aunque en este gráfico la captación de agua no parece aumentar a lo largo de las Sesiones (con excepción del Grupo RP/300), un ANOVA indicó que este efecto es significativo ($F_{[11,209]} = 2.44, p < .01$). Además, la captación de agua fue significativamente más baja en los grupos con reforzamiento parcial que en los grupos con reforzamiento continuo ($F_{[1,19]} = 4.89, p < .05$). Ninguno de los otros efectos alcanzó un nivel significativo.

DISCUSION

En general, se observó que los animales RC tuvieron una adquisición más rápida que los animales RP. Durante la extinción hubo una relación directa entre la frecuencia de reforzamiento y la conducta, pero no se obtuvo ninguna evidencia consistente del ERPE (aún cuando se utilizaron condiciones de entrenamiento altamente masivo durante la adquisición). Además, este experimento sugiere que la captación de agua puede ser una función del programa de reforzamiento. De hecho, la relación entre la baja captación de agua y la función aplanada de adquisición en el Grupo RP/300 sugiere que el deterioro en el desempeño en este caso puede haber sido una consecuencia de la interrupción en la captación de agua producida por la combinación del reforzamiento parcial, las sesiones con ensayos múltiples y un intervalo inter-ensayo de duración intermedia. Hasta este momento, no podemos dar una explicación de este hecho.

EXPERIMENTO 4**Efecto del reforzamiento parcial sobre el aprendizaje instrumental de un corredor recto en condiciones de entrenamiento distribuido.**

En este experimento se exploró el efecto del reforzamiento parcial sobre la adquisición y la extinción utilizando condiciones de entrenamiento distribuido. Así, grupos independientes de sapos recibieron un entrenamiento de adquisición con reforzamiento continuo o con reforzamiento parcial del 50%. Seguidamente, todos los animales fueron cambiados a extinción. El procedimiento del entrenamiento fue similar al del experimento previo, excepto que se administró un ensayo por día.

METODO

Sujetos y aparatos. Se utilizaron 16 sapos machos adultos sin experiencia previa, con pesos estándar entre 75.7 y 118.2 g al comienzo del entrenamiento. Los animales se mantuvieron bajo un ciclo de luz-oscuridad de 16:8 hs (luz desde las 3:00 hs hasta las 19:00 hs). Las condiciones de mantenimiento y deprivación de los animales y los aparatos de entrenamiento fueron descritos en el Experimento 1.

Procedimiento. Tanto la habituación en el laboratorio como la selección de los animales experimentales fueron iguales a las del Experimento 1.

El preentrenamiento siguió el procedimiento descrito en el Experimento 2.

El entrenamiento comenzó luego de las tres sesiones iniciales de preentrenamiento y continuó durante 24 sesiones, una por día, con un ensayo cada una. Durante el entrenamiento los animales fueron asignados azarosamente a 2 grupos experimentales (n=8). El Grupo RC recibió 12 sesiones iniciales de adquisición, cada una finalizaba con un período de 600 s (10 min) de acceso a agua deionizada en el compartimiento meta. Durante las últimas 12 sesiones (extinción), el animal también permanecía 600 s en el compartimiento meta pero el agua no estaba accesible pues se elevaba la altura de la grilla de alambre tejido. El Grupo RP era equivalente al Grupo RC, excepto que tenía un programa de reforzamiento parcial con el 50 % de las sesiones reforzadas durante la adquisición. En este caso, las sesiones reforzadas (R) y no reforzadas (N) fueron presentadas de acuerdo a la siguiente secuencia: RNRNRNRNRNRN. Esta secuencia fue la misma para todos los animales. Las sesiones R y N fueron iguales a las sesiones de adquisición y extinción, respectivamente, del Grupo RC descrito anteriormente. Este es, por lo tanto, un diseño de reforzamiento parcial con ensayos igualados. Los entrenamientos se extendieron entre las 12:00 hs y las 18:00 hs. Todos los días a las 19:00 hs todos los animales eran trasladados a sus jaulas de deshidratación individuales donde permanecían hasta la sesión siguiente. Otros aspectos del entrenamiento fueron similares a los del Experimento 1.

RESULTADOS

La Figura 15 muestra los resultados principales de este experimento en términos del Log_{10} del tiempo de recorrido (en segundos) durante las sesiones de adquisición y de extinción de los Grupos RC y RP.

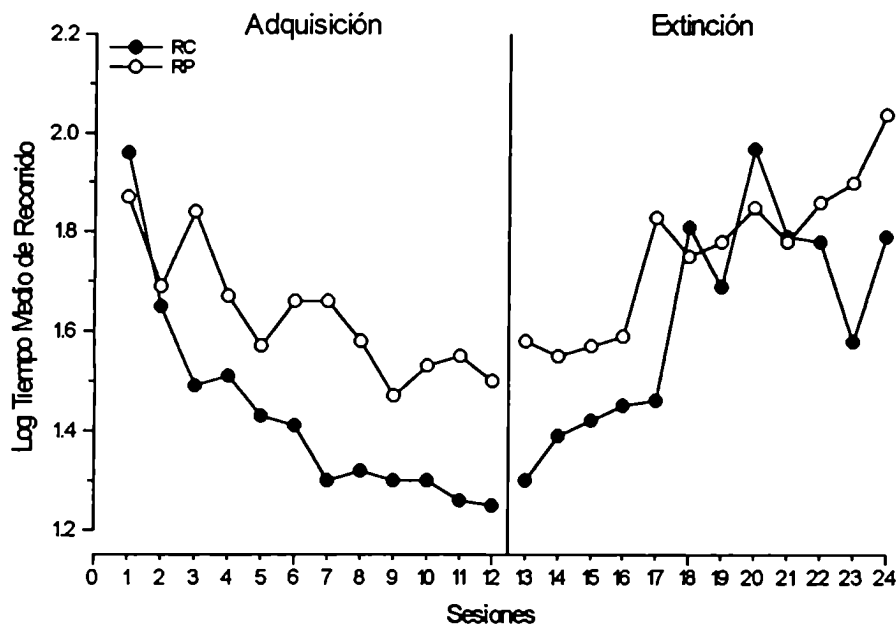


Figura 15. Desempeño de dos grupos de animales en el Experimento 4 durante la adquisición (sesiones 1 a 12) y luego en la extinción (sesiones 13 a 24), entrenados bajo reforzamiento continuo (RC) y parcial del 50% (RP). Cada punto representa el desempeño del grupo en una sesión diaria.

Ambos grupos presentaron una clara adquisición de la respuesta de recorrido bajo un entrenamiento con ensayos espaciados, similar a lo observado en el Experimento 2. Además, el reforzamiento parcial deterioró la adquisición de esta respuesta. Un ANOVA de 2 factores para medidas repetidas de Grupo por Sesión mostró una interacción significativa ($F_{[11,154]} = 3.02, p < .001$), sugiriendo que los efectos diferenciales producidos por los dos programas de reforzamiento aumentaban a través de las sesiones de adquisición. Los tiempos de recorrido se redujeron significativamente durante la adquisición ($F_{[11,154]} = 18.68, p < .0001$), pero el efecto principal de Grupo no fue significativo ($F_{[1,14]} = 2.81, p > .05$).

En el Grupo RP, el estímulo que recibía un animal en un ensayo particular (R o N) tuvo un efecto débil pero consistente sobre el desempeño durante el ensayo siguiente, denominado *efecto subsiguiente al reforzamiento*. Considerando la fase de adquisición completa, el Log_{10} del tiempo medio de recorrido después de uno o dos ensayos R fue 1.579, mientras que el valor análogo después de uno o dos ensayos N fue 1.637. Un ANOVA para medidas repetidas mostró diferencias significativas ($F_{[1,7]} = 7.98, p < .05$).

Durante la fase de extinción, los tiempos de recorrido crecieron regularmente en el Grupo RP y con mayor variabilidad en el Grupo RC (ver Figura 15). Los tiempos de recorrido fueron generalmente más cortos después de un reforzamiento continuo que luego de un reforzamiento parcial. Sin embargo, un ANOVA de Grupo por Sesión de las 12 sesiones de extinción mostró que la diferencia entre Grupos no fue significativa

($F_{[1,14]} = 2.57, p > .05$), así como la interacción Grupo x Sesión ($F_{[11,154]} = 1.22, p > .05$). En cambio, el efecto de extinción a través de las Sesiones fue significativo ($F_{[11,154]} = 5.80, p < .0001$). El hecho de que la interacción no sea significativa es particularmente informativo debido a que el ERPE aparece frecuentemente como un cruzamiento de las curvas de extinción (e.g., Roberts et al., 1963). Ambos grupos también fueron similares en cuanto al número de ensayos en que los animales no llegaban al compartimiento meta: 2.1 y 2.6 para los Grupos RC y RP, respectivamente (Mann-Whitney's $U_{[8,8]} = 27, p = .64$, dos colas), sugiriendo que los límites de los techos de respuesta fueron similares entre los grupos durante la extinción.

Un análisis separado de las primeras cinco sesiones de extinción (ver Figura 15) indicó que los tiempos de recorrido en el Grupo RC fueron significativamente más bajos que en el Grupo RP ($F_{[1,14]} = 4.73, p < .05$). Hubo también un efecto significativo de extinción a través de estos cinco ensayos ($F_{[4,56]} = 3.55, p < .05$), pero no de interacción ($F_{[4,56]} = 1.41, p > .05$).

La Figura 16 presenta los datos de la captación de agua para ambos grupos durante las sesiones de adquisición.

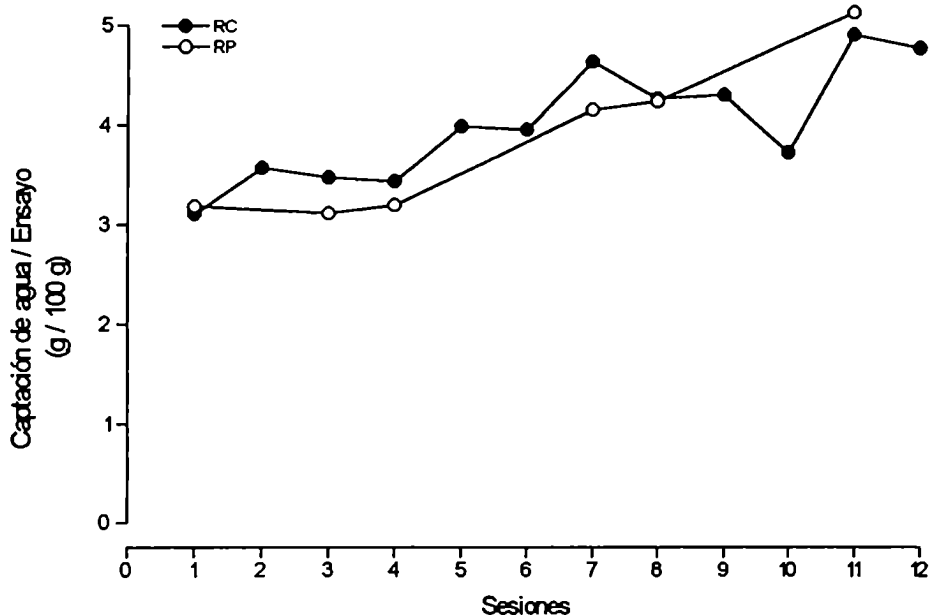


Figura 16. Captación de agua (en g/100g) por ensayo en los grupos RC (reforzamiento continuo) y RP (reforzamiento parcial del 50%) del Experimento 4. En el grupo RP, la captación de agua fue posible sólo en los seis ensayos reforzados (R).

El Grupo RP fue reforzado sólo en 6 de las 12 sesiones. Un ANOVA de Grupo por Sesión considerando estas 6 sesiones reforzadas mostró que mientras que no hubo diferencias apreciables entre los dos Grupos ($F < 1$), la captación de agua aumentó en

ambos grupos a través de las Sesiones ($F_{[5,70]} = 11.26, p < .0001$). La interacción Grupo x Sesión no fue significativa ($F < 1$).

DISCUSION

Se observó, como en el experimento previo, que el reforzamiento parcial retarda la adquisición en relación con el reforzamiento continuo. La interacción significativa obtenida entre Grupo x Sesión sugiere que los dos programas de reforzamiento produjeron efectos diferenciales que aumentaron a lo largo de las sesiones de adquisición. Además, se verificó que el desempeño de los animales mejoraba después de uno o dos ensayos R y empeoraba después de uno o dos ensayos N (efecto subsiguiente al reforzamiento).

Durante la extinción, aunque en apariencia los tiempos de recorrido en general eran más cortos después de RC que luego de RP, no hubo diferencias significativas entre grupos. Tampoco fue significativa la interacción Grupo x Sesión, lo cual indica que no hubo ninguna evidencia de la presencia del efecto de reforzamiento parcial.

Los datos de la captación de agua sugieren que cualquiera sea la razón para el deterioro de la adquisición observado en el Grupo RP, éste no parece estar mediado por diferencias en la cantidad de captación de agua entre los grupos. Además, este experimento sugiere que la captación de agua no sólo puede ser una función del programa de reforzamiento (ver Experimento 3), sino también de la cantidad de entrenamiento.

EXPERIMENTO 5**Efecto del reforzamiento parcial sobre el aprendizaje instrumental de un corredor recto con nuevos parámetros en condiciones de entrenamiento distribuido.**

El presente experimento tiene como meta determinar si el ERPE podía ser obtenido bajo condiciones que favorecen su aparición en ratas, para lo cual se seleccionaron nuevos parámetros de entrenamiento.

Los siguientes parámetros de entrenamiento fueron cambiados en comparación con el experimento previo. Primero, se utilizó un período de acceso a agua mayor (1280 s, en lugar de 600 s). Esto se fundamenta en la observación de que en ratas, empleando ensayos espaciados, el ERPE se manifiesta con más fuerza si se utilizan magnitudes de reforzamiento relativamente grandes (González & Bitterman, 1969). Segundo, se incrementó la extensión del período de adquisición de 12 a 24 sesiones diarias con un ensayo cada uno. Es importante señalar que el ERPE fue observado en ratas aún después de un número muy pequeño de ensayos de adquisición (Brooks, 1969; McCain, 1966), aunque este efecto parece depender más de la extinción acelerada luego de un RC, que del desarrollo de la resistencia a la extinción luego de un RP (Brooks, 1980). Tercero, este incremento del número de ensayos de adquisición determinó también el aumento del número de transiciones N-R (ensayos no reforzados seguidos por ensayos reforzados) de tres a nueve. Se ha demostrado que estas transiciones facilitan el ERPE en ratas (Spivey, 1967). Finalmente, se aumentó el esfuerzo de respuesta inclinando el corredor recto con un ángulo de 5 grados. Esto último se basa en que ciertos estudios muestran que el ERPE puede ser amplificado al aumentar el esfuerzo de respuesta (Lawrence & Festinger, 1962). Además, los efectos generalizados del RP sobre otras tareas, tales como paradigmas de autocontrol, se manifiestan más firmemente cuando la respuesta entrenada requiere mayor esfuerzo (Einsenberger, 1992).

METODO

Sujetos y aparatos. Se utilizaron 14 sapos machos adultos sin experiencia previa, con pesos estándar entre 97.6 y 141.7 g al comienzo del entrenamiento. Los animales se mantuvieron bajo un ciclo de luz-oscuridad de 16:8 hs (luz desde las 3:00 hs hasta las 19:00 hs). Las condiciones de mantenimiento y privación de los animales y los aparatos de entrenamiento fueron descriptos en el Experimento 1.

Procedimiento. Tanto la habituación al laboratorio como la selección de los animales experimentales fueron iguales a las del Experimento 1.

Los animales recibieron dos sesiones de preentrenamiento de 10 min cada una. En la primera, se distribuyeron algunas gotas de agua a lo largo del piso del corredor y en el compartimiento meta. En la segunda sesión, las gotas de agua se ubicaron en la mitad del corredor y justo enfrente del compartimiento meta. Normalmente, los sapos absorbían toda el agua disponible durante la sesión.

El entrenamiento comenzó luego de las dos sesiones iniciales de preentrenamiento y continuó durante 36 sesiones, una por día, con un ensayo cada una. La adquisición se extendió durante 24 sesiones. Las sesiones reforzadas (R) finalizaron con un período de 1280 s de acceso a agua. Por su parte, las sesiones no reforzadas (N) terminaron

los Grupos RC y RP aumentó durante el curso de la adquisición. El efecto de Grupo no fue significativo ($F_{[1,12]} = 1.30$, $p > .05$), pero hubo un efecto significativo de adquisición a lo largo de las Sesiones ($F_{[23,276]} = 12.46$, $p < .0001$). Los tiempos de recorrido en el Grupo RP fueron sensibles al estímulo (R o N) administrado en el ensayo previo. Normalmente, el tiempo de recorrido era menor después de uno o dos ensayos R que luego de uno o dos ensayos N; esto puede explicar la disminución del tiempo de recorrido durante la primera sesión de extinción (sesión 25) la cual fue precedida por un ensayo R. Un análisis de los tiempos de recorrido promedio agrupados en base al estímulo del ensayo previo, mostró que todos los sapos recorrieron más rápidamente el corredor recto después de un ensayo R que luego de un ensayo N. Las medias para el Log_{10} de los tiempos de recorrido registrados fueron 1.633 y 1.727, respectivamente; esta diferencia (en valores absolutos de casi 10 s) fue altamente significativa ($F_{[1,6]} = 45.10$, $p < .001$). Este efecto subsiguiente al reforzamiento fue similar al observado en el Experimento 4 usando un corredor recto horizontal y una magnitud de reforzamiento menor.

La Figura 17 también muestra que el desempeño de extinción es muy parecido en ambos grupos. El análisis indicó un efecto de extinción a través de las Sesiones altamente significativo ($F_{[11,32]} = 10.54$, $p < .0001$), pero no hubo un efecto significativo de Grupo ($F_{[1,12]} = 1.96$, $p > .05$) ni de la interacción Grupo x Sesión ($F < 1$). Los dos grupos también fueron similares en cuanto al número de ensayos en los que los animales no llegaban al compartimiento meta. Las medias fueron 4.0 (rango 2-8) y 4.8 (rango 2-7), no habiendo diferencias significativas ($F < 1$). Esta ausencia de una diferencia sugiere que no existió un techo de respuesta diferencial.

La captación de agua fue muy variable a lo largo de las sesiones en ambos grupos, sin una tendencia hacia un aumento de la captación (Figura 18).

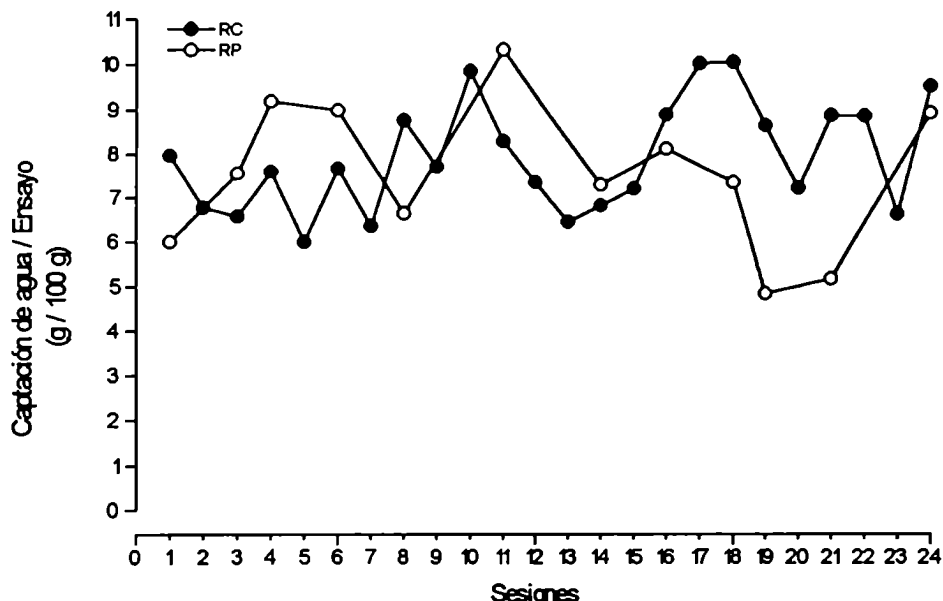


Figura 18. Captación de agua (en g/100g) por ensayo en los grupos RC (reforzamiento continuo) y RP (reforzamiento parcial del 50%) del Experimento 5. En el grupo RP, la captación de agua fue posible sólo en los doce ensayos reforzados (R).

En el Grupo RP, los datos de captación de agua fueron registrados obviamente sólo en las sesiones reforzadas. El promedio de captación de agua para el Grupo RP fue 7.5g/100g (rango 6.0-8.9/100g) y para las mismas sesiones en el Grupo RC fue 8.3/100g (rango 4.4-11.8/100g). El análisis no mostró diferencias significativas entre los grupos ($F < 1$). Por lo tanto, el deterioro de la respuesta del Grupo RP no puede ser atribuida a diferencias entre ambos grupos en la cantidad de agua consumida por los sapos como refuerzo.

DISCUSION

En este experimento, al igual que en los previos, también el reforzamiento parcial deterioró más el desempeño durante la fase de adquisición que el reforzamiento continuo. Además, la diferencia entre los Grupos RC y RP aumentó a lo largo de la adquisición (efecto sugerido por una interacción significativa de Grupo x Sesión). Por otro lado, se demostró que los animales recorrían más rápidamente el corredor recto después de un ensayo R que luego de un ensayo N (efecto subsiguiente al reforzamiento), un efecto similar al observado en el Experimento 4 pero usando en este caso un corredor recto inclinado y una mayor magnitud de reforzamiento.

Durante la extinción, los dos grupos mostraron desempeños similares.

Respecto de la captación de agua, se determinó que no hubo diferencias entre ambos grupos en la cantidad de agua consumida, lo cual descarta que el deterioro del desempeño del Grupo RP se deba a esa razón.

EXPERIMENTO 6

Efecto de la lesión bilateral del pallium medial sobre el aprendizaje de un programa de reforzamiento parcial.

En este experimento se intentó determinar si la similitud funcional entre el pallium medial de los anfibios y el hipocampo de los mamíferos puede ser extendida al caso del RP, para lo que se estudió el papel del pallium medial en relación tanto al RC como al RP. Como se verá más adelante, si estas dos estructuras son funcionalmente equivalentes las lesiones del pallium medial deberían: (1) llevar a un aumento de la resistencia a la extinción después de un entrenamiento con RC (efecto que ya fue observado en el Exp. 2) y (2) reducir la resistencia a la extinción después de un entrenamiento con RP.

Los Experimentos 4 y 5 muestran que en sapos el RP no lleva a una extinción más lenta que el RC, tal como ha sido encontrado en ratas y palomas adultas (ver Introducción de este capítulo). Estos experimentos han involucrado al agua como reforzador y a un corredor recto como contexto de entrenamiento, con una variación sustancial de otros parámetros que se sabe determinan el ERPE en ratas, incluyendo: magnitud del reforzamiento, número de ensayos de adquisición y extinción, longitud del intervalo inter-ensayo, número de transiciones de ensayos N a R y esfuerzo de respuesta. El hecho de que en todos estos experimentos los animales RP hayan mostrado un desempeño de adquisición significativamente diferente del establecido por los animales RC, indica que el comportamiento de los sapos es sensible a la diferencia entre los dos programas de reforzamiento. En consecuencia, la ausencia del ERPE no puede ser atribuida a que el programa de manipulación no haya afectado la respuesta instrumental de estos animales.

Existe una débil y única evidencia que indicaría la presencia del ERPE en sapos; la misma proviene de la observación de una extinción un poco más lenta de un grupo RP entrenado bajo condiciones masivas, con un intervalo entre ensayos de 15 s (Experimento 3, en este capítulo). En tal situación, el ERPE puede ser explicado en términos del efecto de persistencia sensorial del estímulo y de una disminución de la generalización del estímulo (Sheffield, 1949).

Por otro lado, tal como se mencionó anteriormente, en la ontogenia de la rata se postuló la idea de que la maduración de la formación hipocampal está relacionada con la emergencia de los efectos paradójicos (Amsel, 1992). En ratas adultas, la hipocampectomía elimina el ERPE con ensayos espaciados (Rawlins et al., 1980) produciendo un patrón de extinción muy específico. En los animales con entrenamiento RC, la lesión aumenta la resistencia a la extinción, mientras que en los animales entrenados con RP, la lesión disminuye la resistencia a la extinción. Por lo tanto, en este caso el ERPE es eliminado como un resultado de ambos cambios.

La evidencia disponible que apoya la hipótesis de que el hipocampo de los mamíferos y el pallium medial de los anfibios son homólogos (ver Introducción del Capítulo 3), nos impulsó a estudiar los efectos de la lesión del pallium medial sobre el aprendizaje instrumental. Así, surgió nuestro experimento inicial (Experimento 2), en el cual la lesión del pallium medial incrementó la resistencia a la extinción después de un entrenamiento con RC, semejante a lo que ocurre en ratas después de la lesión del hipocampo y un entrenamiento con ensayos espaciados (Jarrard & Isaacson, 1965). Estos resultados revelan un grado de equivalencia funcional entre el pallium medial de

los anfibios y el hipocampo de los mamíferos que además apoya la hipótesis de su homología.

El objetivo de este experimento fue extender el estudio de los efectos de la lesión en el pallium medial al caso del RP. Si la equivalencia funcional con el hipocampo de los mamíferos se aplica al RP, la resistencia a la extinción disminuiría en los sapos lesionados, respecto de los controles con operación simulada. Esto, a su vez, sugeriría que la ausencia de un ERPE probablemente dependa de algunos aspectos del procedimiento del entrenamiento. En la medida que estos parámetros de entrenamiento sean cambiados, podría eventualmente encontrarse una combinación que llevara a la demostración de un ERPE con ensayos espaciados en sapos. Si, por el contrario, la lesión del pallium medial produce un aumento de la resistencia a la extinción en la condición RP, respecto de los controles con operación simulada, la equivalencia funcional debería ser limitada al caso del RC. Un resultado como este, también sugeriría que el entrenamiento con RP lleva a diferentes modos de ajustes comportamentales en sapos y en ratas. Este punto será examinado con mayor detalle en la Discusión General.

En el presente experimento, se evaluaron los efectos de la lesión del pallium medial sobre el aprendizaje en grupos RC y RP, utilizando los parámetros de entrenamiento del Experimento 5. Debido a que nuestros animales con operación simulada mostraron el mismo nivel de respuesta que los animales intactos (ver Experimento 2), aquí sólo se incluyó controles con operación simulada. Por lo tanto, este es un experimento factorial que involucra a las siguientes condiciones: Programa de reforzamiento (RC, RP), Lesión (pallium medial, operación simulada) y Sesión (el factor con medidas repetidas).

METODO

Sujetos y aparatos. Se utilizaron 32 sapos machos adultos sin experiencia previa. Los pesos estándar variaban entre 61.7 y 134.9 g al comienzo del entrenamiento. Las condiciones de mantenimiento, la selección de los animales experimentales y los aparatos de entrenamiento fueron descritos en el Experimento 1.

Procedimiento quirúrgico e histología. Se practicó el mismo procedimiento quirúrgico e histológico que en el Experimento 2. Dieciseis animales recibieron lesiones bilaterales del pallium medial y otros dieciseis sapos más fueron sometidos al mismo procedimiento, excepto que el tejido neural no fue aspirado (grupo con operación simulada).

El programa de entrenamiento se inició cuando los animales operados estaban recuperados, aproximadamente 72 hs después de la intervención quirúrgica.

Procedimiento de entrenamiento. El preentrenamiento siguió el procedimiento descrito en el Experimento 5 (dos sesiones, una por día, de 10 min cada una).

El entrenamiento comenzó luego de estas dos sesiones iniciales de preentrenamiento y continuó durante 36 sesiones, una por día, con un ensayo cada una. En este experimento hubo cuatro grupos (n=8) de animales. Los Grupos RP/OS y RP/PM recibieron un entrenamiento de reforzamiento parcial después de una operación simulada o de una lesión del pallium medial, respectivamente. Los Grupos RC/OS y RC/PM recibieron un entrenamiento de reforzamiento continuo luego de los procedimientos quirúrgicos respectivos. La adquisición duró 24 sesiones y la extinción

se extendió durante las 12 sesiones siguientes. Las condiciones de entrenamiento fueron las mismas que en el Experimento 5, excepto que el reforzamiento fue el acceso a agua durante 600 s.

RESULTADOS

Durante el curso del experimento murieron cuatro animales, dos en el Grupo RP/OS y dos en el Grupo RC/PM, dejando a estos grupos con seis sujetos cada uno. El análisis histológico indicó que las lesiones bilaterales fueron relativamente homogéneas en tamaño y ubicación. Las estructuras adyacentes se mantuvieron intactas, así como el tejido cercano a las paredes de los ventrículos laterales. La Figura 19 muestra una vista dorsal del telencéfalo de *Bufo arenarum*, además de un esquema de las secciones frontales en serie de la lesión más grande (A) y de la lesión más pequeña (B). El área sombreada en la vista dorsal representa el sitio y la extensión de la lesión.

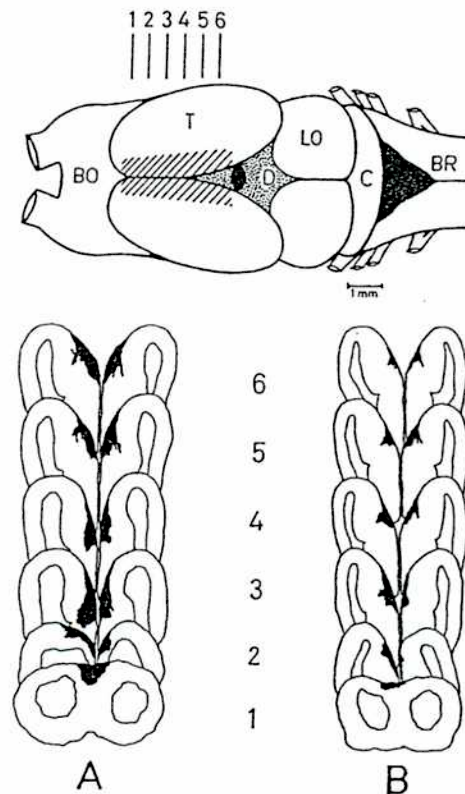


Figura 19. Representación esquemática de las lesiones bilaterales del pallium medial más grande (A) y más pequeña (B) en los sapos del Experimento 6. También se incluye una vista dorsal del cerebro de *Bufo arenarum*. El área sombreada muestra la ubicación y magnitud de la lesión. Los números indican el nivel de cada sección frontal en la vista dorsal del telencéfalo. BO: bulbo olfatorio. BR: bulbo raquídeo. C: cerebelo. D: diencéfalo. LO: lóbulo óptico. T: telencéfalo. IIIv: tercer ventrículo. IVv: cuarto ventrículo. Además, se muestra la posición de algunos nervios craneanos.

En los animales con operación simulada no se observó ningún daño del telencéfalo.

La Figura 20 muestra los resultados principales de este experimento a través del tiempo de recorrido (expresado en Log_{10} de segundos) para cada grupo.

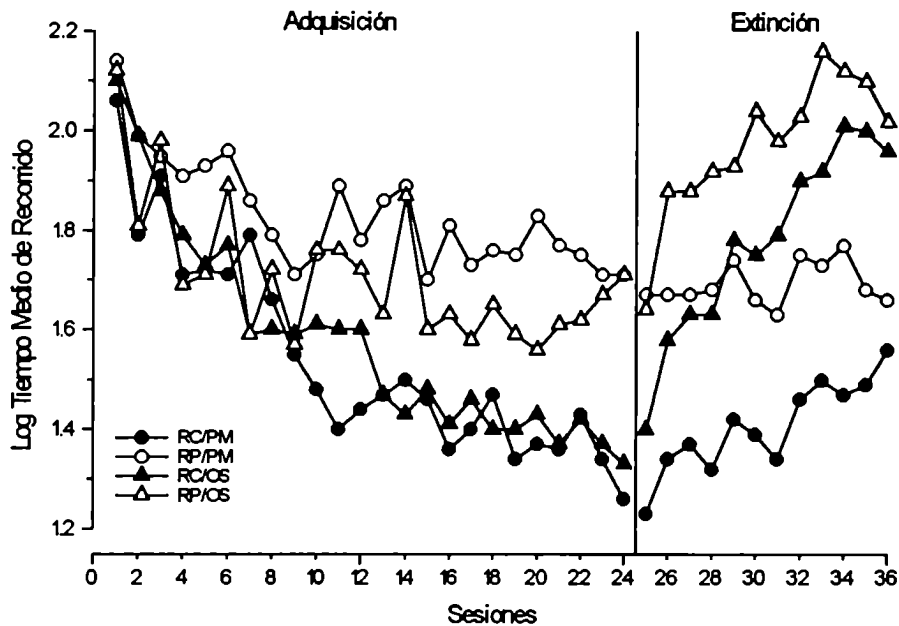


Figura 20. Desempeño de cuatro grupos de animales en el Experimento 6 durante la adquisición (sesiones 1 a 24) y extinción (sesiones 25 a 36), entrenados bajo reforzamiento continuo (RC) y parcial del 50% (RP), con lesión bilateral del pallium medial (PM) u operación simulada (OS). Cada punto representa el desempeño del grupo en una sesión diaria.

Durante la adquisición, la respuesta fue afectada por el programa de reforzamiento, pero no por la lesión en el pallium medial. Un análisis de estos resultados mediante un ANOVA mostró un efecto significativo del Programa de reforzamiento ($F_{[1,14]} = 9.99, p < .01$), de Sesiones ($F_{[23,552]} = 16.41, p < .0001$) y de la interacción Programa x Sesión ($F_{[23,552]} = 2.67, p < .0001$). Pero no hubo efecto principal de Lesión, ni tampoco alcanzó un nivel significativo ninguna interacción que involucrara a este factor ($F_s \leq 1.32$).

Un análisis secuencial del desempeño de adquisición en los Grupos RP/OS y RP/PM no reprodujo el efecto subsiguiente al reforzamiento encontrado en los Experimentos 4 y 5. El promedio de los Log_{10} de los tiempos de recorrido para el Grupo RP/OS fue 1.643 después de R y 1.740 después de N; para el Grupo RP/PM fueron 1.802 y 1.820, respectivamente. Un análisis de Grupo por Tipo de ensayo (R o N) indicó que la diferencia entre los ensayos R y N no fue significativa ($F_{[1,12]} = 2.17, p > .05$), así como tampoco fueron significativos el efecto de Grupo ni las interacciones de Grupo x Tipo de ensayo ($F_s \leq 1.82$). La razón de la ausencia del efecto subsiguiente

al reforzamiento en este experimento no es clara. En principio, la magnitud del refuerzo (600 s) es menor en este experimento que en el experimento previo (1280 s). Pero esta magnitud de refuerzo de 600 s es equivalente a la del Experimento 4, donde también se había observado el efecto subsiguiente al reforzamiento. Sin embargo, las condiciones de entrenamiento en el Experimento 4 (nuestro primer estudio sobre los efectos del RP con ensayos espaciados) fueron diferentes a las usadas en el presente experimento. Es posible que el efecto subsiguiente al reforzamiento dependa de la interacción entre la magnitud del reforzamiento y algún aspecto del procedimiento de entrenamiento, tal como el esfuerzo de respuesta (e.g., corredor recto horizontal en el Exp. 4 vs corredor recto inclinado en el presente experimento).

La Figura 20 también muestra el desempeño en extinción de los cuatro grupos. Primero, la respuesta de los animales con operación simulada confirma los resultados de experimentos previos y está de acuerdo con otros estudios que involucran diferentes condiciones de entrenamiento (Experimentos 4 y 5). Los tiempos de recorrido durante la extinción fueron menores después del entrenamiento RC que después del entrenamiento RP. Segundo, los animales lesionados mostraron un aumento de la resistencia a la extinción tanto después del entrenamiento RC como después del RP. Por un lado, estos resultados reproducen el aumento de la resistencia a la extinción después de un entrenamiento RC encontrado previamente bajo condiciones de entrenamiento diferentes (Exp. 2). Por otro lado, indican además un aumento similar de la resistencia a la extinción luego de un entrenamiento RP. El análisis estadístico indicó que los efectos principales de los tres factores son altamente significativos: Programa de reforzamiento ($F_{[1,24]} = 23.34, p < .0001$), Lesión ($F_{[1,24]} = 42.78, p < .0001$) y Sesiones ($F_{[11,264]} = 6.27, p < .0001$). Ninguna de las interacciones fueron significativas ($F_s \leq 1.77$).

Debido a que se obtuvieron estos efectos principales, se realizaron comparaciones de a pares con las medias totales de cada grupo. Estas comparaciones estuvieron basadas en el Test de Bonferroni, tomando el término del error y grado de libertad del análisis principal. Como las cuatro comparaciones eran de interés, el nivel alfa de estas pruebas fue ajustado a 0.0125 para preservar el error total de Tipo I al nivel de 0.05. Todas las pruebas fueron a dos colas. Las cuatro comparaciones de a pares alcanzaron un nivel significativo. Primero, los tiempos de recorrido fueron menores en el Grupo RC/OS que en el Grupo RP/OS ($t_{[24]} = 2.80$), resultado que indica nuevamente la ausencia del ERPE encontrado en estudios previos (Experimentos 4 y 5). Segundo, se encontraron las mismas diferencias después de un entrenamiento con RC y RP en animales con lesiones en el pallium medial ($t_{[24]} = 4.03$). Tercero, la lesión incrementó la resistencia a la extinción después de un entrenamiento RC ($t_{[24]} = 5.24$), reproduciendo así los resultados previos del Experimento 2 bajo nuevas condiciones de entrenamiento. Finalmente, y como resultado el más importante, la lesión también aumentó la resistencia a la extinción en el Grupo RP/PM respecto al Grupo RP/OS ($t_{[24]} = 4.01$).

También se analizó el desempeño de extinción en cada grupo en términos del número de ensayos en que los animales no llegaban al compartimiento meta. Como insinúa la Figura 20, estos valores fueron mayores en los grupos con operación simulada que en los grupos con lesiones, los cuales fueron altamente resistentes a la extinción. Un análisis de Programa por Lesión mostró un efecto significativo de Lesión ($F_{[1,24]} = 9.24, p < .01$), pero el efecto de Programa y la interacción de Lesión x Programa fueron ambos no significativos ($F_s \leq 3.79$). Este resultado sugiere que la

ausencia del ERPE en los grupos con operación simulada no está asociada a diferencias en el techo de respuesta entre los Grupos RC y RP.

El menor desempeño durante la adquisición y la extinción más rápida de los grupos RP no pueden ser atribuidos a una diferencia entre los grupos en la captación de agua. Más aún, la lesión del pallium medial no afectó la cantidad de captación de agua durante la adquisición (Figura 21).

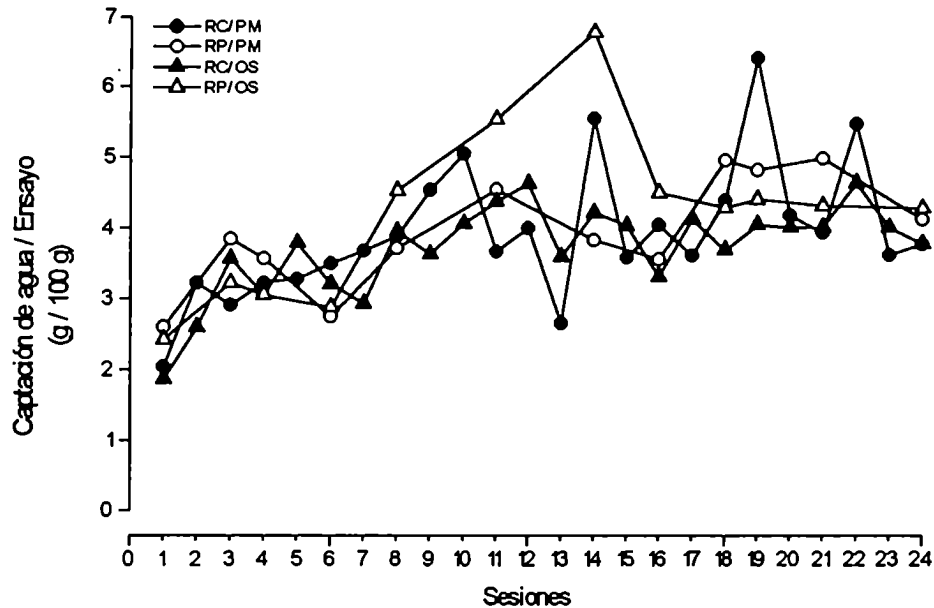


Figura 21. Captación de agua (en g/100g) por ensayo en los cuatro grupos del Experimento 6. RC: reforzamiento continuo. RP: reforzamiento parcial del 50%. PM: lesión bilateral del pallium medial. OS: operación simulada. En los grupos RP, la captación de agua fue posible sólo en los doce ensayos reforzados (R).

La captación de agua (en g/100g) durante las 12 sesiones reforzadas para los grupos RP y las mismas 12 sesiones para los grupos RC dieron las siguientes medias: 4.18 en el Grupo RP/OS, 3.94 en el Grupo RP/PM, 3.59 en el Grupo RC/OS y 3.94 en el Grupo RC/PM. Un análisis de Programa por Lesión mostró que ninguno de los efectos fue significativo ($F_s < 1$).

DISCUSION

Los resultados de este experimento, junto a los estudios previos (Experimentos 3, 4 y 5), sugieren que el reforzamiento parcial deteriora la adquisición y lleva a una tasa de extinción más rápida o igual (pero no menor) que el reforzamiento continuo. Además, los resultados del presente experimento sugieren que el pallium medial podría estar implicado en la inhibición de respuestas adquiridas después que las condiciones

de reforzamiento han cambiado. Sin embargo, también muestran que el pallium medial no parece desarrollar ningún papel en la adquisición de estas respuestas. Durante la extinción, los resultados muestran que las lesiones del pallium medial producen (como ocurre en ratas) un aumento de la resistencia a la extinción después de un entrenamiento con RC, respecto a los controles con operación simulada, pero (a diferencia de lo que se observa en ratas) también lleva a un aumento de la resistencia a la extinción en la condición RP. Por lo tanto, globalmente estos resultados indican: (1) que la equivalencia funcional del pallium medial de los sapos con el hipocampo de las ratas se debe limitar al caso del RC, y (2) que el entrenamiento RP lleva a diferentes formas de ajuste comportamental en sapos y en ratas.

Los resultados obtenidos durante la extinción sugieren, además, que esas mismas lesiones podrían alterar el ajuste gradual del desempeño luego de un cambio en la magnitud del refuerzo (Schmajuk et al., 1981), situación que se describirá en el capítulo siguiente.

EFECTO DE LA MAGNITUD DEL REFORZAMIENTO SOBRE EL APRENDIZAJE

INTRODUCCION

Los experimentos sobre aprendizaje en mamíferos adultos entrenados bajo condiciones de reforzamiento ampliamente espaciadas (e.g., un ensayo por día) y que involucran un cambio de la magnitud del refuerzo han producido resultados consistentes. Un cambio de adquisición a extinción, por ejemplo, lleva a una tasa de extinción más rápida después de un entrenamiento con una magnitud de reforzamiento grande que después de un entrenamiento con una magnitud de reforzamiento pequeña (Hulse, 1958; Ratliff & Ratliff, 1971; Wagner, 1961). El cambio de una magnitud de reforzamiento grande a una pequeña, pero no a cero, o de un reforzador más preferido a uno menos preferido, deteriora el desempeño por debajo del nivel mantenido por el reforzador pequeño o menos preferido solamente (Crespi, 1942; Elliott, 1928). Como se mencionó en el Capítulo 2 (p. 12), estos fenómenos son conocidos como efecto de la magnitud del reforzamiento sobre la extinción (EMRE) y efecto de contraste negativo sucesivo (ECNS), respectivamente. Este tipo de respuesta se observó en monos, *Macaca sp.* (Tinklepaugh, 1928), en ratas, *Rattus norvegicus* (Crespi, 1942; Elliott, 1928), y en comadreja, *Didelphis albiventris* y *Lutreolina crassicaudata* (Papini et al., 1988).

Los estudios comparativos y ontogenéticos indican que el EMRE y el ECNS no son fenómenos generales del aprendizaje. Los resultados comparativos muestran que estos fenómenos no aparecieron bajo condiciones similares de entrenamiento espaciado en otras especies de vertebrados, incluyendo tortugas, *Crisemys picta picta* y *Geoclemys reevesii* (González & Bitterman, 1962; Papini & Ishida, 1994; Pert & Bitterman, 1970), sapos, *Bufo arenarum* (Schmajuk et al., 1981), peces, *Carassius auratus* (Boitano & Foskett, 1968; Couvillon & Bitterman, 1985a; Gonzalez et al., 1972; Schutz & Bitterman, 1969) y *Tilapia macrocephala* (González et al., 1965; González & Bitterman, 1967; Longo & Bitterman, 1960). Estos animales han mostrado siempre un modo diferente de ajuste a la transición en las condiciones de reforzamiento con ensayos espaciados. Así, se observa que: (1) después de un entrenamiento de adquisición con una magnitud de refuerzo pequeña, el desempeño de extinción es menor, o la extinción más rápida, que luego de un entrenamiento con una magnitud de refuerzo grande, y (2) un cambio de una magnitud de refuerzo grande a una pequeña, o bien no produce cambios en la respuesta, o produce un ajuste gradual que iguala el nivel del grupo control que siempre fue entrenado con una magnitud pequeña.

Los experimentos con ratas lactantes (Chen et al., 1981) indican que un cambio a extinción después de un entrenamiento con magnitud de refuerzo grande o pequeña no

lleva a un EMRE, y un cambio de una magnitud de refuerzo grande a una pequeña no da evidencia del ECNS (ver también Burdette et al., 1976; Stanton & Amsel, 1980). En realidad, estos fenómenos de aprendizaje, así como otros relacionados como el efecto del reforzamiento parcial sobre la extinción (ERPE), aparecen gradualmente en ratas lactantes desde los 10 a los 26 días de edad. Amsel (1992) sugirió que la emergencia gradual de estos efectos de aprendizaje en ratas lactantes está relacionada al desarrollo de la formación hipocampal durante este período (Altman & Bayer, 1975; Bayer, 1980a, 1980b; Cotman et al., 1973; ver también Capítulo 2: Análisis ontogenético y Bases neurofisiológicas de los efectos paradójicos).

En concordancia con lo anterior, se observa que las lesiones de las estructuras que están dentro del sistema septo-hipocampal eliminan el EMRE, el ECNS y el ERPE en ratas adultas (Brunner et al., 1974; Daly, 1991; Feldon & Gray, 1979; Feldon et al., 1985; Flaherty et al., 1973; Franchina & Brown, 1971; Owen et al., 1982; Rawlins et al., 1980).

En el Capítulo 4 se describió el ajuste comportamental de los sapos a un programa de reforzamiento parcial, utilizando un amplio espectro de parámetros en una situación de corredor recto y usando agua como reforzador. También se describió el efecto de las lesiones cerebrales sobre el aprendizaje de cambios en las condiciones de entrenamiento. En general, existe poca información en cuanto al papel funcional en el aprendizaje del pallium medial de los anfibios (Macphail, 1982), considerado homólogo al hipocampo de los mamíferos. Los resultados de los Experimentos 2 y 6 sugieren que después de un cambio de adquisición a extinción, donde de hecho están variando las condiciones de entrenamiento, el pallium medial puede participar en la inhibición de la respuesta dominante, o en la facilitación de respuestas alternativas.

El objeto de los siguientes experimentos fue estudiar el ajuste comportamental del sapo *Bufo arenarum* a distintas magnitudes de reforzamiento y a cambios en las condiciones de reforzamiento en un corredor recto bajo una situación de entrenamiento distribuido, usando agua como reforzador. En los Experimentos 7 y 8, se intentó determinar los efectos sobre el aprendizaje de la magnitud del reforzamiento y de cambios en la magnitud del refuerzo. Cabe mencionar que en esta especie el ECNS no ha aparecido bajo condiciones de entrenamiento masivo en una situación de entrenamiento similar (Schmajuk et al., 1981). Además, el Experimento 9 extendió el estudio de los efectos de la lesión del pallium medial a la situación de contraste, buscando determinar si los animales lesionados también tenían un aumento de la resistencia a la extinción después de un cambio a una magnitud de refuerzo discriminablemente menor.

EXPERIMENTO 7

Efecto de la magnitud del reforzamiento sobre el aprendizaje instrumental de un corredor recto en condiciones de entrenamiento distribuido.

El objetivo del presente experimento fue estudiar con más detalle la relación entre el desempeño instrumental y la magnitud del reforzamiento, en condiciones de entrenamiento distribuido. Además, se trató de analizar la condición experimental que en ratas adultas permite expresar otro fenómeno paradójico: el efecto de la magnitud del reforzamiento sobre la extinción (EMRE), el cual no ha sido encontrado en experimentos con peces y tortugas (González et al., 1972; Pert & Bitterman, 1970), ni tampoco en ratas lactantes (Amsel et al., 1977). En este experimento se volvió a la situación de entrenamiento usada en el Experimento 2 (un ensayo por día) y se entrenaron cuatro grupos de sapos con magnitudes de reforzamiento diferentes.

METODO

Sujetos y aparatos. Se utilizaron 24 sapos machos adultos sin experiencia previa, con pesos estándar entre 93.1 y 141.2 g al comienzo del entrenamiento. Se utilizó un ciclo de luz-oscuridad de 16:8 hs (luz desde las 3:00 hs hasta las 19:00 hs). Las condiciones de mantenimiento y deprivación de los animales y los aparatos de entrenamiento fueron descritos en el Experimento 1.

Procedimiento. Tanto la habituación al laboratorio como la selección de los animales experimentales fueron iguales a las del Experimento 1.

El preentrenamiento siguió el procedimiento descrito en el Experimento 2 (tres sesiones, una por día).

El entrenamiento comenzó luego de las tres sesiones iniciales de preentrenamiento y continuó durante 24 sesiones, una por día, con un ensayo cada una. Los animales fueron asignados azarosamente a cuatro grupos experimentales ($n=4$). Hubo 12 sesiones de adquisición seguidas por otras 12 sesiones de extinción. Las sesiones de adquisición terminaban con un período de acceso a agua deionizada en el compartimiento meta que variaba según los grupos entre 20, 80, 320 y 1280 s (Grupos 20, 80, 320 y 1280, respectivamente). Durante las sesiones de extinción, los animales permanecieron un período igual al experimentado durante las sesiones de adquisición, pero el agua se hacía inaccesible pues se elevaba la altura de la rejilla de alambre tejido. Otros aspectos del entrenamiento fueron similares a los del Experimento 2.

RESULTADOS

La Figura 22 muestra el Log_{10} del tiempo de recorrido (expresado en segundos) durante las sesiones de adquisición y de extinción para todos los grupos.

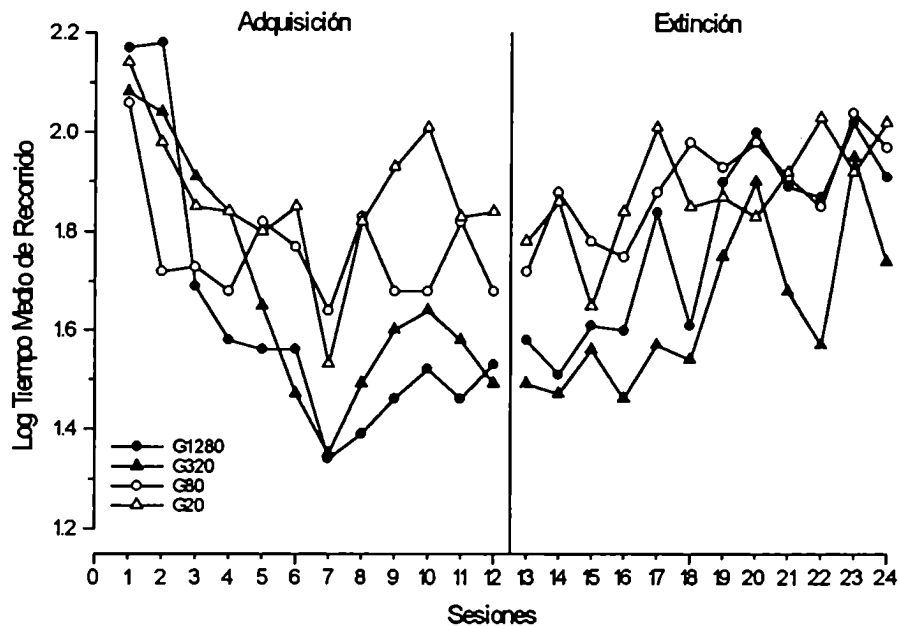


Figura 22. Desempeño de cuatro grupos de sapos en el Experimento 7 durante la adquisición (sesiones 1 a 12) y la extinción (sesiones 13 a 24). La denominación de los grupos (G1280, G320, G80, G20) se refiere al tiempo (en segundos) de acceso a agua en el compartimiento meta. Cada punto representa el desempeño del grupo en una sesión diaria.

Aunque las curvas muestran gran variabilidad, existe buena evidencia de adquisición en todos los grupos y, hacia el final de la adquisición, un cierto ordenamiento de los mismos en función de la magnitud del reforzamiento. Un ANOVA de medidas repetidas de Grupo por Sesión mostró una variación significativa a través de las Sesiones de entrenamiento ($F_{[11,132]} = 13.22$, $p < .0001$). Además hubo una interacción significativa ($F_{[33,132]} = 1.97$, $p < .001$), lo cual sugiere que la dispersión de los grupos hacia el final de la adquisición fue significativa (i.e., existió el efecto de la magnitud del refuerzo sobre la adquisición).

Durante la extinción se observó una mayor variabilidad en los tiempos de recorrido (ver también la Figura 22). El aspecto más importante del desempeño durante la extinción, a partir de la observación gráfica, es que el Grupo 320 presentó una mayor resistencia a la extinción que el Grupo 1280. Un ANOVA global indicó que sólo fue significativo el efecto de extinción a través de las Sesiones de entrenamiento ($F_{[11,132]} = 5.08$, $p < .0001$). Un análisis por separado de los Grupos 320 y 1280 mostró una diferencia marginalmente significativa entre Grupos ($F_{[1,6]} = 5.63$, $p = .055$), así como un aumento significativo de los tiempos de recorrido a lo largo de las Sesiones ($F_{[11,66]} = 4.82$, $p < .0001$), pero la interacción de Grupo x Sesión no fue significativa ($F_{[11,66]} = 0.32$, $p > .05$). Una inspección individual de los tiempos de recorrido revela que los tiempos de recorrido del Grupo 320 fueron inferiores a causa

de un solo animal; sin este animal, la diferencia entre Grupos no es significativa ($F_{[1,5]} = 3.84, p > .05$).

Un análisis durante la extinción del número de ensayos en que los sapos no llegaban al compartimiento meta no mostró diferencias significativas entre grupos (Kruskal-Wallis's $X^2_{[2]} = 0.825, p > .05$). Las medias fueron 2.3, 0.8, 3.8 y 2.5 ensayos para los Grupos 1280, 320, 80 y 20, respectivamente. Comparaciones de a pares usando el test de Mann-Whitney tampoco mostraron diferencias significativas ($p > .05$, una cola). Esto sugiere que los límites del techo de respuesta fueron similares para todas las curvas de extinción.

La Figura 23 muestra la captación de agua durante las sesiones de adquisición.

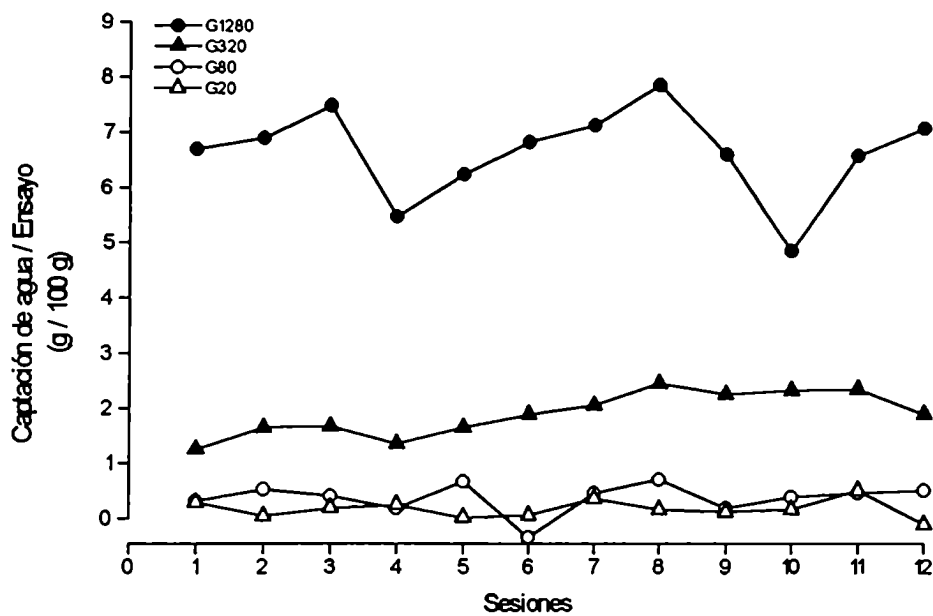


Figura 23. Captación de agua (en g/100g) por ensayo en los cuatro grupos del Experimento 7. La denominación de los grupos (G1280, G320, G80, G20) se refiere al tiempo (en segundos) de acceso a agua en el compartimiento meta.

La ingesta fue muy similar en los Grupos 20 y 80, y no presentaron cambios a lo largo de las sesiones. En forma similar, la captación de agua en el Grupo 1280, que fluctuó considerablemente, no mostró ninguna tendencia a través de las sesiones. Solamente el Grupo 320, un caso intermedio, tuvo un aumento en la captación de agua durante la adquisición. Un ANOVA de estos resultados mostró una diferencia entre Grupos altamente significativa ($F_{[3,12]} = 106.31, p < .0001$), un cambio significativo a lo largo de las Sesiones ($F_{[11,132]} = 2.42, p < .01$), y una interacción también significativa ($F_{[33,132]} = 1.86, p < .01$).

El desempeño asintótico de cada grupo como una función de la captación de agua sigue una relación monótonica, tal como muestra la Figura 24. Allí, para cada animal

se relacionó la media del tiempo de recorrido de las sesiones 10, 11 y 12 de adquisición con la media de la captación de agua en las sesiones 9, 10 y 11 de adquisición.

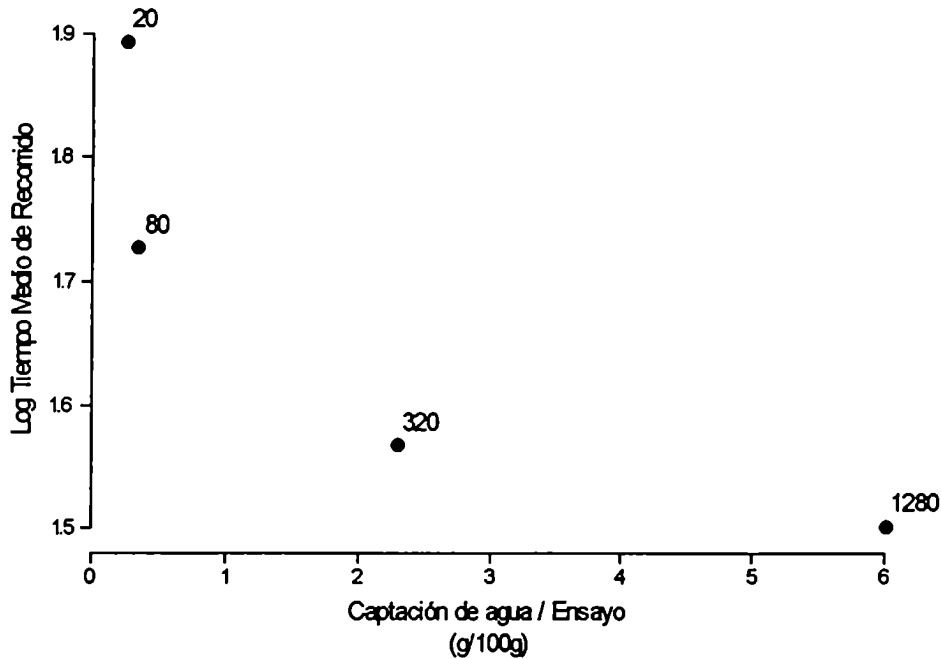


Figura 24. Tiempo medio de recorrido (en Log s) de los cuatro grupos del Experimento 7 durante las tres últimas sesiones de adquisición (sesiones 10 a 12) en función de la Captación media de agua (en g/100g) en las sesiones 9 a 11.

Un ANOVA de un factor mostró diferencias significativas entre los cuatro Grupos ($F_{[3,12]} = 3.72, p < .05$). Un análisis individual de pares de grupos indicó que los tiempos de recorrido del Grupo 20 fueron significativamente diferentes de los del Grupo 320 ($F_{[1,6]} = 8.62, p < .05$) y de los del Grupo 1280 ($F_{[1,6]} = 10.51, p < .05$).

DISCUSION

Los resultados obtenidos en este experimento sugieren que es necesario estudiar con más detalle la relación entre el desempeño instrumental y la magnitud del reforzamiento. En general, las magnitudes de refuerzo relativamente grandes produjeron una mayor resistencia a la extinción, lo cual está de acuerdo con las predicciones de las teorías clásicas del aprendizaje.

El hecho que la extinción del Grupo 1280 (refuerzo mayor) fue algo más rápida que la del Grupo 320 (refuerzo intermedio) podría sugerir la presencia de un fenómeno paradójico. Por esta razón se diseñó un experimento adicional, el Experimento 8, con nuevos parámetros de entrenamiento (que incluyeron un mayor número de ensayos de adquisición y un mayor esfuerzo de respuesta) con el fin de facilitar la expresión del efecto observado.

EXPERIMENTO 8

Efecto de la magnitud del reforzamiento y de sus cambios sobre el aprendizaje con nuevos parámetros de entrenamiento.

Este experimento fue diseñado con el objeto de profundizar el estudio del ajuste comportamental a distintas magnitudes de refuerzo y a cambios en las condiciones de reforzamiento. Schmajuk et al. (1981) estudiaron una situación de contraste usando la misma especie y el mismo procedimiento general de entrenamiento del presente experimento. En esa oportunidad se administraron cinco ensayos por sesión con un intervalo entre ensayos muy corto (los sapos eran sacados del compartimiento meta y ubicados inmediatamente en el compartimiento de partida para iniciar un nuevo ensayo). Se entrenaron dos grupos diferentes de animales que fueron cambiados de un refuerzo grande (5 g de agua por ensayo) a un refuerzo pequeño (0.5 g de agua por ensayo); el primero, luego de 10 sesiones de entrenamiento, y el segundo, después de 16 sesiones de entrenamiento. Aunque ambos grupos mostraron un ajuste en sus tiempos de recorrido, el desempeño después del cambio fue similar al del grupo control que recibió el refuerzo pequeño durante todo el entrenamiento. El presente experimento determinará si el efecto de contraste negativo puede ser obtenido con los parámetros de entrenamiento presentes, que incluyen el uso de un solo ensayo por día, o si el ajuste a una reducción en la magnitud del refuerzo lleva a un cambio gradual en los tiempos de recorrido sin evidencia de contraste, como en el experimento de Schmajuk et al. (1981).

En el experimento previo sobre el efecto de la magnitud del reforzamiento, se entrenaron cuatro grupos de sapos que recibieron 12 sesiones diarias, cada una con un ensayo, que terminaban con un acceso a agua durante 20 s, 80 s, 320 s y 1280 s. En ese caso el nivel de respuesta de estos grupos durante los últimos tres ensayos de adquisición fue una función monótonica de la cantidad de captación de agua, sin evidencia alguna del EMRE. En el presente experimento, la mayor extensión de la fase de adquisición y el mayor esfuerzo de respuesta demandado por el uso del corredor recto inclinado pueden facilitar la expresión del EMRE (Eisenberger, 1992; Lawrence & Festinger, 1962).

METODO

Sujetos y aparatos. Los sujetos fueron 15 sapos machos adultos sin experiencia previa, con pesos estándar entre 81.6 y 138.4 g al comienzo del entrenamiento. Se utilizó un ciclo de luz-oscuridad de 16:8 hs (luz desde las 3:00 hs hasta las 19:00 hs). Las condiciones de mantenimiento y privación de los animales y los aparatos de entrenamiento fueron descritos en el Experimento 1.

Procedimiento. Tanto la habituación al laboratorio como la selección de los animales experimentales fueron iguales a las del Experimento 1.

El preentrenamiento siguió el procedimiento descrito en el Experimento 5 (dos sesiones, una por día).

El entrenamiento comenzó luego de las dos sesiones iniciales de preentrenamiento y continuó durante 36 sesiones, una por día, con un ensayo cada una. Los animales fueron asignados azarosamente a tres grupos experimentales (n=5). Comparaciones apropiadas entre estos tres grupos en diferentes períodos del entrenamiento

permitieron evaluar los efectos de una reducción incompleta (ECNS) y completa (EMRE) del refuerzo, como se describe más adelante.

El Grupo G-P recibió 12 sesiones iniciales que finalizaban con un período de acceso a agua en el compartimiento meta de 1280 s (refuerzo grande). Luego seguían otras 12 sesiones que concluían con un período de acceso a agua de 80 s (refuerzo pequeño). El Grupo P-P recibió 24 sesiones reforzadas con un período de acceso a agua de 80 s. El Grupo G-G recibió 24 sesiones reforzadas con un período de acceso a agua de 1280 s. La evaluación del fenómeno de contraste estuvo basada en la comparación de estos tres grupos desde la sesión 13 hasta la 24, período en el que los sapos del Grupo G-P eran cambiados a la magnitud de refuerzo pequeña.

Después de recibir las 24 sesiones de adquisición con un período de acceso a agua de 80 s (Grupo P-P) o de 1280 s (Grupo G-G), estos dos grupos recibieron otras 12 sesiones de extinción. Durante estas sesiones de extinción, los animales no podían acceder al agua en el compartimiento meta pues se elevaba la altura de la rejilla de alambre tejido. Allí permanecían una cantidad de tiempo equivalente al que tenían los ensayos reforzados durante la adquisición (80 s o 1280 s). Otros aspectos del entrenamiento fueron similares a los del Experimento 5.

RESULTADOS

La Figura 25 presenta los resultados relevantes para evaluar el efecto de una reducción incompleta del refuerzo (condición en la que puede expresarse el ECNS).

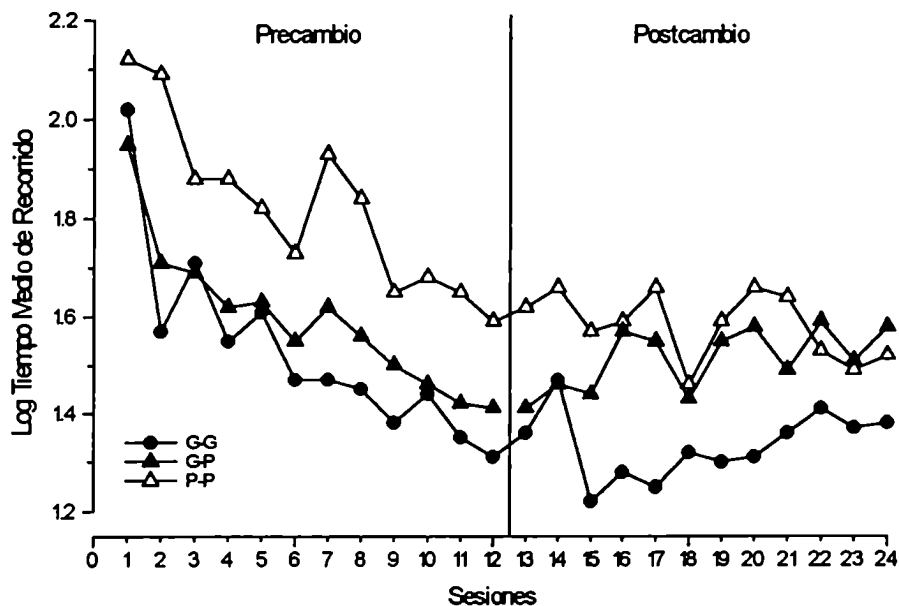


Figura 25. Tiempo medio de recorrido (en Log s) en tres grupos de sapos del Experimento 8 que recibieron: magnitudes de refuerzo grande (G-G) o pequeña (P-P) durante 24 sesiones de entrenamiento, o 12 sesiones de entrenamiento con la magnitud de refuerzo grande seguidas por 12 sesiones de entrenamiento con el refuerzo pequeño (G-P). Cada punto representa el desempeño del grupo en una sesión diaria.

Durante las 12 sesiones iniciales (etapa de pre-cambio), los dos grupos reforzados con un período largo de acceso a agua (G-G y G-P) mostraron tiempos de recorrido menores que el grupo entrenado con un período de acceso a agua pequeño (P-P). Un ANOVA de Grupo por Sesión indicó una diferencia significativa entre Grupos ($F_{[2,12]} = 7.75$, $p < .01$) y también un efecto significativo de adquisición ($F_{[11,132]} = 16.71$, $p < .0001$), pero la interacción Grupo x Sesión no fue significativa ($F < 1$). El análisis del primer ensayo de entrenamiento mostró que no había diferencias significativas entre Grupos ($F < 1$). Esto sugiere que la interacción no significativa refleja la rápida disminución inicial de los tiempos de recorrido de los dos grupos reforzados con una magnitud de refuerzo grande, más que una diferencia en los tiempos de recorrido producida por una inadvertida asignación sesgada de los sujetos. Otros análisis indicaron que el Grupo P-P fue significativamente diferente del Grupo G-G ($F_{[1,8]} = 13.71$, $p < .01$) y del Grupo G-P ($F_{[1,8]} = 7.30$, $p < .05$), los cuales a su vez no diferían entre sí ($F < 1$).

La Figura 25 también muestra que los grupos que recibieron reforzamiento pequeño o grande a lo largo de la etapa de post-cambio permanecieron separados, aunque esta diferencia tendió a disminuir debido a que el Grupo P-P continuó mejorando su desempeño mientras que el Grupo G-G mostró un ligero aumento de sus tiempos de recorrido después de alcanzar un valor mínimo en la sesión 15. Por otro lado, el desempeño del Grupo G-P alcanza rápidamente el nivel del control P-P, sin ninguna evidencia de contraste. Un análisis de los tiempos de recorrido post-cambio mostraron un efecto significativo de Grupo ($F_{[2,12]} = 4.70$, $p < .05$), pero no hubo efecto de Sesión ($F_{[11,132]} = 1.16$, $p > .05$) ni de la interacción Grupo x Sesión ($F_{[22,132]} = 1.18$, $p > .05$). Otros análisis adicionales determinaron que la diferencia entre los Grupos P-P y G-G fue significativa durante las sesiones de post-cambio ($F_{[1,8]} = 6.61$, $p < .05$), pero la diferencia entre los Grupos P-P y G-P no fue significativa ($F_{[1,8]} = 1.69$, $p > .05$).

La Figura 26 reproduce las 24 sesiones iniciales de los grupos entrenados con los refuerzos grande o pequeño (G-G o P-P, respectivamente) y muestra el desempeño durante las 12 sesiones finales de extinción.

Un análisis del desempeño durante la adquisición completa de ambos grupos mostró una diferencia significativa de Grupo ($F_{[1,8]} = 13.84$, $p < .01$) y un efecto significativo de adquisición ($F_{[23,184]} = 9.39$, $p < .0001$), pero la interacción no fue significativa ($F_{[1,8]} = 1.01$, $p > .05$). Los sapos reforzados con una larga oportunidad de rehidratación adquirieron la respuesta del corredor recto más rápidamente que los sapos reforzados con un período corto de acceso a agua, aunque durante las sesiones finales de la adquisición hubo una cierta tendencia de estos grupos a converger.

La Figura 26 también muestra los resultados de la extinción. El desempeño inicial fue esencialmente el mismo en ambos grupos, así como la subsiguiente tasa de extinción. El análisis estadístico indicó un efecto de extinción altamente significativo ($F_{[11,88]} = 7.95$, $p < .0001$), pero los efectos de Grupo y de la interacción Grupo x Sesión no fueron significativos ($F_s < 1$). La ausencia de diferencias en la extinción no puede ser explicada como un resultado de que las dos magnitudes de refuerzo no afecten la respuesta instrumental, pues los resultados de la adquisición mostraron un efecto significativo de la magnitud del refuerzo. En forma similar, la extinción fue lo suficientemente gradual como para sugerir que la ausencia de diferencias entre grupos no fue causada por un rápido cambio en el desempeño combinado con un efecto techo de la respuesta instrumental. Así, el número medio de ensayos de extinción en los que los sapos no llegaron al compartimento meta fue 2.6 (rango: 1-4) para el Grupo G-G,

y 1.2 (rango: 0-3) para el Grupo P-P. Estos valores no fueron significativamente diferentes, lo cual sugiere que los techos de respuesta fueron similares para ambos grupos.

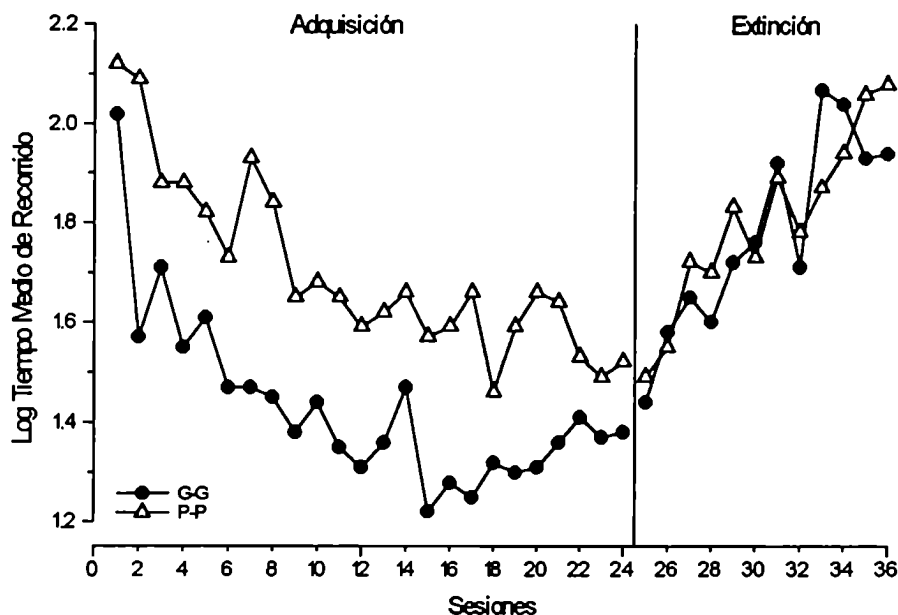


Figura 26. Tiempo medio de recorrido (en Log s) de los grupos de sapos del Experimento 8 durante la adquisición (sesiones 1 a 24) y la extinción (sesiones 25 a 36), que recibieron magnitudes de refuerzo grande (G-G) o pequeña (P-P) durante el entrenamiento de adquisición. Cada punto representa el desempeño del grupo en una sesión diaria.

La Figura 27 muestra los datos de captación de agua (en g/100g) para las 24 sesiones iniciales de cada grupo.

En contraste con el Experimento 7, los dos grupos que recibieron la magnitud de refuerzo grande (1280 s de acceso a agua por ensayo) aumentaron su captación de agua a través de las sesiones. Además, un cambio en la magnitud del reforzamiento (i.e., la longitud del período de acceso al agua) determinó un ajuste intermedio de la cantidad de agua ingerida. Un análisis de la etapa de pre-cambio mostró una diferencia significativa entre Grupos ($F_{[2,12]} = 24.14, p < .0001$), un aumento significativo a lo largo de las Sesiones ($F_{[11,132]} = 4.34, p < .0001$) y un efecto significativo de interacción ($F_{[22,132]} = 1.70, p < .05$). Un análisis adicional mostró que los grupos que recibían un refuerzo grande no diferían entre sí ($F < 1$), pero que cada uno de ellos difería del grupo que recibía un refuerzo pequeño ($F_{s[1,8]} = 33.19, p < .0005$). Un resultado similar se obtuvo del análisis de la etapa de post-cambio. El análisis global mostró diferencias significativas entre Grupos ($F_{[2,12]} = 70.38, p < .0001$), a través de las Sesiones ($F_{[11,132]} = 2.34, p < .05$) y de interacción ($F_{[22,132]} = 2.88, p < .0001$).

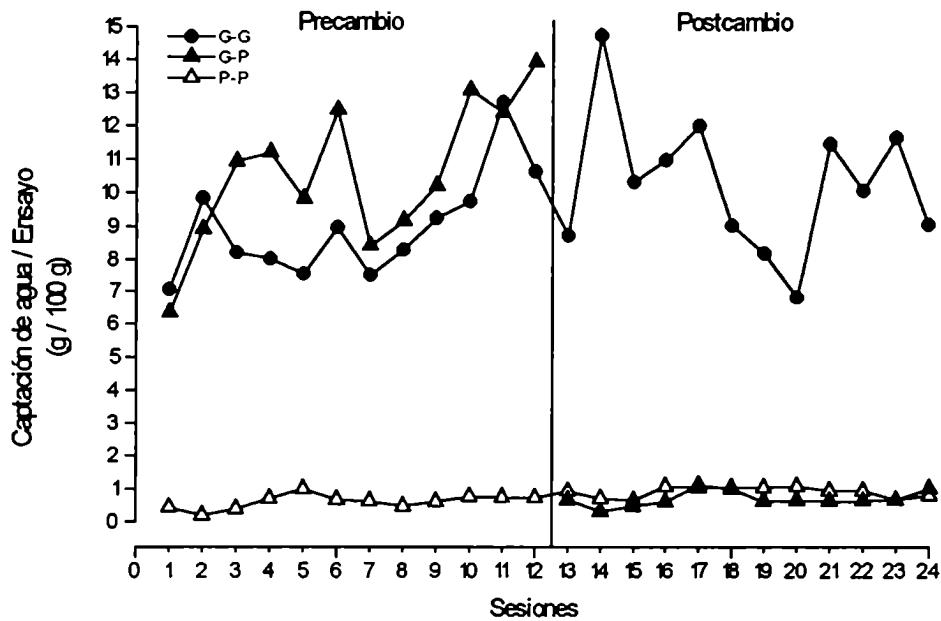


Figura 27. Captación de agua (en g/100g) por ensayo en los tres grupos del Experimento 8, durante las 24 sesiones iniciales de entrenamiento. La denominación de los grupos es idéntica a la de la Figura 24.

No hubo diferencias entre los Grupos G-P y P-P ($F_{[1,8]} = 1.46, p > .05$), pero el Grupo G-G difirió de los otros dos grupos ($F_{s[1,8]} = 69.40, p < .0001$).

DISCUSION

Este estudio proveyó información sobre el efecto de la magnitud del reforzamiento sobre el aprendizaje después de 24 sesiones de adquisición, utilizando nuevos valores de refuerzo (80 s versus 1280 s). Los resultados indicaron un claro efecto en la adquisición, pero ningún efecto durante la extinción. Además, se observó que un grupo que fue cambiado de 1280 a 80 s de acceso a agua durante las sesiones reforzadas (Grupo G-P) tuvo un ajuste gradual a la nueva magnitud de refuerzo sin ninguna evidencia del efecto de contraste.

EXPERIMENTO 9**Efecto de la lesión bilateral del pallium medial sobre el aprendizaje de cambios en la magnitud del reforzamiento.**

El siguiente experimento fue diseñado con el objeto de responder dos preguntas. En primer lugar, la búsqueda del efecto de contraste se extendió a una situación donde se mantenían las mismas condiciones del Experimento 8, excepto que el cambio de la magnitud de refuerzo grande a la pequeña se realizó después de 24 sesiones de entrenamiento con magnitud grande (en lugar de 12 sesiones). Precisamente, el hecho de realizar el doble de entrenamiento de pre-cambio respecto del experimento previo puede facilitar la expresión del ECNS. La segunda pregunta estuvo relacionada con el papel del pallium medial en el ajuste gradual a la reducción del refuerzo observado en el experimento previo. Franchina y Brown (1971) observaron que sólo las ratas con lesiones hipocampales (y no los animales con operación simulada o controles con lesión cortical) mostraron una ausencia completa de variación en el desempeño después de un cambio de una magnitud de refuerzo grande a una pequeña (i.e., no se observó ECNS). Sin embargo, la lesión hipocampal no afectó la respuesta de adquisición.

Los estudios previos con sapos (Experimentos 2 y 6) mostraron que las lesiones del pallium medial después de un entrenamiento con reforzamiento continuo producen el mismo efecto que en ratas hipocampectomizadas entrenadas bajo condiciones similares (Feldon et al., 1985; Jarrard & Isaacson, 1965; Winocur & Mills, 1969); es decir, aumentan la resistencia a la extinción sin afectar la adquisición. En base a esta similitud funcional entre el pallium medial de los anfibios y el hipocampo de los mamíferos, se trató de analizar si las lesiones del pallium medial deterioraban el cambio gradual observado en el Experimento 8 después del cambio de un refuerzo grande a uno pequeño. Tal resultado apoyaría la hipótesis de que estas dos estructuras son, al menos en parte, funcionalmente equivalentes (ver Experimento 6).

METODO

Sujetos y aparatos. Se utilizaron 32 sapos machos adultos sin experiencia previa. Los pesos estándar variaban entre 61.0 y 147.0 g al comienzo del entrenamiento. Las condiciones de mantenimiento, la selección de los animales experimentales y los aparatos de entrenamiento fueron descritos en el Experimento 1.

Procedimiento quirúrgico e histología. Se practicó el mismo procedimiento quirúrgico e histológico que en el Experimento 2. Dieciseis animales recibieron lesiones bilaterales del pallium medial, mientras que el resto de los sapos recibieron una operación simulada.

El programa de entrenamiento se inició cuando los animales operados estaban recuperados, aproximadamente 72 hs después de la intervención quirúrgica.

Procedimiento de entrenamiento. El preentrenamiento siguió el procedimiento descrito en el Experimento 5 (dos sesiones, una por día).

El entrenamiento comenzó luego de las dos sesiones iniciales de preentrenamiento y continuó durante 36 sesiones, una por día, con un ensayo cada una. Hubo una etapa de pre-cambio de 24 sesiones, y luego una etapa de post-cambio de 12 sesiones. Los

animales fueron asignados azarosamente a cuatro grupos (n=8). El Grupo P-P/PM fue entrenado a través de las 36 sesiones con una magnitud de refuerzo pequeña (60 s de acceso a agua en el compartimiento meta), después de recibir una lesión del pallium medial. El Grupo G-P/PM fue entrenado durante 24 sesiones con una magnitud de refuerzo grande (600 s) y luego cambiado a una magnitud pequeña durante las 12 sesiones finales, después de recibir también una lesión del pallium medial. Los Grupos P-P/OS y G-P/OS fueron equivalentes a los dos grupos previos, excepto que estos animales recibieron una operación simulada antes del entrenamiento.

RESULTADOS

Cinco sapos murieron durante el curso del entrenamiento, dejando a los Grupos G-P/PM y G-P/OS con 6 animales cada uno y al Grupo P-P/OS con 7 animales. La Figura 28 muestra las lesiones más grande (A) y más pequeña (B) del pallium medial producidas en los sapos de los Grupos G-P/PM y P-P/PM.

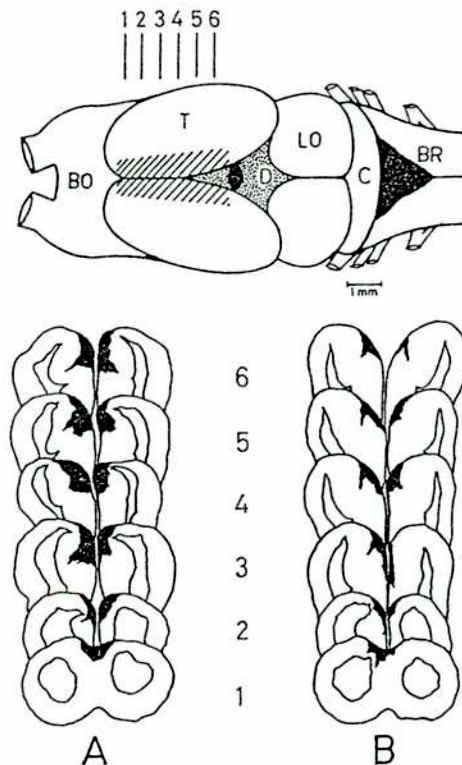


Figura 28. Representación esquemática de las lesiones bilaterales del pallium medial más grande (A) y más pequeña (B) en los sapos del Experimento 9. También se incluye una vista dorsal del cerebro de *Bufo arenarum*. El área sombreada muestra la ubicación y magnitud de la lesión. Los números indican el nivel de cada sección frontal en la vista dorsal del telencéfalo. BO: bulbo olfatorio. BR: bulbo raquídeo. C: cerebelo. D: diencéfalo. LO: lóbulo óptico. T: telencéfalo. IIIv: tercer ventrículo. IVv: cuarto ventrículo. Además, se muestra la posición de algunos nervios craneanos.

El tamaño de las lesiones fue relativamente homogéneo y no hubo daños observables en áreas adyacentes, incluyendo al tejido cercano a las paredes de los ventrículos laterales. Los animales con operación simulada no mostraron daños observables en el telencéfalo.

La Figura 29 muestra los resultados principales de este experimento.

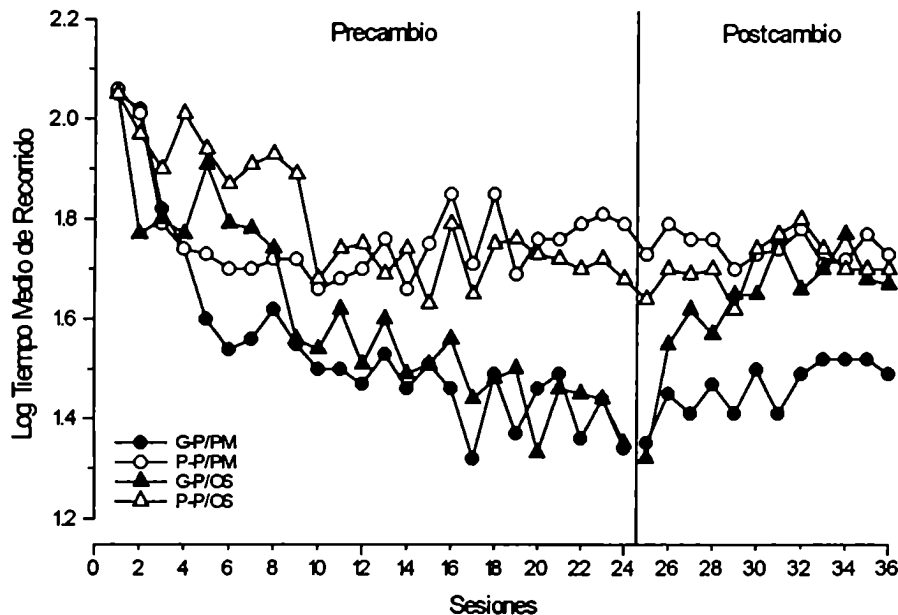


Figura 29. Tiempo medio de recorrido (en Log s) de los grupos de sapos del Experimento 9, entrenados con una magnitud de refuerzo pequeña durante las 36 sesiones de entrenamiento (P-P), o con la magnitud de refuerzo grande durante 24 sesiones de entrenamiento seguidas por 12 sesiones con el refuerzo pequeño (G-P). A un grupo de cada par se le realizó previamente una lesión del pallium medial (Grupos PM), mientras que al otro grupo en cada par se le realizó una operación simulada (Grupos OS).

Durante la etapa de pre-cambio hubo un claro efecto de la magnitud del reforzamiento que reproduce las observaciones de los Experimentos 7 y 8. Las lesiones del pallium medial parecieron producir una facilitación inicial de la adquisición durante las primeras 10 sesiones, pero no tienen efecto en el resto de la etapa de pre-cambio. Un ANOVA de Lesión por Magnitud por Sesión indicó efectos simples de Magnitud ($F_{[1,23]} = 16.76, p < .0001$) y Sesión ($F_{[23,529]} = 13.59, p < .0001$). La interacción Magnitud x Sesión fue altamente significativa, tal como era sugerido por el desempeño divergente de los grupos con refuerzo grande y pequeño ($F_{[23,529]} = 2.31, p < .001$). La interacción Lesión x Sesión también alcanzó un nivel significativo debido a la facilitación inicial de adquisición de los animales lesionados ($F_{[23,529]} = 2.06, p < .0001$). Este efecto facilitatorio de la lesión sobre la adquisición inicial no fue

observado en los otros dos experimentos que involucraban ablaciones del pallium medial (Experimentos 2 y 6), razón por la cual debería ser tomado con precaución. Todos los demás efectos no fueron significativos.

La Figura 29 también muestra los resultados de la etapa de post-cambio. Los sapos con operación simulada tuvieron el mismo tipo de ajuste gradual a un cambio en la magnitud del refuerzo observado en el experimento previo, sin ninguna evidencia de contraste. Este resultado confirma la ausencia del ECNS, aún cuando la etapa de pre-cambio se extendió de 12 a 24 sesiones. La Figura 29 indica, además, que las lesiones del pallium medial eliminan el ajuste gradual en el desempeño. Los animales lesionados persisten en un nivel de desempeño característico de la condición de reforzamiento grande. Se realizó un ANOVA de Lesión por Magnitud por Sesión para analizar los tiempos de recorrido de la etapa de post-cambio. En este punto es importante hacer notar que durante la fase de post-cambio todos los grupos fueron entrenados con la magnitud de refuerzo pequeña. El análisis estadístico indica que existen efectos significativos de Magnitud ($F_{[1,23]} = 24.90$, $p < .0001$) y de Sesión ($F_{[11,253]} = 2.94$, $p < .005$), y un efecto marginalmente significativo de Lesión ($F_{[1,23]} = 3.67$, $p < .08$). El efecto de la lesión sobre el desempeño después del cambio de magnitud se expresó en una interacción significativa de Lesión x Magnitud ($F_{[1,23]} = 8.41$, $p < .01$).

La Figura 30 muestra la cantidad de captación de agua en cada grupo por etapa de entrenamiento.

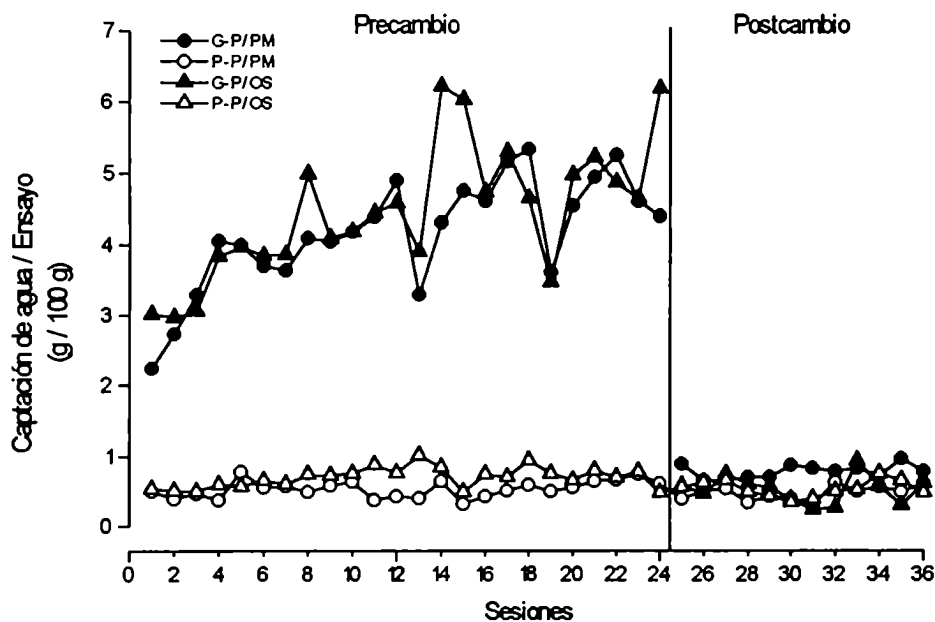


Figura 30. Captación de agua (en g/100g) por ensayo en los cuatro grupos del Experimento 9, durante las 36 sesiones de entrenamiento. La denominación de los grupos es idéntica a la de la Figura 29.

La captación de agua, como era de esperar, aumentó en los dos grupos que recibieron la magnitud de refuerzo grande (600 s de acceso a agua), pero permaneció constante para los grupos expuestos a la magnitud pequeña (60 s de acceso a agua). Este resultado reproduce lo observado en el Experimento 7. La captación de agua disminuye abruptamente después del cambio, pero hubo una tendencia en el Grupo G-P/PM a producir valores más altos que los de otros grupos. Un análisis de los datos de la etapa de pre-cambio mostraron efectos altamente significativos de Magnitud ($F_{[1,23]} = 71.23$, $p < .0001$), de Sesión ($F_{[23,529]} = 6.61$, $p < .0001$) y de la interacción Magnitud x Sesión ($F_{[23,529]} = 5.63$, $p < .0001$). Ninguno de los efectos de Lesión, ya sean simples o de interacción, alcanzaron un nivel significativo ($F_s < 1$). Un análisis similar de los resultados de post-cambio no dieron efectos significativos para todos los factores e interacciones, excepto para la interacción Magnitud x Lesión ($F_{[1,23]} = 4.43$, $p < .05$). Este resultado sugiere que los sapos con lesiones del pallium medial pre-expuestos a una magnitud de refuerzo grande pueden incrementar la captación de agua después de un cambio a una magnitud pequeña, relativa a los controles con operación simulada también expuestos a la magnitud grande antes del cambio. La razón de este efecto no es demasiado clara hasta el momento.

DISCUSION

En el presente estudio, en concordancia con los resultados de los experimentos anteriores, la magnitud del reforzamiento afectó en proporción directa a la tasa de adquisición. La transición de una magnitud de refuerzo grande a una pequeña, utilizando el doble de sesiones de pre-cambio que en el experimento anterior, no indicó evidencia alguna del efecto de contraste. Las lesiones del pallium medial no afectaron el desempeño durante la adquisición, pero determinaron una alta resistencia a manifestar cambios en la respuesta luego de una reducción de la magnitud del reforzamiento. Este resultado concuerda con lo observado después de lesiones del pallium medial en los Experimentos 2 y 6. Además, este resultado también es el que se obtuvo en experimentos con ratas lesionadas en el hipocampo que involucraban cambios en la magnitud de un refuerzo continuo (ver referencias en la Introducción del Capítulo 2).

DISCUSION GENERAL

Los resultados de los experimentos de la presente tesis aportan datos originales a la limitada información disponible sobre el aprendizaje en anfibios en general, y en particular en la presente situación de entrenamiento en sapos. Se observaron diversos fenómenos de aprendizaje comunes a una amplia variedad de vertebrados, tales como la adquisición bajo condiciones de entrenamiento masivo y espaciado, la extinción, la recuperación espontánea, el efecto subsiguiente al refuerzo, y el efecto en la adquisición de la magnitud del reforzamiento. En cierto sentido, la presencia de estos efectos valida la situación de entrenamiento, lo que sugiere que no se está ante un grupo peculiar de ajustes comportamentales.

El hecho que en los sapos se verifique que la magnitud del refuerzo afecta la tasa de adquisición en proporción directa, un resultado muy común en experimentos con otros vertebrados (Mackintosh, 1974), es especialmente importante. Este efecto, además de validar las condiciones de entrenamiento usadas en todos los experimentos, también sugiere que la ausencia de efectos paradójicos no puede ser atribuida a que las magnitudes específicas usadas en estos experimentos no son percibidas por los animales como diferentes. Además, la ausencia de estos efectos tampoco puede ser atribuida a "techos" (o asíntotas) de respuesta, a un número insuficiente de ensayos de entrenamiento o al momento en el entrenamiento en que se hicieron los cambios en las condiciones de reforzamiento.

Los resultados de los Experimentos 3, 4, 5 y 6 sobre el aprendizaje instrumental en sapos sugieren que el reforzamiento parcial empeora la adquisición y lleva a una más rápida o igual -pero no más lenta- tasa de extinción que el reforzamiento continuo. Estos experimentos se realizaron en una amplia gama de condiciones de entrenamiento, que incluían variaciones de la longitud de la etapa de adquisición, un número variable de transiciones N-R, distintas longitudes del período de acceso a agua y diferente inclinación del corredor recto. De esta forma, la respuesta de los sapos durante la extinción fue en todos los casos semejante a la respuesta de peces teleósteos (González et al., 1965; Longo & Bitterman, 1960; Schutz & Bitterman, 1969) y a la de ratas lactantes (Amsel et al., 1977; Letz et al., 1978). En cambio, como se mencionó anteriormente, en experimentos análogos con ratas y palomas también entrenadas bajo condiciones de ensayos espaciados, se observó que el reforzamiento parcial empeoraba el desempeño de los animales en la adquisición, pero al mismo tiempo estos animales mostraban mayor resistencia a la extinción que los animales con reforzamiento continuo (Hulse, 1958; Roberts et al., 1963; Wagner, 1961; Weinstock, 1954, 1958).

En los Experimentos 7, 8 y 9 se observó que las magnitudes de reforzamiento relativamente grandes producen mejores respuestas tanto durante la adquisición como durante la extinción. De esta forma, no hubo indicios del efecto de la magnitud del

reforzamiento luego del pasaje a extinción. Además, la transición de una magnitud de refuerzo grande a una pequeña mostró un ajuste gradual a la nueva magnitud del refuerzo, sin ninguna evidencia de contraste. En estos experimentos también se aplicó una amplia variedad de condiciones de entrenamiento. Por lo tanto, aquí tampoco la respuesta de los sapos durante la extinción fue semejante a la de ratas o palomas entrenadas bajo condiciones similares, sino similar a la de peces teleósteos.

Globalmente, podemos decir entonces que en sapos la mayor resistencia a la extinción después de un reforzamiento continuo como después de magnitudes de reforzamiento grandes está de acuerdo con las predicciones de las teorías clásicas del aprendizaje, y no es en ningún sentido un comportamiento paradójico.

Estas diferencias comportamentales pueden ser interpretadas, al menos, de dos maneras. Por un lado, es posible que los efectos paradójicos sean encontrados en sapos sólo bajo un conjunto de condiciones muy reducido. Esta posibilidad sugiere que se deberían realizar estudios adicionales sobre estos efectos en sapos empleando otros parámetros de entrenamiento (tales como diferentes reforzadores y respuestas). Por otro lado, también es posible que con ensayos espaciados los efectos paradójicos dependan de mecanismos que sencillamente no están presentes en estos anfibios. Esta última posibilidad se apoya en tres líneas de evidencia. Primero, los efectos paradójicos del reforzamiento no están distribuidos azarosamente entre los vertebrados (ver Capítulo 2). Los experimentos con ensayos espaciados muestran que estos efectos covarían en algunas especies y están presentes sólo en vertebrados con un origen filogenético reciente (i.e., aves y mamíferos). Segundo, el conjunto de los experimentos con sapos no aporta evidencia de ninguno de los efectos paradójicos más estudiados (ERPE, EMRE y ECNS). Es decir, la misma covariación que se observa en otras especies de vertebrados también está presente en sapos. Tercero, el efecto de las lesiones del pallium medial del sapo sobre la extinción sugiere que el reforzamiento continuo y el reforzamiento parcial pueden afectar el desempeño mediante el mismo mecanismo. Los animales con lesiones presentan un aumento de la resistencia a la extinción después de un entrenamiento en la adquisición con reforzamiento continuo, como después de un entrenamiento con reforzamiento parcial. En contraste, una lesión hipocampal en ratas produce efectos opuestos sobre la extinción luego de un entrenamiento con RC comparado con uno RP, resultado que apoya la hipótesis de que estos dos programas emplean mecanismos diferentes (Amsel, 1992). Este último punto será discutido en detalle más adelante.

Como ya se mencionó, parte de la evidencia que permite asumir que estos efectos paradójicos están relacionados surge de los estudios comparativos.

Los resultados experimentales obtenidos en esta tesis en sapos no aporta evidencia en este grupo de ninguno de los efectos paradójicos estudiados (ERPE, EMRE y ECNS). Si incorporamos estos resultados experimentales a la Tabla 1 (p. 20), no se altera la distribución taxonómica observada anteriormente. Es decir, los efectos siempre fueron observados en grupos derivados de linajes filogenéticamente recientes, tales como aves y mamíferos. Descendientes de linajes relativamente antiguos, incluyendo lagartijas, tortugas, sapos y peces teleósteos, entrenados bajo condiciones análogas, mostraron siempre un ajuste directo del desempeño de extinción al nivel de reforzamiento recibido en adquisición. Aunque toda conclusión en este sentido debe tomarse con la debida precaución (pues grupos enteros de vertebrados todavía no han sido estudiados), cabe preguntarse, en este punto, acerca de la posibilidad de

divergencia en los mecanismos evolutivos de este tipo de aprendizaje. Es posible especular que si los mecanismos subyacentes a estos efectos paradójicos se desarrollaron en un antecesor reptiliano de aves y mamíferos, ellos podrían no estar presentes en los descendientes de líneas filogenéticamente antiguas, tales como la de los anfibios (Bitterman, 1975; Papini et al., 1988).

Por otra parte, la generalización de los resultados mostrados en los experimentos de esta tesis debe ser tomada con cuidado, tanto a través de situaciones de entrenamiento como a través de especies de anfibios. Consideremos para analizar este aspecto, por ejemplo, los efectos sobre la extinción del reforzamiento parcial en los experimentos en ratas.

Se conocen diferentes variables que afectan al ERPE, las cuales necesitan ser estudiadas cuidadosamente en la situación de entrenamiento utilizada en sapos. Por ejemplo, la cantidad de entrenamiento de adquisición es teóricamente una importante causa determinante del ERPE, dado que el condicionamiento y el contracondicionamiento de respuestas frustrantes se desarrollan gradualmente. A pesar de ello, existe información sólida que indica que con intervalos inter-ensayo superiores a 5 min, el ERPE puede ser observado aún después de un entrenamiento de adquisición muy limitado (Brooks, 1969, 1971, 1980; Capaldi et al., 1968; McCain, 1966), y también aparece con intervalos inter-ensayo de 24 hs con tal que se presente una gran magnitud constante de refuerzo en cada ensayo de adquisición (Amsel et al., 1968). Pero estos pocos ensayos en el ERPE probablemente dependen más de la frustración primaria (acelerando la extinción en la condición de reforzamiento continuo), que del desarrollo de la resistencia a la extinción en el entrenamiento con reforzamiento parcial (Brooks, 1969). De todos modos, dado que los presentes experimentos no proveen evidencia de ERPE en la situación de ensayos espaciados, no es necesario asumir ninguno de los procesos invocados por la teoría de la frustración para explicar este fenómeno, tanto después de una adquisición limitada como prolongada.

Otra variable que contribuye a la expresión del ERPE es el número de ensayos no reforzados que son seguidos por ensayos reforzados, o transiciones N-R (Spivey, 1967). Por supuesto, con un período de adquisición relativamente corto, van a existir menos transiciones N-R; en el Experimento 4, por ejemplo, durante los 12 ensayos de adquisición hubo sólo tres transiciones N-R. Ninguno de estos problemas estuvo presente en el Experimento 3, en el que la adquisición fue relativamente larga y hubo muchas oportunidades para que las transiciones N-R ejerzan su efecto sobre la resistencia a la extinción. La tendencia significativa cuando el intervalo entre ensayos fue de 15 s, lo cual podía ser interpretado como una débil evidencia hacia un ERPE, desapareció completamente cuando el intervalo inter-ensayo fue de 300 s. De esta forma, el Experimento 3 sugiere que un entrenamiento extenso con muchas transiciones N-R no es suficiente para producir un ERPE si el intervalo inter-ensayo es al menos de 5 min.

También se encontró que el ERPE aumenta su expresión en ratas cuando se emplean grandes magnitudes de reforzamiento (González & Bitterman, 1969). Mientras que se podría argumentar que tal vez la magnitud del refuerzo usada en el Experimento 4 no fue suficientemente grande, los resultados del Experimento 7 parecerían sugerir lo contrario. En este último experimento, en el que se utilizaron cuatro tiempos diferentes de acceso a agua, los valores de mayor magnitud de refuerzo no produjeron un mejor desempeño durante la adquisición (aunque hubo una tendencia en esa dirección), ni una mayor resistencia a la extinción. Sobre la base de estos

resultados, se podría sugerir que la magnitud del refuerzo usada en el Experimento 4 fue suficientemente grande como para observar el efecto.

Por supuesto, además de todas estas variables se deberían manipular otras adicionales, tales como el tipo de reforzador. El ERPE, por ejemplo, podría expresarse en sapos si se utilizara como reforzador alimento sólido, si bien, como contrapartida, este efecto ha sido obtenido en ratas usando agua (Shanab et al., 1975; Wilson et al., 1955) o soluciones de sacarosa como reforzadores (Lykely et al., 1971).

Con respecto a las lesiones cerebrales, la ablación del pallium medial de los sapos (presumiblemente el homólogo anfibio de la formación hipocampal de los mamíferos) no produjo efectos detectables sobre la adquisición de una respuesta en un corredor recto, pero aumentó la resistencia a la extinción cuando los animales fueron cambiados a una sucesión de ensayos no reforzados (Experimento 2). Cabe mencionar que este resultado también se obtuvo en ratas hipocampectomizadas entrenadas bajo condiciones análogas y con intervalos entre ensayos intermedios (4 a 10 min) (Jarrard & Isaacson, 1965; Jarrard et al., 1964; Rawlins et al., 1980; Winocur & Mills, 1969). Cuando se usan intervalos entre ensayos muy cortos (1 a 10 s), las lesiones hipocampales no producen efectos similares en la extinción después de un reforzamiento continuo, pues el desempeño del grupo lesionado es similar al del grupo con operación simulada (Jarrard & Isaacson, 1965; Jarrard et al., 1964; Lobaugh et al., 1985; Rawlins et al., 1985). De esta manera, la resistencia a la extinción luego de lesiones hipocampales dependería en forma directa del uso de un intervalo inter-ensayo intermedio durante la extinción (Jarrard & Isaacson, 1965).

Tomando como fundamento estos datos comportamentales, se ha argumentado que la longitud del intervalo inter-ensayo determina cuál mecanismo explicaría el efecto de extinción (Bitterman, 1975; Mackintosh, 1974). Situaciones de ensayos masivos pueden llevar a una extinción acelerada debido a una disminución de la generalización de estímulos, mientras que cuando los ensayos son ampliamente distribuidos el mismo fenómeno comportamental puede depender de alguna forma de reacción emocional a la omisión del refuerzo. Este es el caso particular cuando se administra un ensayo por día. Los datos en ratas apoyan la idea de que los mecanismos que subyacen la extinción en situaciones de entrenamiento masivo y espaciado son diferentes, pues la misma lesión aumenta la resistencia a la extinción solamente en el caso distribuido.

En el Experimento 6, se estudiaron los efectos de la lesión del pallium medial sobre la adquisición y la extinción de una respuesta de corredor recto bajo una situación de entrenamiento distribuido con reforzamiento continuo y parcial. El patrón de resultados de ratas hipocampectomizadas entrenadas con estos dos programas es muy específico: la lesión no afecta la adquisición, pero lleva a un **aumento** de la resistencia a la extinción después de un reforzamiento continuo y a una **disminución** de la resistencia a la extinción luego de un reforzamiento parcial (Brunner et al., 1974; Feldon et al., 1985; Jarrard & Isaacson, 1965; Rawlins et al., 1980; Winocur & Mills, 1969). Los experimentos en sapos mostraron que las lesiones del pallium medial no afectaron la adquisición, **aumentaron** la resistencia a la extinción después de un entrenamiento con reforzamiento continuo y también **aumentaron** la resistencia a la extinción luego de un entrenamiento con reforzamiento parcial. Los resultados de los experimentos con ratas han sido interpretados como evidencia de que el hipocampo está involucrado en el desarrollo de la tolerancia a situaciones inesperadas de ausencia de reforzamiento (Amsel, 1992; Gray, 1987), proceso que se supone sólo ocurre en la

condición de reforzamiento parcial. Los resultados de los experimentos con sapos sugieren que después del cambio de adquisición a extinción, el pallium medial afecta mediante el mismo mecanismo tanto la respuesta instrumental reforzada en forma continua como la reforzada en forma parcial.

En el Experimento 9, se estudiaron los efectos de la lesión del pallium medial frente a un cambio en la magnitud del refuerzo. Los resultados sugieren (como en los experimentos anteriores) que la lesión no afecta la respuesta durante la adquisición, pero determina una mayor resistencia al cambio en las condiciones del reforzamiento.

De esta forma, los presentes experimentos con lesiones del pallium medial muestran que las respuestas dominantes no son afectadas durante la adquisición, pero que estas mismas respuestas son muy resistentes a modificarse después de cambios en las condiciones de reforzamiento. Este resultado es el mismo que se obtiene en ratas después de lesiones del sistema septo-hipocampal en experimentos que abarcan cambios en la magnitud del refuerzo (para referencias ver Capítulo 2). Por lo tanto, la diferencia entre la lesión del pallium medial y la hipocampectomía está restringida al caso de un entrenamiento con reforzamiento parcial y ensayos espaciados. En ratas, tales lesiones **disminuyen** la resistencia a la extinción, mientras que en sapos **aumentan** la resistencia a la extinción. Así, la evidencia disponible de los efectos de las lesiones del pallium medial sobre el aprendizaje en sapos induce a pensar que esta estructura cerebral podría participar en la inhibición de respuestas dominantes y/o la inhibición de respuestas alternativas (exploratorias) que se desencadenan normalmente luego de cambios en las condiciones del reforzamiento.

Los presentes resultados sugieren como hipótesis de trabajo que el pallium medial de los anfibios y el sistema septo-hipocampal de los mamíferos comparten ciertas propiedades funcionales, tales como su papel en la inhibición de respuestas, pero la estructura de los mamíferos parece haber desarrollado funciones adicionales que no están presentes en su homóloga de los anfibios. Estas funciones adicionales son aquellas que subyacen al ajuste comportamental a un cambio en las condiciones del refuerzo bajo programas de entrenamiento espaciado, y que involucran reacciones emocionales a la omisión inesperada del refuerzo (e.g., frustración). Estas diferencias funcionales paralelas también se distinguirían en la complejidad anatómica de estas dos áreas (Chronister & White, 1975; Kuhlenbeck, 1977; Lascano et al., 1971; Northcutt & Kicliter, 1980).

Los datos obtenidos en esta tesis y en otros experimentos con anfibios (Macphail, 1982; Suboski, 1992) sugieren que el conjunto de todos estos resultados pueden ser explicados por un modelo simple de fortalecimiento-debilitamiento (Couvillon & Bitterman, 1985b; Lowes & Bitterman, 1967; Papini & Bitterman, 1991). De acuerdo a este modelo, las conexiones asociativas se fortalecen por reforzamientos y se debilitan por no reforzamientos, y el desempeño es una función monotonica de la fuerza de tales conexiones. El pallium medial de los anfibios puede jugar un papel en el debilitamiento de asociaciones desarrolladas durante la adquisición, siguiendo distintas vías posibles. Cuando un refuerzo es omitido inesperadamente, el pallium medial podría reducir el peso de ciertas conexiones. En una vía optativa, el pallium medial podría inhibir la respuesta dominante y/o las respuestas alternativas que se han desencadenado, una vez que se detecta en alguna otra parte del cerebro una desigualdad entre la magnitud del refuerzo esperado y el obtenido. La evidencia disponible de los experimentos con sapos no hace pensar que en esta especie el aprendizaje esté mediado por reacciones emocionales a la omisión anticipada del refuerzo (Amsel, 1992).

En base a los presentes resultados sobre el aprendizaje en el sapo *Bufo arenarum*, se pueden elaborar estudios para desarrollar en un futuro inmediato.

Como se mencionó anteriormente, la investigación neurobiológica en ratas sugiere que para que se expresen los fenómenos paradójicos del aprendizaje se requiere de un sistema septo-hipocampal intacto. Así, se observa que el daño de los núcleos y vías relacionadas al hipocampo, tales como el núcleo septal y las fibras de la fimbria-fórnix, también eliminan el ERPE en ratas (Feldon et al., 1985; Owen et al., 1982; Winokur & Mills, 1969). Por lo tanto, sería interesante determinar si la lesión del área septal medial de los anfibios, la cual tiene conexiones aferentes y eferentes con el pallium medial (Northcutt & Ronan, 1992), tiene efectos similares a los descriptos aquí para el pallium medial.

Además, los experimentos en mamíferos indican que seguido a una reducción del refuerzo, se produce un aumento de los niveles plasmáticos de la hormona corticosterona, lo cual se interpreta como un indicador de estrés (Dantzer et al., 1980; Flaherty et al., 1985; Goldman et al., 1973). En forma similar, drogas ansiolíticas tales como el amobarbital sódico, clordiazepóxido y etanol, reducen o eliminan en ratas el ECNS y el ERPE (para revisiones, ver Flaherty, 1990; Gray, 1977). En el mismo sentido, la exposición prenatal y postnatal a alcohol también elimina el ERPE en ratas y, simultáneamente, reduce la densidad celular en el hipocampo (Wigal & Amsel, 1990). Tal vez, manipulaciones similares utilizando renacuajos puedan revelar una relación análoga entre daño temprano del pallium medial y desempeño de aprendizaje en el adulto (Strickler-Shaw & Taylor, 1991).

Por último, si bien la manipulación sistemática de variables teóricamente importantes proveerá de evidencia crucial para una evaluación más completa del aprendizaje en sapos, el punto más importante es que el presente procedimiento de entrenamiento está abriendo el camino para un análisis comprensivo de los procesos de aprendizaje en una especie de anfibio, grupo que ha recibido en general poca atención en este aspecto.

REFERENCIAS

- Altman, J., & Bayer, S. (1975). Postnatal development of the hippocampal dentate gyrus under normal and experimental conditions. In "The hippocampus. Vol. 1: Structure and development" (R. L. Isaacson & K. H. Pribram, eds.), pp. 95-122. Plenum, New York.
- Amsel, A. (1958). The role of frustrative nonreward in noncontinuous reward situations. *Psychological Bulletin*, 55, 102-119.
- Amsel, A. (1962). Frustrative nonreward in partial reinforcement and discrimination learning. *Psychological Review*, 69, 306-328.
- Amsel, A. (1967). Partial reinforcement effects on vigor and persistence: Advances in frustration theory derived from a variety of within-subjects experiments. In "The Psychology of Learning and Motivation" (K. W. Spence & J. T. Spence, eds.), Vol. 1, pp. 1-65. Academic Press, New York.
- Amsel, A. (1972a). Behavioral habituation, counterconditioning, and a general theory of persistence. In "Classical Conditioning II: Current Research and Theory" (A. H. Black & W. F. Prokasy, eds.), pp. 409-426. Appleton, New York.
- Amsel, A. (1972b). Inhibition and mediation in classical, Pavlovian and instrumental conditioning. In "Inhibition and Learning" (R. Boakes & S. Halliday, eds.), pp. 275-300. Academic Press, New York.
- Amsel, A. (1986). Developmental psychobiology and behaviour theory: Reciprocating influences (D. E. Berlyne memorial lecture). *Canadian Journal of Psychology*, 40, 311-342.
- Amsel, A. (1990). Arousal, suppression, and persistence: Frustration theory, attention, and its disorders. *Cognition and Emotion*, 4, 239-268.
- Amsel, A. (1992). Frustration theory. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Amsel, A., & Stanton, M. (1980). Ontogeny and Phylogeny of Paradoxical Reward Effects. In "Advances in the study of behavior", Vol. 2, pp. 227-274. Academic Press, New York.
- Amsel, A., Hug, J. J., & Surridge, C. T. (1968). Number of food pellets, goal approaches, and the partial reinforcement effect after minimal acquisition. *Journal of Experimental Psychology*, 77, 530-534.
- Amsel, A., Letz, R., & Burdette, D. R. (1977). Appetitive learning and extinction in 11-day-old rat pups: Effects of various reinforcement conditions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 91, 1156-1167.
- Angevine, J. B. (1975). Development of the hippocampal region. In "The hippocampus, Vol. 1: Structure and development" (R. L. Isaacson & K. H. Pribram, eds.), pp. 61-94. Plenum, New York.
- Baldwin, R. A. (1974). The water balance response of the pelvic "patch" of *Bufo punctatus* and *Bufo boreas*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 47A, 1285-1295.
- Barry, H. III, Wagner, A. R., & Miller, N. E. (1962). Effects of alcohol and amobarbital on performance inhibited by experimental extinction. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 55, 464-468.

- Bayer, S. A. (1980a). Development of the hippocampal region in the rat: I. Neurogenesis examined with ^3H -thymidine autoradiography. *Journal of Comparative Neurology*, 190, 87-111.
- Bayer, S. A. (1980b). Development of the hippocampal region in the rat: II. Morphogenesis during embryonic and early postnatal life. *Journal of Comparative Neurology*, 190, 115-134.
- Bayer, S. A. (1982). Changes in the total number of dentate granule cells in juvenil and adults rats: A correlated volumetric and ^3H -thymidine autoradiographic study. *Experimental Brain Research*, 46, 315-323.
- Bayer, S. A. (1985). Hippocampal region. In "The rat nervous system. Vol. 1: Forebrain and midbrain" (G. Paxinos, ed.), pp. 335-352. Academic Press, Sydney.
- Becker, H. C., & Flaherty, C. F. (1982). Influence of ethanol on contrast in consummatory behavior. *Psychopharmacology*, 77, 253-258.
- Bentley, P. J. (1966). Adaptations of Amphibia to arid environments. *Science*, 152, 619-623.
- Bentley, P. J. (1974). Actions of neurohypophysial peptides in amphibians, reptiles and birds. In "Handbook of Physiology" (Section 8: Endocrinology), pp. 545-563. Academic Press, New York.
- Bentley, P. J., Lee, A. K., & Main, A. R. (1958). Comparison of dehydration and hydration of two genera of frogs (*Heleioporus* and *Neobatrachus*) that live in areas of varying aridity. *Journal of Experimental Zoology*, 35, 667-684.
- Bitterman, M. E. (1969). Thorndike and the problem of animal intelligence. *American Psychologist*, 24, 444-453.
- Bitterman, M. E. (1975). The comparative analysis of learning. *Science*, 188, 699-709.
- Boitano, J. J., & Foskett, M. D. (1968). Effects of partial reinforcement on speed of approach responses in goldfish (*Carassius auratus*). *Psychological Reports*, 22, 741-744.
- Brooks, C. I. (1969). Frustration to nonreward following limited reward experience. *Journal of Experimental Psychology*, 81, 403-405.
- Brooks, C. I. (1971). Frustration considerations of the small-trials partial reinforcement effect: Experience with nonreward and intertrial reinforcement. *Journal of Experimental Psychology*, 89, 362-371.
- Brooks, C. I. (1980). Effect of prior nonreward on subsequent incentive growth during brief acquisition. *Animal Learning and Behavior*, 8, 143-151.
- Brunner, R. L., Haggbloom, S. J., & Gazzara, R. A. (1974). Effects of hippocampal X-irradiation produced granule-cell agenesis on instrumental runway performance in rats. *Physiology and Behavior*, 13, 485-494.
- Burdette, D. R., Brake, S., Chen, J.-S., & Amsel, A. (1976). Ontogeny of persistence: Immediate extinction effects in preweanling and weanling rats. *Animal Learning and Behavior*, 4, 131-138.
- Bush, R. R., & Mosteller, F. (1951). A mathematical model for simple learning. *Psychological Review*, 58, 313-323.
- Bush, R. R., & Mosteller, F. (1955). *Stochastic Models for Learning*. Wiley, New York.
- Capaldi, E. J. (1967). A sequential hypothesis of instrumental learning. In "The Psychology of Learning and Motivation" (K. W. Spence & J. T. Spence, eds.), Vol. 1, pp. 67-156. Academic Press, New York.

- Capaldi, E. J., Lanier, A. T., Godbout, R. C. (1968). Reward schedule effects following severely limited acquisition training. *Journal of Experimental Psychology*, 78, 521-524.
- Chaline, J. (1990). *Paleontology of vertebrates*. Springer-Verlag, Berlin.
- Chen, J.-S., & Amsel, A. (1980a). Retention under changed-reward conditions of persistence learned by infant rats. *Developmental Psychobiology*, 13, 469-480.
- Chen, J.-S., & Amsel, A. (1980b). Learned persistence at 11-12 but not at 10-11 days in infant rats. *Developmental Psychobiology*, 13, 481-491.
- Chen, J.-S., Gross, K., & Amsel, A. (1981). Ontogeny of successive negative contrast and its dissociation from other paradoxical reward effects in preweanling rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 95, 146-159.
- Christensen, C.,U. (1974). Adaptations in the water economy of some anuran Amphibia. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 47A, 1035-1049.
- Chronister, R. B., & White, L. E., Jr. (1975). Fiberarchitecture of the hippocampal formation: Anatomy, projections, and structural significance. In "The hippocampus. Vol. 1: Structure and development" (R. L. Isaacson & K. H. Pribram, eds.), pp. 9-39. Plenum, New York.
- Claussen, D. L. (1974). Urinary bladder water reserves in the terrestrial toad, *Bufo fowleri*, and the acuatic frog, *Rana clamitans*. *Herpetologica*, 30, 360-365.
- Contestabile, A., Bissoli, R., & Niso, R. (1990). Regional distribution of neurotransmitter-related markers: A quantitative microchemical approach to the study of telencephalic evolution. In "The forebrain in non-mammals. New aspects of structure and development" (W. K. Schwerdtfeger & P. Germroth, eds.), pp. 183-196. Springer-Verlag, Berlin.
- Cotman, C. W., Taylor, D., & Lynch, G. (1973). Ultrastructural changes in synapses in the dentate gyrus of the rat during development. *Brain Research*, 63, 205-213.
- Couvillon, P. A., & Bitterman, M. E. (1985a). Effect of experience with a preferred food on consummatory responding for a less preferred food in goldfish. *Animal Learning and Behavior*, 13, 433-438.
- Couvillon, P. A., & Bitterman, M. E. (1985b). Analysis of choice in honeybees. *Animal Learning and Behavior*, 13, 246-252.
- Couvillon, P. A., Brandon, S. E., Woodard, W. T., & Bitterman, M. E. (1980). Performance of pigeons in patterned sequences of rewarded and nonrewarded trials. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 6, 137-154.
- Cowles, J. T., & Nissen, H. W. (1937). Reward-expectancy in delayed responses of chimpanzees. *Journal of Comparative Psychology*, 24, 345-358.
- Crespi, L. P. (1942). Quantitative variation of incentive and performance in the white rat. *American Journal of Psychology*, 55, 467-517.
- Daly, H. B. (1991). Changes in learning about aversive nonreward accounts for ontogeny of paradoxical appetitive reward effects in the rat pup: A mathematical model (DMOD) integrates results. *Psychological Bulletin*, 109, 325-339.
- Daly, H. B., & Daly, J. T. (1982). A mathematical model of reward and aversive nonreward: Its application in over 30 learning situations. *Journal of Experimental Psychology: General*, 111, 441-480.
- Dantzer, R., Arnove, M., & Mormede, P. (1980). Effects of frustration on behaviour and plasma corticosteroid level in pigs. *Physiology and Behavior*, 24, 1-4.

- DeSousa, R. C., & Grosso, A. (1981). The mode of action of vasopressin: membrane microstructure and biological transport. *Journal de Physiologie (Paris)*, 77, 643-669.
- Devenport, L. D. (1984). Extinction-induced spatial dispersion in the radial arm maze: Arrest by ethanol. *Behavioral Neuroscience*, 98, 979-985.
- Dole, J. (1967). The role of substrate moisture and dew in the water economy of the leopard frog, *Rana pipiens*. *Copeia*, 1967, 141-149.
- Duellman, W. E., & Trueb, L. (1986). *Biology of amphibians*. McGraw-Hill, New York.
- Ebbesson, S. O. E. (1980). *Comparative neurology of the telencephalon*. Plenum, New York.
- Eisenberger, R. (1992). Learned industriousness. *Psychological Review*, 99, 248-267.
- Elliott, M. H. (1928). The effect of change of reward on the maze performance of rats. In "Psychology" No. 4, pp. 19-30. University of California Publications, CA.
- Estes, W. K. (1950). Toward a statistical theory of learning. *Psychological Review*, 57, 94-107.
- Estes, R., & Reig, O. A. (1973). The early fossil record of frogs. A review of the evidence. In "Evolutionary biology of the anurans" (J. L. Vial, ed.), pp. 11-30. University of Missouri Press, Columbia, MI.
- Feldon, J., & Gray, J. A. (1979). Effects of medial and lateral septal lesions on the partial reinforcement effect at one trial a day. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 31, 653-674.
- Feldon, J., & Gray, J. A. (1981a). The partial reinforcement extinction effect after treatment with chlordiazepoxide. *Psychopharmacology*, 73, 269-275.
- Feldon, J., & Gray, J. A. (1981b). The partial reinforcement extinction effect: Influence of chlordiazepoxide in septal lesioned rats. *Psychopharmacology*, 74, 280-289.
- Feldon, J., Guillamon, A., Gray, J. A., DeWit, H., & McNaughton, N. (1979). Sodium amylobarbitone and responses to nonreward. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 31, 19-50.
- Feldon, J., Rawlins, J. N. P., & Gray, J. A. (1985). Fornix-fimbria section and the partial reinforcement extinction effect. *Experimental Brain Research*, 58, 435-439.
- Flaherty, C. F. (1990). Effect of ansiolytics and antidepressants on extinction and negative contrast. *Pharmacology and Therapeutics*, 46, 309-320.
- Flaherty, C. F., & Driscoll, C. (1980). Amobarbital sodium reduces successive gustatory contrast. *Psychopharmacology*, 69, 161-162.
- Flaherty, C. F., Capobianco, S., & Hamilton, L. W. (1973). Effects of septal lesions on retention of negative contrast. *Physiology and Behavior*, 11, 625-631.
- Flaherty, C. F., Lombardi, B. R., Wrightson, J., & Deptula, D. (1980). Conditions under which chlordiazepoxide influences successive gustatory contrast. *Psychopharmacology*, 67, 269-277.
- Flaherty, C. F., Becker, H. C., & Driscoll, C. (1982). Conditions under which amobarbital sodium influences consummatory contrast. *Physiological Psychology*, 10, 122-128.
- Flaherty, C. F., Becker, H. C., & Pohorecky, L. (1985). Correlation of corticosterone elevation and negative contrast varies as a function of postshift day. *Animal Learning and Behavior*, 13, 309-314.

- Flaherty, C. F., Grigson, P. S., & Lind, S. (1990). Chlordiazepoxide and the moderation of the initial response to reward reduction. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 42B, 87-105.
- Flaherty, C. F., Grigson, P. S., & Rowan, G. A. (1986). Chlordiazepoxide and the determinants of contrast. *Animal Learning and Behavior*, 14, 315-321.
- Franchina, J. J., & Brown, T. S. (1971). Reward magnitude shift effects in rats with hippocampal lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 76, 365-370.
- Garland, H. O., & Henderson, I. W. (1975). Influence of environmental salinity on renal and adrenocortical function in the toad, *Bufo marinus*. *General and Comparative Endocrinology*, 27, 136-143.
- Gehlbach, F. R., Kimmel, J. R., & Seems, W. A. (1969). Aggregations and body water relations in tiger salamanders (*Ambystoma tigrinum*) from the Gran Canyon rims, Arizona. *Physiological Zoology*, 42, 173-182.
- Goldman, L., Coover, G. D., & Levine, S. (1973). Bidirectional effects of reinforcement shifts on pituitary adrenal activity. *Physiology and Behavior*, 10, 209-214.
- Goldstein, S. R., & Hall, D. (1990). Variable ratio control of the spitting response in the archer fish (*Toxotes jaculator*). *Journal of Comparative Psychology*, 104, 373-376.
- Gonzalez, R. C., & Bitterman, M. E. (1962). A further study of partial reinforcement in the turtle. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 14, 109-112.
- Gonzalez, R. C., & Bitterman, M. E. (1967). Partial reinforcement effect in goldfish as a function of amount of reward. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 64, 163-167.
- Gonzalez, R. C., & Bitterman, M. E. (1969). Spaced-trials partial reinforcement effect as a function of contrast. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 67, 94-103.
- Gonzalez, R. C., Behrend, E. R., & Bitterman, M. E. (1965). Partial reinforcement in the fish: Experiments with spaced trials and partial delay. *American Journal of Psychology*, 78, 198-207.
- Gonzalez, R. C., Holmes, N. K., & Bitterman, M. E. (1967). Resistance to extinction in the goldfish as a function of frequency and amount of reward. *American Journal of Psychology*, 80, 269-275.
- Gonzalez, R. C., Potts, A., Pitcoff, K., & Bitterman, M. E. (1972). Runway performance of goldfish as a function of complete and incomplete reduction in amount of reward. *Psychonomic Science*, 27, 305-307.
- Graf, C. L. (1972). Spaced-trial partial reward in the lizard. *Psychonomic Science*, 27, 153-154.
- Gray, J. A. (1969). Sodium amobarbital and effects of frustrative nonreward. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 69, 55-64.
- Gray, J. A. (1977). Drug effects on fear and frustration: possible limbic site of action of minor tranquilizers. In "Handbook of Psychopharmacology. Vol. 8: Drugs, Neurotransmitters and Behavior" (L. L. Iversen, S. D. Iversen and S. H. Snyder, eds.), pp. 433-529. Plenum, New York.
- Gray, J. A. (1987). *The psychology of fear and stress*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, p. 314.

- Gray, J. A., & Dudderidge, H. (1971). Sodium amylobarbitone, the partial reinforcement extinction effect and the frustration effect in the double runway. *Neuropharmacology*, 10, 217-222.
- Gray, J. A., & McNaughton, N. (1983). Comparison between the behavioural effects of septal and hippocampal lesions: A review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 7, 119-188.
- Gray, J. A., Feldon, J., Rawlins, J. N., Owens, S., & McNaughton, N. (1978). The role of the septo-hippocampal system and its noradrenergic afferents in behavioral responses to nonreward. In "Functions of the Septo-Hippocampal System" (Ciba Found. Symp. 58), pp. 275-300. Elsevier, Amsterdam.
- Guerrero-Figueroa, R., Gallant, D. M., Guerrero-Figueroa, C., & Gallant, J. (1973). Electrophysiological analysis of the action of four benzodiazepine derivatives on the central nervous system. In "The Benzodiazepines" (S. Garattini, E. Mussini, & L. O. Randall, eds.), pp. 489-511. Raven, New York.
- Gurowitz, E. M., Rosen, A. J., & Tessel, R. E. (1970). Incentive shift performance in cingulectomized rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 70, 476-481.
- Heatwole, H., Torres, F., Austin, S. B. de, & Heatwole, A. (1969). Studies on anuran water balance - I. Dynamics of evaporative water loss in the coqui, *Eleutherodactylus portoricensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 28, 245-269.
- Hoffman, H. H. (1963). The olfactory bulb, accessory olfactory bulb, and hemisphere of some anurans. *Journal of Comparative Neurology*, 120, 317-368.
- Hoffman, H. H. (1967). The hippocampal and septal formations in anurans. In "Evolution of the forebrain" (R. Hassler & H. Stephan, eds.), pp. 61-72. Plenum, New York.
- Hollis, K. L. (1982). Pavlovian conditioning of signal-centered action patterns and autonomic behavior: A biological analysis of function. *Advances in the Study of Behavior*, 12, 1-64.
- Hull, C. L. (1943). *Principles of Behavior*. Appleton-Century-Crofts, New York.
- Hull, C. L. (1952). *A Behavior System*. Yale University Press, New Haven, CT.
- Hulse, S. H., Jr. (1958). Amount and percentage of reinforcement and duration of goal confinement in conditioning and extinction. *Journal of Experimental Psychology*, 56, 48-57.
- Humphreys, L. G. (1939). The effect of random alternation of reinforcement on the acquisition and extinction of conditioned eyelid reactions. *Journal of Experimental Psychology*, 25, 141-158.
- Ishida, M., & Kitamura, G. (1988). Partial reinforcement learning and its extinction in the turtle, *Geoclemys reevesii*. *Memoirs of Osaka Kyoiku University*, 37, 29-34.
- Ishida, M., & Papini, M. R. (1993). Spaced training and instrumental performance in the turtle (*Geoclemys reevesii*). *Memoirs of Osaka Kyoiku University*, 41, 153-161.
- Jarrard, L. E., & Isaacson, R. L. (1965). Hippocampal ablation in rats: Effects of intertrial interval. *Nature*, 207, 109-110.
- Jarrard, L. E., Isaacson, R. L., & Wickelgren, W. O. (1964). Effects of hippocampal ablation and intertrial interval on acquisition and extinction of a runway response. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 57, 442-445.
- Johnson, C. R. (1969). Aggregation as a means of water conservation in juvenile *Lymnodynastes* from Australia. *Herpetologica*, 25, 275-276.

- Kobre, K. R., & Lipsitt, L. P. (1972). A negative contrast effect in newborns. *Journal of Experimental Child Psychology*, 14, 81-91.
- Kollros, J. J. (1981). Transitions in the nervous system during amphibian metamorphosis. In "Metamorphosis: a Problem in Developmental Biology" (L. I. Gilbert & E. Frieden, eds.), pp. 445-459. Plenum Press, New York.
- Kuhlenbeck, H. (1977). Derivatives of the prosencephalon. In "The central nervous system of vertebrates. Vol. 5". Karger, Basel, Switzerland.
- Lascano, E., Segura, E. T., & Ferrario, J. A. (1971). Organización anatómica del encéfalo del *Bufo arenarum* Hensel. *Revista de la Sociedad Argentina de Biología*, 47, 70-88.
- Lawrence, D. H., & Festinger, L. (1962). Deterrents and reinforcement. The psychology of insufficient reward. Stanford University Press, Stanford, CA.
- Letz, R., Burdette, D. R., Gregg, B., Kittrel, M. E., & Amsel, A. (1978). Evidence for a transitional period for the development of persistence in infant rats. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 92, 856-866.
- Llinás, R., & Precht, W. (1976). Frog Neurobiology. A Handbook (R. Llinas & W. Precht, eds.). Springer-Verlag, Berlin.
- Lobaugh, N. J.; Bootin, M.; Amsel, A. (1985). Sparring of patterned alternation but not partial reinforcement effect after infant and adult hippocampal lesions in the rat. *Behavioral Neuroscience*, 99, 46-59.
- Longo, N., & Bitterman, M. E. (1960). The effect of partial reinforcement with spaced practice on resistance to extinction in the fish. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 53, 169-172.
- Lowes, G., & Bitterman, M. E. (1967). Reward and learning in the goldfish. *Science*, 157, 455-457.
- Lykely, A., Little, L., & Mackintosh, N. J. (1971). Extinction as a function of magnitude and percentage of food or sucrose reward. *Canadian Journal of Psychology*, 25, 130-137.
- Mackintosh, N. J. (1974). *The Psychology of Animal Learning*. Academic Press, New York.
- Macphail, E. M. (1982). *Brain and Intelligence in Vertebrates*. Clarendon Press, Oxford.
- Macphail, E. M. (1987). The comparative psychology of intelligence. *Behavioral and Brain Sciences*, 10, 645-695.
- Mayer, N. (1969). Adaptation de *Rana esculenta* à des milieux variés. Etude speciale de l'excretion renale de l'eau et des electrolytes au cours des changements de milieux. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 29, 27-50.
- McCain, G. (1966). Partial reinforcement effects following a small number of acquisition trials. *Psychonomic Monograph Supplements*, 1, 251-270.
- McClanahan, L. L. (1972). Changes in body fluids of burrowed spadefoot toads as a function of water potential. *Copeia*, 1972, 209-216.
- McNaughton, N. (1984). Effects of anxiolytic drugs on the partial reinforcement extinction effect in runway and Skinner box. *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 36B, 319-330.
- Murillo, N. R., Dierks, J. K., & Capaldi, E. J. (1961). Performance of the turtle, *Pseudemys scripta troostii*, in a partial reinforcement situation. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 54, 204-206.
- Northcutt, R. G. (1974). Some histochemical observations on the telencephalon of the bullfrog, *Rana catesbeiana* Shaw. *Journal of Comparative Neurology*, 157, 379-390.

- Northcutt, R. G., & Kicliter, E. (1980). Organization of the amphibian telencephalon. In "Comparative neurology of the telencephalon" (S. O. E. Ebbesson, ed.), pp. 203-255. Plenum, New York.
- Northcutt, R. G., & Ronan, M. (1992). Afferent and efferent connections of the bullfrog medial pallium. *Brain, Behavior and Evolution*, 40, 1-16.
- Owen, S., Boarder, M. R., Gray, J. A., & Fillenz, M. (1982). Acquisition and extinction of continuously and partially reinforced running in rats with lesions of the dorsal noradrenergic bundle. *Behavioral Brain Research*, 5, 11-41.
- Panchen, A. L., & Smithson, T. R. (1988). The relationship of the earliest tetrapods. In "The phylogeny and classification of the tetrapods" (M. J. Benton, ed.) Vol. 1, pp. 1-32. Clarendon Press, Oxford.
- Papini, M. R. (1987). The quest for divergent mechanisms in vertebrate learning. *Behavioral and Brain Sciences*, 10, 676-677.
- Papini, M. R., & Bitterman, M. E. (1991). Appetitive conditioning in *Octopus cyanea*. *Journal of Comparative Psychology*, 105, 107-114.
- Papini, M. R., & Ishida, M. (1994). Role of magnitude of reinforcement in spaced-trials instrumental learning in turtles (*Geoclemys reevesii*). *Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 47B (1), 1-13.
- Papini, M. R., Mustaca, A. E., & Bitterman, M. E. (1988). Successive negative contrast in the consummatory responding of didelphid marsupials. *Animal Learning and Behavior*, 16, 53-57.
- Pert, A., & Bitterman, M. E. (1970). Reward and learning in the turtle. *Learning and Motivation*, 1, 121-128.
- Pert, A., & Gonzalez, R. C. (1974). Behavior of the turtle (*Chrysemys picta picta*) in simultaneous, successive, and behavioral contrast situations. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 87, 526-538.
- Pough, F. H., Taigen, T. L., Stewart, M. M., & Brussard, P. F. (1983). Behavioral modification of evaporative water loss by a Puerto Rican frog. *Ecology*, 64, 244-252.
- Ratliff, R. G., & Ratliff, A. R. (1971). Runway acquisition and extinction as a joint function of magnitude or reward and percentage of rewarded acquisition trials. *Learning and Motivation*, 2, 289-295.
- Rawlins, J. N. P., Feldon, J., & Gray, J. A. (1980). The effects of hippocampectomy and of fimbria section upon the partial reinforcement extinction effect in rats. *Experimental Brain Research*, 38, 273-283.
- Rawlins, J. N. P.; Feldon, J.; Ursin, H.; Gray, J. A. (1985). Resistance to extinction after schedules of partial delay or partial reinforcement in rats with hippocampal lesions. *Experimental Brain Research*, 59, 273-281.
- Ray, C. (1958). Vital limits and rates of desiccation in salamanders. *Ecology*, 39, 75-83.
- Reboreda, J. C., & Segura, E. T. (1984). Electrolyte sensitivity of the skin in the toad *Bufo arenarum* Hensel. *Acta Physiologica Latinoamericana*, 34, 37-43.
- Reboreda, J. C., & Segura, E. T. (1989). Water balance effects of systemic and intracerebroventricular administration of angiotensin II in the toad *Bufo arenarum*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 93A, 505-509.
- Reboreda, J. C., & Segura, E. T. (1992). Control endócrino y nervioso del balance acuoso en el anfibio anuro *Bufo arenarum*. *Acta Zoológica Lilloana*, 41, 195-205.

- Reboreda, J. C., Muzio, R. N., Viñas, M. C., & Segura, E. T. (1991). β -adrenergic control of the water permeability of the skin during rehydration in the toad *Bufo arenarum*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 100C, 433-437.
- Rescorla, R. A., & Wagner, A. R. (1972). A theory of Pavlovian conditioning: Variations in the effectiveness of reinforcement and nonreinforcement. In "Classical Conditioning II: Current Research and Theory" (A. H. Black & W. F. Prokasy, eds.), pp. 64-99. Appleton, New York.
- Roberts, W. A., Bullock, D. H., & Bitterman, M. E. (1963). Resistance to extinction in the pigeon after partially reinforced instrumental training under discrete-trials conditions. *American Journal of Psychology*, 76, 353-365.
- Rosen, A. J., & Tessel, R. E. (1970). Chlorpromazine, chlordiazepoxide and incentive-shift performance in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 72, 257-262.
- Rosen, A. J., Glass, D. H., & Ison, J. R. (1967). Amobarbital sodium and instrumental performance following reward reduction. *Psychonomic Science*, 9, 129-130.
- Roth, J. J. (1973). Vascular supply to the ventral pelvic region of anurans as related to water balance. *Journal of Morphology*, 140, 443-460.
- Ruibal, R. (1962). The adaptative value of bladder water in the toad, *Bufo cognatus*. *Physiological Zoology*, 35, 218-223.
- Ruibal, R., Tevis, L., Jr., & Roig, V. (1969). The terrestrial ecology of the spadefoot toad *Scaphiopus hammondi*. *Copeia*, 1969, 571-584.
- Salibian, A. (1977). Transporte de cloro y de sodio a través de la piel *in situ* de anfibios sudamericanos. *Boletín del Museo Nacional de Historia Natural de Chile*, 35, 121-163.
- Sawyer, W. H., & Pang, P. K. T. (1975). Endocrine adaptation to osmotic requirements of the environment. Endocrine factors in osmoregulation by lungfishes and amphibians. *General and Comparative Endocrinology*, 25, 224-229.
- Schmajuk, N. A., Segura, E. T., & Reboreda, J. C. (1980). Appetitive conditioning and discriminatory learning in toads. *Behavioral and Neural Biology*, 28, 392-397.
- Schmajuk, N. A., Segura, E. T., & Ruidiaz, A. C. (1981). Reward downshift in the toad. *Behavioral and Neural Biology*, 33, 519-523.
- Schmaltz, L. W., & Isaacson, R. L. (1967). Effect of bilateral hippocampal destruction on the acquisition and extinction of an operant response. *Physiology and Behavior*, 2, 291-298.
- Schutz, S. L., & Bitterman, M. E. (1969). Spaced trials partial reinforcement and resistance to extinction in the goldfish. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 68, 126-128.
- Schwartzbaum, J. S. (1960). Changes in reinforcing properties of stimuli following ablation of the amygdaloid complex in monkeys. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 53, 388-395.
- Schwerdtfeger, W. K., & Germroth, P. (1990). Archicortical and periarthicortical areas in the vertebrate forebrain. In "The forebrain in non-mammals. New aspects of structure and development" (W. K. Schwerdtfeger & P. Germroth, eds.), pp. 197-212. Springer-Verlag, Berlin.
- Segura, E. T., Bandsholm, U. C., Bronstein, A., & Woscoboinik, D. (1982a). Role of the CNS in the control of the water economy of the toad *Bufo arenarum* Hensel. I: Effects of handling, brain lesions, anesthesia and reversible coma upon water

- uptake, urine production and overall water balance. *Journal of Comparative Physiology*, 146, 95-100.
- Segura, E. T., Bandsholm, U. C., & Bronstein, A. (1982b). Role of the CNS in the control of the water economy of the toad *Bufo arenarum* Hensel. II: Adrenergic control of water uptake across the skin. *Journal of Comparative Physiology*, 146, 101-106.
- Segura E. T., Reboreda, J. C., Skorka, A., Cuello, M. E., & Petriella, S. (1984). Role of the CNS in the control of the water economy of the toad *Bufo arenarum* Hensel. III: Skin permeability increases to raised osmotic pressure of the external "milieu". *Journal of Comparative Physiology*, 154B, 573-578.
- Segura, E. T., Cuello, M. E., Petriella, S., & Orti, G. (1987). Antidiuretic responses to osmotic, ionic or volume stimulation of the brain in the unanesthetized toad, *Bufo arenarum* Hensel. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 87A, 107-110.
- Seymour, R. S., & Lee, A. K. (1979). Physiological adaptations of anuran amphibians to aridity: Australian prospects. *Australian Zoology*, 18, 53-65.
- Shanab, M. E., Melrose, S., & Young, T. (1975). The partial reinforcement effect sustained through blocks of continuous water reinforcement. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 6, 261-264.
- Sheffield, V. F. (1949). Extinction as a function of partial reinforcement and distribution of practice. *Journal of Experimental Psychology*, 39, 511-526.
- Shoemaker, V. H. (1964). The effects of dehydration on electrolyte concentrations in a toad, *Bufo marinus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 13, 261-271.
- Shoemaker, V. H., & Nagy, K. A. (1977). Osmoregulation in amphibians and reptiles. *Annual Review of Physiology*, 39, 449-471.
- Spight, T. M. (1967). The water economy of salamanders: exchange of water with soil. *Biological Bulletin*, 132, 126-132.
- Spivey, J. E. (1967). Resistance to extinction as a function of number of N-R transitions and percentage of reinforcement. *Journal of Experimental Psychology*, 75, 43-48.
- Stanton, M., & Amsel, A. (1980). Adjustment to reward reduction (but not negative contrast) in rats 11, 14, and 16 days of age. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 94, 446-458.
- Strickler-Shaw, S., & Taylor, D. H. (1991). Lead inhibits acquisition and retention learning in bullfrog tadpoles. *Neurotoxicology and Teratology*, 13, 167-173.
- Suboski, M. D. (1992). Releaser-induced recognition learning by amphibians and reptiles. *Animal Learning and Behavior*, 20, 63-82.
- Thompson, P. A., & Boice, R. (1975). Attempts to train frogs: Review and experiments. *Journal of Biological Psychology*, 17, 3-13.
- Thorndike, E. L. (1911). *Animal intelligence*. Macmillan, New York.
- Thorson, T. B. (1964). The partitioning of body water in Amphibia. *Physiological Zoology*, 37, 395-399.
- Tinklepaugh, O. (1928). An experimental study of representative factors in monkeys. *Journal of Comparative Psychology*, 8, 197-236.
- Tracy, C. R. (1976). A model of the dynamic exchanges of water and energy between a terrestrial amphibian and its environment. *Ecological Monographs*, 46, 293-326.
- Veeman, C. L., Crzan, D., Kern, H., Rickmann, M., Whale, P., & van Mier, P. (1989). *The anatomical substrate for telencephalic function*. Springer-Verlag, Berlin.

- Vogel, J. R., Mikulka, P. J., & Spear, N. E. (1968). Effects of shifts in sucrose and saccharine concentrations on licking behavior in the rat. *Journal of Comparative & Physiological Psychology*, 66, 661-666.
- Waalas, I. (1983). The hippocampus. In "Chemical neuroanatomy" (P. C. Emson, ed.), pp. 337-358. Raven Press, New York.
- Wagner, A. R. (1961). Effects of amount and percentage of reinforcement and number of acquisition trials on conditioning and extinction. *Journal of Experimental Psychology*, 62, 234-242.
- Weinstock, S. (1954). Resistance to extinction of a running response following partial reinforcement under widely spaced trials. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 47, 318-322.
- Weinstock, S. (1958). Acquisition and extinction of a partially reinforced running response at a 24-hour intertrial interval. *Journal of Experimental Psychology*, 56, 151-158.
- Whitear, M. (1955). Dermal nerve endings in *Rana* and *Bufo*. *Quarterly Journal of Microbiology Science*, 96, 343-349.
- Whitear, M. (1977). A functional comparison between the epidermis of fish and amphibians. *Symposium of the Zoological Society of London*, 39, 291-313.
- Wigal, T., & Amsel, A. (1990). Behavioral and neuroanatomical effects of prenatal, postnatal, or combined exposure to ethanol in weanling rats. *Behavioral Neuroscience*, 104, 116-126.
- Willner, P. J., & Crowe, R. (1977). Effect of chlordiazepoxide on the partial reinforcement extinction effect. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 7, 479-482.
- Wilson, W., Weiss, E. J., & Amsel, A. (1955). Two tests of the Sheffield hypothesis concerning resistance to extinction, partial reinforcement, and distribution of practice. *Journal of Experimental Psychology*, 50, 51-60.
- Winocur, G., & Mills, J. A. (1969). Hippocampus and septum in response inhibition. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 67, 352-357.
- Wise, L. M., & Gallagher, D. P. (1964). Partial reinforcement of a discriminative response in the turtle. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 57, 311-313.
- Wolfe, J. W., Lubar, J. F., & Ison, J. R. (1966). Effects of medial cortical lesions on appetitive instrumental conditioning. *Physiological Behavior*, 2, 239-244.