

Tesis de Posgrado

Mecanismos asociativos en el aprendizaje apetitivamente motivado del cangrejo *Chasmagnathus granulatus* : memoria del contexto

Hermitte, Gabriela

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:

Hermitte, Gabriela. (1995). Mecanismos asociativos en el aprendizaje apetitivamente motivado del cangrejo *Chasmagnathus granulatus* : memoria del contexto. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2793_Hermitte.pdf

Cita tipo Chicago:

Hermitte, Gabriela. "Mecanismos asociativos en el aprendizaje apetitivamente motivado del cangrejo *Chasmagnathus granulatus* : memoria del contexto". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1995.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_2793_Hermitte.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

**MECANISMOS ASOCIATIVOS EN EL
APRENDIZAJE APETITIVAMENTE
MOTIVADO DEL CANGREJO
Chasmagnathus granulatus.
MEMORIA DEL CONTEXTO.**

Autora : Gabriela Hermitte

Director: Dr. Héctor Maldonado

LABORATORIO DE FISILOGIA DEL COMPORTAMIENTO ANIMAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Tesis para optar al título de Doctora en Ciencias Biológicas

AGRADECIMIENTOS:

Quiero agradecer a todos los que de una u otra forma contribuyeron a la realización de esta tesis.

Al Dr. Héctor Maldonado por el interés puesto en este trabajo y por su ejemplo de entusiasmo permanente.

A Beatriz Dimant por sus valiosos consejos, inteligentes observaciones y aliento.

A Angel Vidal por su solidaridad y amistad.

A Daniel Tomsic y Arturo Romano con quienes he compartido proyectos de trabajo y momentos hermosos.

A quienes colaboran decididamente para hacer más grato lo cotidiano: Eugenia Pedreira, Miriam Saraco, Miguel Perez, Patricia Pereyra, Juan Aggio, Alejandro de Lorenzi, Fernando Locatelli y María Eugenia Florio.

En especial a mi familia por su comprensión y colaboración.

A mi madre, mi hermana, y Rafael, por su apoyo y afecto.

A Silvia, Diana, María y Mónica, por el aliento.

A Piru que siempre estuvo al pie del cañón.

A Pilar que es un ejemplo de vida.

INDICE GENERAL

CAPITULO 1. INTRODUCCION

- a) El análisis del comportamiento
- b) Condicionamiento
- c) Habituaación.
- d) Exploración y habituaación de la actividad exploratoria.
- e) Los crustáceos y el aprendizaje.
- f) Aprendizaje en el habitat natural y en el laboratorio.
- g) Características del sistema nervioso.
- h) El cangrejo *Chasmagnathus granulatus*.
- i) Objetivos.

CAPITULO 2. MATERIALES Y METODOS

Animales.

Aparatos: la caja de elección y el actómetro.

Evaluación de la retención. Estadística.

CAPITULO 3. CONDICIONAMIENTO INSTRUMENTAL O CLASICO.

Introducción. Evaluación de la contingencia determinante en el aprendizaje apetitivo.

Experimento 1

Resultados y Discusión

Experimento 2

Resultados y Discusión

Conclusión

CAPITULO 4. EL ESTIMULO INCONDICIONADO.

Introducción. Efecto directo del alimento sobre la actividad exploratoria.

Efecto activador del alimento (metabólico)

Resultados y Discusión

Efecto activador del alimento (ritmo circadiano)

Resultados y Discusión

**CAPITULO 5. EL APRENDIZAJE ALIMENTARIO CONTINGENTE CON
OTROS PROCESOS MNESICOS. CONTIGÜIDAD.**

Introducción. Procesos mnésicos contingentes.

Efecto del refuerzo inmediato sobre la habituación.

Experimento 1

Experimento 2

Resultados y Discusión

Efecto del refuerzo diferido sobre la habituación.

Experimento 3

Experimento 4

Experimento 5

Resultados y Discusión

Discusión General

CAPITULO 6. EL ESTIMULO CONDICIONADO.

Introducción. La memoria del contexto.

Experimento 1

Resultados y Discusión

Experimento 2

Resultados y Discusión

Experimento 3

Resultados y Discusión

Experimento 4

Resultados y Discusión

Experimento 5

Resultados y Discusión

Discusión General

CAPITULO 7. LA TRANSFERENCIA INTEROCULAR EN *CHASMAGNATHUS*.

ESTUDIO DE LA LOCALIZACION DE LA MEMORIA.

Introducción. La transferencia interocular.

Experimento 1

Resultados y Discusión

Experimento 2

Resultados y Discusión

Experimento 3

Resultados y Discusión

Experimento 4

Resultados y Discusión

Experimento 5

Resultados y Discusión

Discusión General

CAPITULO 8. CONCLUSIONES GENERALES.

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN

a) *El análisis del comportamiento.*

Nos interrogamos acerca de los mecanismos que explican el comportamiento. Como sabemos, la respuesta no se halla en un sólo nivel, ni es uno el mecanismo. Según Peeke y Petrinovich (1984) "ningún nivel es el nivel y el resultado obtenido en cada uno debería utilizarse para desarrollar una visión causal completa de la naturaleza y la función de los cambios en la respuesta comportamental". Para Horridge (1978): "el comportamiento se puede explicar en términos de las causas materiales precedentes y próximas o mediante abstracciones no observables. La historia de la ciencia moderna es la historia de las causas materiales reemplazando a las abstracciones. Ocurre sin embargo que cuando las causas materiales son examinadas desde más cerca, éstas también están plagadas de abstracciones". En otro nivel de análisis uno puede preguntarse acerca de las causas últimas y pretender encontrar una explicación en términos de la función. Un sistema está diseñado de determinada manera para cumplir un objetivo, algo perfectamente aceptable desde que Darwin dilucidó la selección natural como la base del diseño con un propósito.

Posiblemente una explicación mecanística sea un prerrequisito para cualquier otra explicación posterior, pero el problema reside en cómo ir más allá de este enfoque que podría considerarse reduccionista, en el estudio del comportamiento.

La investigación centrada en el estudio de los componentes (celulares y moleculares) puede resultar esclarecedora y es el camino adecuado. El sistema nervioso de los **invertebrados** es particularmente accesible para este tipo de análisis. Con sus neuronas identificables y circuitos relativamente más simples, revela principios de interacción que son **seminales** para el entendimiento de sistemas más complejos.

Sin embargo, el análisis mecanístico, aún con una descripción de todas las interacciones causales no sería suficiente por varias razones. No toda la actividad neuronal es igualmente **relevante**. Aquella que está estrechamente relacionada con el **comportamiento**, puede ser modelada por la selección natural de manera más directa. Por otra parte, la descripción de la interacción de los componentes no involucra necesariamente una explicación, ya que si bien supone que los componentes actúan unos sobre otros de la misma manera en que interactúan en cualquier mecanismo, no alcanza a explicar la estructura y la función del sistema. El ingeniero que ensambla un motor tiene en mente la función del mecanismo que está armando; de la misma manera que la selección natural actuando durante generaciones ha asegurado que el sistema nervioso realice una función.

Por lo tanto una comprensión más profunda de la estructura y de la función del sistema nervioso recién será posible cuando el análisis mecanístico tenga en cuenta que todas las partes del sistema son como son porque han sido optimizadas para una función particular o para más de una función.

Tanto a nivel molecular como celular, los detalles de la

física y la bioquímica de los componentes se pueden relacionar más fácilmente con la función, por lo que resulta relativamente sencillo reducir los mecanismos a componentes en estos niveles. Los receptores auditivos o visuales constituyen buenos ejemplos en términos de las propiedades de la luz y el sonido. Forma y función son optimizados juntos.

La teleología mecanística relaciona los mecanismos con los objetivos suponiendo que la evolución adaptativa, actuando por largos períodos, permitió la evolución de estructuras y propiedades fisiológicas eficaces para funciones particulares. Suponiendo esto, los principios de la física y la química pueden ayudar a explicar la estructura y la función porque éstas deberían cumplir con los requerimientos cuantitativos de un sistema físico optimizado. Si bien este análisis es común en biología, no es posible aún utilizarlo a nivel del sistema nervioso. Cuando se tenga suficiente detalle tanto sobre la parte funcionalmente significativa del *input* como sobre la parte funcionalmente relevante del *output* (el comportamiento), debería ser posible aplicar principios de optimización y las leyes de la física al diseño del sistema en su conjunto.

En este marco teórico pretendemos encuadrar nuestro trabajo y nos parece útil reflexionar sobre estos temas tratando de definir en que nivel se sitúan las preguntas que satisfacen nuestra curiosidad y a que tipo de interrogantes podemos dar respuesta. En esta tesis no nos hemos preguntado acerca de las causas últimas que pueden favorecer la supervivencia, sino que se trata de un análisis de los mecanismos que determinan el comportamiento. Nos hemos

concentrado en los cambios en la respuesta comportamental como consecuencia de modificaciones en el medio ambiente próximo al animal.

b) El Condicionamiento

La teoría del condicionamiento pretende establecer cuales son las relaciones entre los eventos del ambiente y el animal que determinan el comportamiento. Skinner (1938) fue quien primero distinguió entre los dos tipos de condicionamiento señalando que podían ser caracterizados de la siguiente manera: a) la esencia del condicionamiento Pavloviano es la sustitución de un estímulo por otro o su señalización. Prepara al organismo mediante el desencadenamiento de una respuesta (RC), antes que el estímulo original haya comenzado a actuar, y lo hace permitiendo que cualquier otro (estímulo condicionado: EC) que ha incidentalmente acompañado o anticipado al estímulo original (estímulo incondicionado: EI), actúe en su lugar. b) En el segundo tipo, el organismo selecciona de un gran repertorio de movimientos aquellos cuya repetición es importante para producir ciertos estímulos. La respuesta condicionada (RC) no prepara al animal para el estímulo reforzante, lo produce.

Para Skinner el fenómeno pavloviano es relativamente poco importante y restringido a una pequeña fracción del repertorio potencial de un organismo, mientras que la función del condicionamiento es adaptar a los animales a su ambiente, asegurando que las acciones beneficiosas sean repetidas y las perjudiciales evitadas. Sin embargo, los experimentos cruciales

de Hearst y Jenkins (1974) pusieron de manifiesto mediante el fenómeno de *autoshaping* que, las palomas aprendían con total independencia de su comportamiento a picotear una tecla que era iluminada poco antes de administrar comida. Cuando la tecla era colocada en un lugar diametralmente opuesto al de la comida, los animales se acercaban a la tecla y la picoteaban aún cuando estas respuestas los alejaran del recipiente de comida. La implicancia es que los movimientos en el espacio de un animal hacia un estímulo o lugares asociados con eventos apetitivos, como la entrega de comida, pueden ser modificados por procedimientos pavlovianos.

Una visión diferente del condicionamiento fue presentada por Tolman: el condicionamiento puede ser visto no como la adquisición de nuevos reflejos, sino como la adquisición de conocimiento acerca del ambiente. Desde esta perspectiva, los animales no aprenden a salivar o apretar teclas sino que aprenden acerca de relaciones entre eventos en su ambiente. Por ejemplo, el sonido de un tono **señaliza** un incremento en la probabilidad de recibir comida, o una acción particular **determina** la aparición de un pellet de alimento. Esta visión amplía el rango del condicionamiento, incluyendo otras relaciones entre eventos, además de simplemente aparearlos. Por ejemplo, un estímulo puede señalar la presencia de comida, como también su ausencia. O sea, en un caso la ocurrencia del estímulo y el refuerzo pueden estar correlacionados positivamente y en otro negativamente y se trata entonces de especificar la naturaleza de estas correlaciones positivas y negativas. Los fenómenos de aprendizaje se refieren a la

habilidad para detectar regularidades temporales o espaciales en la ocurrencia de eventos del ambiente y convertirlas en información que pueda ser luego utilizada en el ajuste del comportamiento (Hollis, 1982). Sin embargo, esta ajustada correlación entre el conocimiento y la realidad implica una brecha considerable entre el conocimiento y el desempeño. El cambio en el comportamiento es la única evidencia de que el condicionamiento tuvo lugar y probablemente deberíamos considerarlo solo un índice, quizás imperfecto, que el animal ha aprendido acerca de las relaciones entre los eventos que el experimentador manipuló.

Fue Tolman (1932, 1948, 1949) quien primero enunció la necesidad de distinguir entre aprendizaje y desempeño y llevó a cabo experimentos para probar que lo que un animal aprende no se manifiesta inmediatamente en su conducta. Los experimentos clásicos son los de **aprendizaje latente** (Tolman y Honzik 1930). Un grupo de ratas hambreadas entrenadas en recorrer un laberinto sin alimento, aprendían sin embargo el camino correcto hacia el refuerzo, evidenciando que el aprendizaje no siempre se traduce en comportamiento a menos que se introduzca el incentivo apropiado.

Dos conceptos son considerados clave para el condicionamiento según Rescorla (1988): la **contigüidad**, y la **saliencia**. En relación a la contigüidad, la idea básica establecida tempranamente por Warren (1921), es que dos eventos próximos en el tiempo es más probable que resulten asociados. Sin embargo, la estricta simultaneidad generalmente no produce aprendizaje asociativo, aunque sí lo produce una leve

asincronía temporal. Luego de un exhaustivo estudio sobre la contigüidad en diferentes preparaciones, Mackintosh (1983) concluye que a pesar de amplias diferencias en procedimiento, paradigmas y especies, los resultados comparten una relación funcional común. Los datos sugieren que no existe un intervalo temporal absoluto que produzca el mejor condicionamiento, lo que si se comparte es la forma general de la función, sugiriendo que puede tratarse de un fenómeno común.

Además de promover una asociación entre EI y EC, la contigüidad, da al EI la posibilidad de modular otros tipos de aprendizaje relacionados con el EC. Así por ejemplo, debido a su presentación repetida el EC puede habituarse, lo que se expresa como un decremento en la respuesta del animal frente al estímulo. Ahora bien, el período posterior a la presentación del estímulo es importante para el desarrollo de la habituación, pero eventos salientes que ocurran inmediatamente, pueden eliminar la habituación al estímulo (Wagner, 1978). Consecuentemente, la programación de un EI contiguo con un EC puede afectar la subsiguiente respuesta al EC porque la contigüidad modula el éxito de la habituación al estímulo. De hecho resulta muchas veces difícil separar esta modulación de la habituación, de la interacción con el proceso asociativo que une EC con EI. La contigüidad es un fenómeno complejo en sus efectos sobre el aprendizaje y no existe un intervalo común que optimice el condicionamiento. Además, la contigüidad puede tener efectos tanto asociativas como no asociativas (relativos a la habituación).

La saliencia de un estímulo hace referencia al hecho que

algunas modalidades sensoriales parecen entrar en asociación con más facilidad que otras. Esto es cierto tanto para el estímulo que sirve de señal como para aquél que sirve de consecuencia. A modo de ejemplo, podemos mencionar en relación al comportamiento de *Chasmagnathus*, la relevancia que para él tienen la comida y la visión. Esta conclusión no solo resulta de la simple observación tanto en su medio natural como en el laboratorio, sino de numerosos estudios que han demostrado el desarrollo y sofisticación del sistema visual de los Grapsidae (Waterman y Wiersma, 1963; Wiersma y Yamaguchi, 1966, 1967; Nishimoto y Herrnkind, 1978; Woodbury, 1986; Glantz, 1977; Nalbach, 1990).

La saliencia varía para distintas especies y puede ser modificada por la experiencia ya sea que el estímulo se presente sólo (habituación) o con otro estímulo (condicionamiento) que no sólo puede convertirlo en señal sino modificar su saliencia. Esta no es una propiedad absoluta e independiente del resto de elementos presentes. Algunas señales se relacionan mejor con cierto tipo de consecuencias. Ilustrativos son los experimentos de Garcia y Koelling (1966), donde si una rata experimenta un dolor externo (ej.: choque eléctrico) es más probable que asocie ese dolor con un antecedente auditivo o visual, que con un sabor. Por lo tanto, la condicionabilidad de un estímulo no sólo depende de su característica absoluta sino de lo que se usa para condicionarlo (Miller y Domjan, 1981). Estos hallazgos sugieren la presencia de sesgos preexistentes en una especie, que la hacen susceptible a cierto tipo de apareamiento de estímulos.

El condicionamiento fue históricamente descrito como un procedimiento por el cual un EI que regularmente evoca una RI transfiere esa respuesta a un EC, originalmente neutral, en virtud a la contigüidad. La visión moderna del condicionamiento como el mecanismo por el cual el organismo aprende relaciones entre eventos, preserva pocos aspectos de la descripción histórica. Así, se pueden formar asociaciones con EI que no evocan RI; puede asociarse un EI con un EC que desencadena su propia respuesta; y finalmente, la RC puede guardar poca relación con aquella que originalmente era evocada por el EI.

Problemas similares de aprendizaje pueden ser resueltos de diferente manera por diferentes especies. En efecto, sería simplista pensar que un único proceso asociativo es el que permite a todos los animales representar su ambiente. Sin embargo, cualquier mecanismo que posibilite esa representación está restringido por las propiedades del ambiente representado, lo que forzará a distintos mecanismos a compartir características generales.

En definitiva, el estudio de los procesos del aprendizaje y la memoria deben comenzar con el análisis comportamental, enfocado inicialmente en las relaciones entre los estímulos involucrados. Lo que la psicología del aprendizaje puede ofrecer es la herramienta conceptual, algunas teorías alternativas y cierta sofisticación metodológica para conducir ese análisis.

c) Teoría de la Habitación:

Thorpe definió en 1963 a la **habitación** como una "disminución relativamente permanente de la respuesta como resultado de una estimulación repetida que no implica recompensa o daño"; agregando que es específica del estímulo y no puede ser explicada por fatiga motora o adaptación sensorial.

Peeke (1984), la definió como "el decremento de la predisposición a responder ante un estímulo, como resultado de su presentación reiterada o constante; tal decremento es específico del estímulo original, por lo que la respuesta puede ser reinstalada por un estímulo diferente". Es decir, la habitación es definida como un decremento en la predisposición a responder y no por un decremento en la respuesta; ya que puede haber adquisición de la habitación durante el entrenamiento **aún cuando la respuesta no caiga o incluso sin respuesta**, debido a que el proceso depende fundamentalmente del estímulo (Peeke y Veno, 1976). Otro aspecto que se pone de manifiesto en esta definición se refiere a que la estimulación puede ser tanto iterativa como permanente.

El primer análisis de la habitación o "fatiga del reflejo" data de 1906 y fue hecho por Sherrington. Se centró en el arco reflejo y en la identificación de los cambios en la actividad neural. El poder de esta aproximación se puede constatar en los modernos trabajos de Kandel con la babosa marina *Aplysia* (Kandel, 1979a; Abrams y Kandel, 1988) y Krasne con la langosta de agua dulce (Krasne 1972; Krasne 1976; Krasne y Lee, 1988) que han permitido develar los mecanismos

sinápticos que estarían asociados con los cambios en la excitabilidad luego de la estimulación repetida.

Otra perspectiva alternativa es la de la teoría molar o integral (Sokolov, 1963; Konorski, 1967; Wagner, 1976). En ésta, el énfasis no está centrado en los procesos fisiológicos particulares. Son formulaciones abstractas en las cuales los mecanismos concretos sirven para registrar las **regularidades funcionales** que estarían contenidas en la plasticidad de ciertas tendencias estímulo-respuesta, a pesar de las diferencias en los mecanismos subyacentes. Probablemente la naturaleza ha resuelto el problema de permitir la no atención a los estímulos repetidos mediante diferentes mecanismos, pero con las mismas propiedades funcionales debido a que el problema es similar (Davis y File, 1984).

Originalmente, los estudios sobre habituación consideraron que el decremento de la respuesta solamente dependía de los parámetros del estímulo incondicionado (Groves y Thompson, 1970). Los únicos estímulos tenidos en cuenta eran los correspondientes a las claves sensoriales del EI, por ejemplo un tono, un *flash* de luz, o una figura pasante. Todos presentados durante un período de tiempo estrictamente controlado y considerados por lo tanto, estímulos fásicos. Por el contrario, el estímulo tónico representado por el contexto fue subestimado. Estudios posteriores ampliaron la teoría de la habituación para incluir otros elementos de la situación experimental, en adición al EI, como críticos determinantes de la respuesta. Así se debe considerar el punto de vista que toma al EI como un complejo de claves tónicas y fásicas, por lo

tanto, el decremento de la respuesta sería un reflejo de la habituación al contexto sumado a la habituación a un estímulo fásico (Korn y Moyer, 1966; Marlin y Miller, 1981). Finalmente, la relevancia creciente atribuida al contexto alcanza su mayor desarrollo en la teoría asociativa de la habituación (Wagner, 1976, 1978, 1979). Esta teoría sostenía que la habituación de largo término está mediada por un proceso de condicionamiento, mediante el cual el contexto de la situación experimental (EC) se condiciona al estímulo iterativo (estímulo target o fásico; EI) de manera de inhibir la respuesta (Davis y File, 1984). A partir de esta formulación se puede predecir que los cambios durables en la respuesta son contexto-específicos.

De la misma manera que señalamos para el condicionamiento, estas teorías molares, mediante las cuales el organismo adquiere memorias de secuencias de eventos como resultado de la experiencia, pueden ser expresadas en una variedad de medidas del desempeño. Estas son muchas veces indirectas e independientes del monitoreo de la respuesta específica (Sokolov, 1963; Konorski 1967; Wagner, 1976).

d) Exploración y Habituación de la actividad exploratoria

Cuando hablamos de comportamiento exploratorio nos referimos a una actividad locomotora no dirigida, actividad de inspección o escudriño, espontánea o provocada por un estímulo externo, cuya función es ganar información sobre el entorno. Al referirnos a locomoción no dirigida, excluimos la situación en la cual el animal se desplaza con un objetivo o hacia una

meta particular, como es el caso de las taxias. El ejemplo de la actividad de forrajeo de la abeja ilustra esta diferencia: durante los primeros viajes la abeja carece de información concreta sobre la fuente y explora, los viajes posteriores hacia una fuente identificada ya no son viajes exploratorios. Es decir, la ausencia de información es un carácter diagnóstico del comportamiento exploratorio, que no requiere de estimulación externa ni motivación alguna (hambre, sed, apareamiento o refugio). Se ha demostrado experimentalmente que los animales exploran su entorno aún cuando estas necesidades se encuentran saciadas (Delorge, 1968), sugiriendo que la iniciación del comportamiento parece provenir del propio animal, aunque es posible establecer condiciones bajo las cuales la exploración ocurra con mayor probabilidad.

Tampoco el comportamiento exploratorio excluye la actividad provocada por estimulación externa. Una rata colocada en un entorno desconocido o expuesta a elementos nuevos, comienza a explorar, manifestando una actividad mucho mayor que la desplegada en un entorno conocido o ante objetos familiares (Bindra y Spinner, 1958; Welker, 1959; Bardo y col, 1989). Es decir, la **novedad** constituye el estímulo desencadenante del comportamiento exploratorio provocado.

La exploración reúne información, permite inventariar el ambiente, reuniendo elementos que pueden ser posteriormente utilizados. De ahí entonces que se la considere un instrumento potencial para el aprendizaje (Heymer, 1982), es decir, un medio que posibilita cambios adaptativos. Recordemos que los primeros experimentos sobre aprendizaje latente demostraban que

una rata llegaba más rápidamente a la meta para obtener comida, si previamente había explorado (Blodgett, 1929; Maier, 1932). En relación a este tema, Varju y Sandeman (1989) investigaron la actividad exploratoria en la langosta *Cherax sp.*, y llegaron a la conclusión de que este animal parece ser capaz de construir un mapa espacial del medio que lo rodea. A medida que progresan las excursiones exploratorias desde su refugio, la distancia y dirección de determinadas marcas del ambiente conducirían a la formación y templado de un mapa espacial en su cerebro. Un cambio posterior en la topografía sería entonces percibido como un cambio en las posiciones relativas de estas marcas en el mapa espacial almacenado, constituyendo un fuerte estímulo para la exploración.

La actividad exploratoria decrementa con el tiempo en la medida que la novedad disminuye en un mismo contexto. Esta habituación de la actividad exploratoria resulta tan vital como la exploración en sí y es un fenómeno ubicuo y general. Podemos mencionar sólo tres ejemplos sobre habituación de la exploración: a) un antiguo trabajo de Drzemina (1910) informando que el cangrejo ermitaño *Clibanarius* no intenta explorar la conchilla sellada de un gasterópodo luego de haber realizado varias inspecciones infructuosas, pero que su actividad exploratoria se recupera ante la ubicación, en el mismo entorno, de otra conchilla; b) trabajos más recientes de Jackson y Elwood (1989a,b) con el cangrejo ermitaño *Pagurus bernhardus*, demostraron que la duración de inspección a conchillas selladas por parte de ejemplares desnudos, disminuye con la propia actividad exploratoria; c) una referencia

incidental en el estudio de Martinez y col., (1988) acerca de la influencia dopaminérgica y opiácea sobre la actividad locomotora en el cangrejo terrestre *Gecarcinus lateralis*, donde informan que los animales exhiben una actividad exploratoria menor luego de investigar la cámara experimental durante 12 min.

Glanzer (1953) llamó al decremento de la actividad exploratoria, "saciación del estímulo". No obstante, cuando Thompson y Spencer (1966) publicaron su revisión sobre la habituación, listando las condiciones paramétricas básicas del proceso, incluyeron el proceso descrito por Glanzer como otro ejemplo de habituación. En el comportamiento exploratorio, la habituación depende de la respuesta, es decir, si el animal no explora no se habitúa porque no es estimulado. Sin embargo, el proceso debe considerarse habituación, desde el momento en que el decremento en la respuesta, revelado durante la retención es estímulo-específico y no respuesta-específico. La estimulación es de naturaleza tónica más que fásica.

e) *Los crustáceos: diversidad y aprendizaje*

La biología impone restricciones a lo que los animales pueden asociar (Miller y Domjan, 1981). A partir de esta premisa, los estudiosos del aprendizaje se han visto forzados a pensar en la validez de sus técnicas y lo generalizable de sus resultados, hasta el punto en que las teorías que se elaboran hoy comienzan a tomar contacto con ejemplos de aprendizaje natural. Este nuevo marco teórico permite analizar

la capacidad de los animales para el comportamiento plástico dentro de la teoría evolutiva buscando tanto las causas **próximas** como las **últimas** de los mecanismos que explican el aprendizaje.

Sería llamativo que la capacidad para aprender no estuviera bien desarrollada en los crustáceos, considerando que las habilidades motoras y sensoriales de estos animales son comparables a los de los insectos, en muchos de los cuales se sabe que el aprendizaje juega un papel significativo.

Una serie de características generales apoyan esta idea. El alejamiento del plan organizativo de los anélidos resultó en dos cambios fundamentales: el engrosamiento y endurecimiento de la cutícula y el desarrollo de apéndices altamente eficientes para nadar, caminar, agarrar, morder, triturar, formar corrientes de agua y filtrar. Un control efectivo de estos complejos apéndices articulados ejerció nuevas demandas sobre el sistema nervioso central y probablemente condujo a un incremento en su tamaño y complejidad. El uso adaptativo de estas complejas habilidades manipulativas, evolucionó conjuntamente con órganos sensoriales articulados que condujeron, por ejemplo, a los complejos ojos compuestos. Estas innovaciones en la capacidad sensorio-motora permitieron el surgimiento y la selección de formas de vida que utilizan y dependen de habilidades superiores para percibir y manejar el ambiente. Consecuentemente, el aprendizaje puede haberse convertido en estos animales en una herramienta potencialmente más valiosa que lo que había sido en grupos con habilidades sensorio-motoras más sencillas y estilos mas simples de vida.

Sin embargo, no todos los crustáceos han evolucionado en el sentido de aumentar la complejidad sensoriomotora. Resulta precisamente una gran ventaja para el análisis comparativo de la capacidad de aprendizaje, el hecho de que esta clase presente una enorme diversidad de estilos de vida. Hay formas especializadas para caminar y correr en el fondo del mar; para desplazarse a la deriva en el plancton; activos y poderosos nadadores; o formas parásitas y sésiles. Algunos cangrejos pasan toda la vida en el mar abierto; otros construyen cuevas en la costa rocosa y otros ocupan la zona intertidal y construyen cuevas en el barro, debiéndose enfrentar a las condiciones cambiantes del medio. Los hay que filtran comida o consumen barro; especialistas y generalistas; los que forrajean algas o vegetación de la costa y los que consumen plantas o animales en descomposición; aquellos que permanecen en sus cuevas esperando a su presa y los que persiguen y capturan presas vivas e incluso los que extraen alimento enterrado.

Por lo tanto, existe una gran variabilidad en formas de vida así como en las capacidades sensoriomotoras y nerviosas que permiten la supervivencia. Debe suponerse que la capacidad para aprender está de alguna manera determinada por la forma de vida; por lo tanto no debería esperarse que una forma sésil, acorazada y dotada de un sistema de filtrado, con poca agudeza visual (cirripedios) tuviese una misma capacidad mnésica para una tarea dada, que crustáceos predadores o detritívoros, (estomatópodos y cangrejos) con ojos compuestos y centros visuales desarrollados (Bullock y Horridge, 1965). En estos

últimos existirían áreas especializadas de asociación como son los agregados de células globulosas en la médula terminalis (Delorenzi, comunicación personal).

Los cangrejos que viven en cuevas fijas de las que emergen para alimentarse, puedan muy probablemente aprender algo acerca de la topografía de su área de forrajeo y el lugar donde están las mismas. Podríamos anticipar que esos cangrejos serían capaces de aprender su camino en un laberinto experimental en el laboratorio.

Por lo tanto, el estilo de vida de un animal nos permitiría inferir algo acerca de su capacidad para aprender pero sólo a partir del análisis comparativo podríamos concluir si se trata de una característica general del sistema nervioso o si se trata de una habilidad específica de un grupo, como lo sugieren las observaciones en insectos de von Frish, Böck en crustáceos (1942) y García en ratas (1968).

f) Crustáceos: Ejemplos de aprendizaje en el habitat natural

Muchos crustáceos viven y encuentran reparo en agujeros y cuevas. En muchos casos estos son abundantes y fácilmente construidos y se usan sólo una vez. En otros casos se trata de lugares específicos mantenidos y defendidos durante un largo período de tiempo (Lindberg, 1955; Bainbridge, 1961). Los cangrejos fantasma, del género *Ocypoda* conservan sus cuevas (Schöne, 1961) y pueden incluso alejarse una distancia considerable y retornar a los mismos. Esta particularidad implica habilidad para la navegación y la utilización de

memoria.

El aprendizaje y la memoria son probablemente importantes para el comportamiento alimentario de muchas especies carroñeras y predatorias. Familiaridad y abundancia son dos variables cruciales que se supone influyen sobre las preferencias y estrategias alimentarias. Si lo que se ingiere es nuevo puede involucrar riesgos, tanto en su captura como en su ingestión, y si es escaso supone una gran demanda de tiempo como de energía para su almacenamiento. La familiaridad se vincula fácilmente con el aprendizaje y evaluar la abundancia requiere la utilización de memoria toda vez que el animal no está rodeado por comida. Algunos datos de campo obtenidos con la langosta de río sugieren que estas ideas son ciertas (Lindberg, 1955).

El hecho de que el habitat provea normalmente buenas correlaciones entre eventos, permite evaluar la adaptabilidad del comportamiento animal en función del grado en el que los animales capitalizan estas contingencias para facilitar su sobrevivencia. Grandes sombras frecuentemente presagian la proximidad de un predador, así como ciertos olores o sabores indican la proximidad de comida. Sin embargo, en algunas situaciones una sombra puede no significar nada o una fuente de alimento potencial puede no resultar accesible o ser peligrosa aún cuando esté próxima. Por lo tanto, la habilidad para alterar respuestas comportamentales innatas frente a algunas claves resulta muy adaptativa y se han observado en más de una oportunidad (Cowles, 1908; Volz, 1938; Schöne 1961).

Los crustáceos muestran variedad de fases y ritmos

inducidos por factores ambientales, como por ejemplo aquellos que ocurren periódicamente en fase con ciclos de luz o marea. El nivel de actividad general, el enterramiento, el forrajeo y otras manifestaciones comportamentales están sujetas a este control. Lo interesante de estos casos, donde el comportamiento está bajo control de estímulos cíclicos, es que luego de alguna experiencia con un ciclo particular los comportamientos ocurren a la hora apropiada aún cuando el animal se encuentre aislado del evento de estímulo relevante (Harris, 1963; Barnwell, 1963).

g) Crustáceos: Aprendizaje en condiciones de laboratorio.

Las primeras evidencias convincentes de que tanto los cangrejos como la langosta de río aprendían discriminaciones sencillas fueron presentadas por Yerkes. Hoy son numerosas las evidencias que demuestran el aprendizaje y la memoria en los crustáceos.

g.1 Cambios en el nivel de respuesta. Habitación y sensibilización.

Existen muchos ejemplos donde la presentación repetida de un estímulo que evoca una respuesta innata de manera invariable, resulta en un cambio en la probabilidad de obtener esa respuesta (Fink, 1941; Hazlett, 1966; Taylor, 1970; Krasne, 1972).

Algunos resultados experimentales parecen indicar que los animales aprenden no solamente a dejar de responder, sino que aprenden acerca del estímulo desencadenante, lo que sugiere una probable asociación entre el estímulo y la respuesta, así como que los animales parecen aprender acerca del contexto donde se presenta el estímulo (Drzewina, 1910; Fink, 1941; Krasne y Woodsmall, 1969). Hace más de una década, en el laboratorio de Fisiología del comportamiento hemos comenzado un estudio sistemático sobre la habituación en el cangrejo *Chasmagnathus* (Brunner y Maldonado, 1988; Romano et al., 1990). La presentación de una figura rectangular pasando sobre el animal, constituye un estímulo visual de peligro y desencadena una respuesta de escape que disminuye a lo largo de los ensayos. Una característica llamativa de este paradigma es que a pesar de que el estímulo iterativo supone una amenaza inminente, la respuesta de escape se habitúa rápidamente y por un período largo de tiempo (al menos 5 días; Lozada et al., 1988; Pedreira et al., 1995a). El valor adaptativo de esta capacidad de *Chasmagnathus* fue estudiada comparándola con la de *Pachygrapsus*, esto es, evaluando la habituación de largo término (LTH) en dos especies cercanas filogenéticamente, pero dispares en cuanto a su ecología (Tomsic et al., 1993). El decremento de la respuesta satisface los requerimientos paramétricos para la habituación (Lozada et al., 1990; Rakitin et al., 1991; Romano et al., 1991), frecuencia especificidad (Lozada, 1994), así como la dependencia con la edad y con la hora del día (Tomsic et al., 1995; Pereyra et al., 1995). Los experimentos farmacológicos demostraron que la LTH en

Chasmagnathus depende de la síntesis *de novo* de proteínas (Pedreira et al., 1995a; Pedreira et al., 1995b); y que puede ser facilitada o verse afectada por la administración sistémica de los activadores o inhibidores de PKA, respectivamente (Romano et al., 1995a; Romano et al., 1995b). Además, ha sido extensamente estudiado el probable papel varios neurotransmisores o neuromoduladores en relación con la adquisición y/o retención de la respuesta habituada (Valeggia et al., 1989; Maldonado et al., 1989; Romano et al., 1991; Tomsic y Maldonado 1990; Tomsic et al., 1991; Godoy et al., 1995; Saraco y Maldonado 1995). Finalmente, la LTH parece depender de la asociación con la memoria del contexto (Tomsic et al., 1995; Pedreira et al., 1995; Saraco y Maldonado, 1995).

g.2 Aprendizaje asociativo. Condicionamiento clásico e instrumental.

Pioneros en este tema fueron los trabajos de Mikhailoff (1920), con cangrejos ermitaños *Pagurus striatus* en aprendizaje de evitación.

Con respecto al condicionamiento instrumental, los primeros experimentos de Yerkes en situaciones simples de elección en laberintos en Y o T, estudiaron la formación de hábitos de posición simples. Los reforzadores involucraron el escape del calor o de la deshidratación, el regreso a un lugar u ocasionalmente la comida, y en alguna ocasión se empleó el choque eléctrico para una elección errónea. Algunos intentos

de agregar claves de textura o luz a una discriminación de posición no facilitaron el aprendizaje. Estudios de discriminación que no involucren claves de posición, son pruebas de aprendizaje asociativo más contundentes. Schöne (1961) estudió una discriminación de intensidad luminosa en la langosta de la roca *Panilurus argus*, y Fine-Levy et al., (1987, 1988) estudiaron también en este animal el condicionamiento diferencial y las discriminaciones olfativas. El condicionamiento tanto instrumental como clásico fue demostrado en el cangrejo verde *Carcinus maenas* por Abramson y Feinman (1987,1988). Recientemente se ha demostrado en *Chasmagnatus* el aprendizaje apetitivamente motivado (Denti et al., 1988; Dimant y Maldonado, 1992; Fernandez-Duque y Maldonado, 1992; Hermitte et al., 1995; Tomsic et al., 1995).

h) Características del sistema nervioso de los crustáceos.

El cerebro.

Existen tres divisiones principales en el cerebro:

1) El protocerebro, que comprende dos lóbulos laterales (lóbulos ópticos) contenidos en los pedúnculos oculares, y una región medial formada a su vez por cuatro lóbulos y un área especializada conocida como cuerpo central. En los lóbulos se distinguen cinco neuropilos: lámina, médula externa, médula interna, médula terminalis y cuerpo hemielipsoide (CH), ocupando una importante porción del cerebro. Esta preponderancia de los lóbulos ópticos es en parte debida, probablemente, al complejo procesamiento de la información

visual. Cerca de la médula terminalis se ubica el sistema glándula del seno-órgano X, una estructura neurosecretora.

2) El deutocerebro contiene neuropilos olfatorios y paraolfatorios que reciben el *input* de pelos quimiosensoriales sobre la primera antena y controla sus movimientos. El deutocerebro también aloja los lóbulos accesorios, cuando están presentes. 3) El tritocerebro contiene el neuropilo tegumentario con *input* sensorial desde la caparazón, los neuropilos que reciben *inputs* mecanosensoriales y propioceptivos de la antena II y las motoneuronas que mueven esta antena.

Se trata de un cerebro más complejo que el de los anélidos, con más neuronas, más agrupaciones discretas de somas celulares, más masas de fibras distinguibles (neuropilos). Además contiene con más frecuencia que los anélidos, finos nudos de neuropilos (gloméruli) y conjuntos apretados de pequeños cuerpos celulares con poco citoplasma (globuli), (Bullock y Horridge, 1965). Se considera a estas estructuras diferenciadas, indicativas de evolución neuronal. En particular, los globuli reciben *inputs* desde regiones de neuropilos que sirven a diferentes sentidos como la olfacción y la visión y por lo tanto son asimilados con áreas de asociación. Con respecto a éstas cabe recordar la corpora pedunculata (CP) de los insectos por su posible homología con los cuerpos hemielipsoides de los crustáceos. La corpora pedunculata es considerada, como el área de mayor actividad integrativa del sistema nervioso. Para algunos autores como Erber, Homberg y Gronenberg (1987), la mayoría de la funciones

que el sistema tiene que realizar puede ser atribuida a esta estructura. Desde el procesamiento de señales puramente sensoriales hasta el control de secuencias de comportamiento complejas. Horridge (Bullock y Horridge, 1965) la considera un **aérea de asociación** para señales olfatorias y visuales (Hanström, 1928), pudiendo constituir así la base de diferentes formas de memoria (Howse 1974). Estudios neuroanatómicos Strausfeld (1976) sugirieron que CP podrían funcionar como centros multimodales con propiedades integrativas complejas que podrían ser modificadas por el **condicionamiento** ya que reciben *inputs* de varios centros sensoriales (olfatorios y gustativos) y de ellos derivan *outputs* motores.

El **neuropilo hemielipsoide** que también contiene neuropilos glomerulares fue propuesto por Hanström (1931, 1933, 1934a, b) como homólogo del corpora pedunculata de los insectos. Típicamente compuesto por varios neuropilos con fibras intrínsecas y extrínsecas. Hanström (1928) propuso un circuito neural hipotético en el CH para describir los experimentos de aprendizaje visual en el cangrejo ermitaño (Spaulding, 1904). En este circuito, las interneuronas olfatorias sinaptan a las neuronas de los CH que a su vez se conectan con motoneuronas. Se supone que los estímulos olfatorios desencadenan el comportamiento alimentario via CH. Las interneuronas visuales también están hipotéticamente conectadas a las neuronas de los CH y la asociación entre estímulos olfativos y visuales ocurre en este sistema. Durante el aprendizaje, se supone que la eficacia del contacto sináptico se modifica y luego de un número de refuerzos una

señal visual podría desencadenar el comportamiento alimentario. La evaluación de señales olfatorias y visuales, la asociación de estímulos, el aprendizaje y la memoria y el desencadenamiento de la conducta fueron atribuidos a los CP y CH hace más de 60 años y desde entonces estos conceptos no han cambiado.

En una descripción del sistema nervioso de los crustáceos Sandeman (1982) enfatizó el concepto de invarianza en la arquitectura neuronal del cerebro crustaceano que fue reforzado por los estudios electrofisiológicos de Wiersma en el cordón ventral de la langosta de río. Mostró que las mismas neuronas podían ser repetidamente encontradas en ciertas aéreas de los conectivos de muchos individuos de la misma especie. La misma idea fue ratificada luego por los estudios con cobalto. Han sido descubiertas células con posición definida y con patrones de ramificación terminal similares de individuo a individuo. Los somas son siempre virtualmente iguales en tamaño relativo y ocupan aproximadamente el mismo lugar en el cerebro. (Fraser, 1974 a,b).

Nassel y Elofsson en un estudio de Anatomía comparada publicada en 1987 se refieren a la localización de sustancias neuroactivas. La primera demostración de aminas neuroactivas en el sistema nervioso de los crustáceos fue encontrada en el cerebro de la langosta de río (Falck, 1962). Estudios posteriores involucraron representantes de diferentes taxones (Goldstone y Cooke, 1971; Elofsson et al., 1977; Myhrberg et al, 1979) y concluyeron que la distribución de neuronas conteniendo aminas biogénicas, especialmente catecolaminas

puede ser generalizada a los cerebros de los crustáceos. Los neuropilos ópticos en todas las especies que tienen ojos compuestos contienen neuronas catecolaminérgicas (Elofsson y Klemm, 1972) que varían en posición y forma en las diferentes especies.

i) Chasmagnathus granulatus. Biología de la especie

Nuestro modelo experimental pertenece a la clase Malacostraca, orden Decápoda, sección Brachyura, familia Grapsidae y es un representante típico de los cangrejos semiterrestres. Normalmente se encuentran expuestos al aire atmosférico y cavan cuevas de una profundidad de aproximadamente 50 cm (Boschi, 1972; Rossi, 1982). Se trata de un animal eurihalino (Botto e Yrigoyen, 1979) que puede vivir con bajos niveles de consumo de oxígeno (Santos et al. 1991). Tiene reacciones rápidas y es activo corredor. El hecho de ser capaz de respirar fuera del agua y de ser eurihalino, permite su mantenimiento en condiciones sencillas en el laboratorio.

El ecosistema típico donde suele hallarse es el cangrejal, nombre que reciben los pantanos salobres que habita y que ha sido adoptado en varios países. La especie que nos ocupa habita en suelo de sedimento areno-lodoso, desde Río de Janeiro (Brasil) hasta el Golfo de San Matias (Argentina). Los individuos cavan sus propias cuevas en el horizonte mesolitoral superior y supralitoral, ocupado por una densa vegetación de *Spartina densiflora* y *Spartina alterniflora*, alcanzando una

densidad de 120 cangrejo por metro cuadrado (Botto e Irigoyen, 1979). De hábitos gregarios, se trasladan hacia el mesolitoral inferior e infralitoral durante determinadas horas del día (Oliver y col., 1969a; Bond-Buckup y col., 1990). Su régimen es de tipo omnívoro-detritívoro, alimentándose principalmente de restos vegetales, característica que facilita su cautiverio. Entre sus predadores naturales se encuentran las gaviotas, especialmente la cangrejera *Larus belcheri* (Oliver y col., 1969b), la corvina rubia *Micropogon opercularis* y la negra *Pogonias chromis*.

j) PLANTEO DE LOS OBJETIVOS.

El análisis del comportamiento es el primer nivel de investigación de los mecanismos en un proceso de aprendizaje. Estudiamos las variables ambientales que suponemos afectan de manera directa el comportamiento. Este análisis nos obliga a centrarnos en la parte relevante del comportamiento que se relaciona con la entrada sensorial. Es decir, cuáles son los estímulos significativos ? Cómo deben ser presentados para que el animal los asocie ? Que porción del comportamiento nos brinda información acerca de los cambios plásticos internos que se están produciendo en el animal ? Luego, a partir de las respuesta a estas preguntas se pretende dilucidar los mecanismos que permitirían a *Chasmagnathus* adquirir, almacenar y evocar la información. Con este propósito, se utilizan metodologías de la electrofisiología, farmacología, y biología molecular y celular.

Una serie de estudios del Laboratorio de Fisiología del Comportamiento han descrito un proceso de condicionamiento apetitivamente motivado, así como una habituación exploratoria, en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus* (Dimant y Maldonado, 1992; Tomsic et al., 1993; Hermitte et al., 1995). Una propiedad básica y común a ambos procesos mnésicos, es la capacidad de *Chasmagnathus* de adquirir una memoria del contexto. El animal recuerda, por un período largo de tiempo (al menos 24 horas) el lugar donde tuvo la experiencia que modifica su comportamiento. Pretendemos dilucidar los mecanismos que permiten a *Chasmagnathus* adquirir esta información sobre el contexto así como asociarla con la que corresponde al refuerzo positivo (la comida).

Concretamente, nos proponemos el análisis del comportamiento del cangrejo *Chasmagnathus* durante las fases de adquisición de la memoria, así como la evaluación de los cambios en su desempeño como resultado de la experiencia previa.

Por lo tanto, nos proponemos en esta tesis los siguientes objetivos:

- 1.- Ampliar y profundizar nuestro conocimiento acerca del modelo experimental *Chasmagnathus*.
- 2.- Precisar con que tipo de aprendizaje se puede identificar el condicionamiento apetitivamente motivado de *Chasmagnathus*.
- 3.- Caracterizar el estímulo incondicionado, ponderando el peso *per se* que puede tener sobre la actividad exploratoria del animal.

4.- Estudiar las relaciones necesarias de contigüidad entre el estímulo condicionado (EC) y el estímulo incondicionado (EI) en el aprendizaje apetitivamente motivado.

5.- Precisar las claves contextuales determinantes en el proceso de condicionamiento.

6.- Ponderar el grado de lateralización que puede haber en estos procesos como una forma de avanzar sobre la localización del engrama.

CAPITULO 2: MATERIALES Y METODOS GENERALES

ANIMALES

Los animales utilizados en los experimentos fueron siempre machos adultos de cangrejos de la especie *Chasmagnathus granulatus* con un ancho máximo de caparazón entre 2.8 y 3.2 cm y peso medio de 17 g. Fueron capturados en aguas salobres de menos de 1 m de profundidad y zonas intertidales de las rías de San Clemente del Tuyú, Provincia de Buenos Aires. Transportados en recipientes especialmente diseñados hasta el laboratorio, donde se los colocaba en tanques de plástico (35 x 48 x 27 cm) ubicados en el cuarto de mantenimiento, con una capa de agua de aproximadamente 2 cm de profundidad, sin aireación, a razón de 35 animales por tanque. El agua usada en los tanques y otros recipientes durante los experimentos, era agua de mar artificial (salinidad: 12 partes en 1000, ph 7.4-7.6). El cuarto de mantenimiento tenía un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas (luz de 07:00 a 19:00h). Los animales fueron alimentados con pellets de conejo (Nutrients SA), cada 3 días, cambiándose el agua después de haber comido. La temperatura de los cuartos de experimentación y de mantenimiento permanecía dentro de un rango ente 19°C y 24°C. Los experimentos se realizaban durante el período de luz, entre el 2do y 6to día después de la llegada de los animales al laboratorio. Cada cangrejo era usado en un sólo experimento.

Veinticuatro horas antes de comenzar un experimento, los animales eran sometidos a una prueba de selección: cada cangrejo era dado vuelta sobre su dorso y sólo se consideraban

aptos aquellos animales que volvían inmediatamente a su posición normal. Se justifica esta selección por el hecho conocido que los animales que recuperan lentamente su posición, muestran baja respuesta a diversos estímulos y poca movilidad, sugiriendo un mal estado general y gran labilidad. Cada cangrejo seleccionado era individualizado con un número pintado sobre su caparazón y luego colocado en su tanque de mantenimiento.

APARATOS

1) *Caja de elección*

El aparato, descrito anteriormente por Dimant y Maldonado (1992) fue utilizado tanto para el condicionamiento alimentario como para la habituación de la exploración. Es una caja plástica (25 x 25 x 15 cm) dividida en dos compartimientos de igual tamaño (25 x 12.5 x 15 cm) por una partición central; el compartimiento claro (CC) y el oscuro (CO). El compartimiento oscuro tenía sus paredes pintadas de negro y un techo rebatible (TR) que evitaba la entrada de luz. El compartimiento claro fue iluminado mediante una lámpara de 10 W y tenía sus paredes pintadas de blanco. Una puerta guillotina (P) ubicada en la partición central, podía ser abierta o cerrada por un motor (M), permitiendo al animal pasar de un compartimiento al otro. El piso de CO estaba cubierto por un capa de agua de 0.3 cm, mientras que un escalón de 1 cm ubicado a la altura de la puerta evitaba la entrada de agua en CC. La ausencia de agua en CC no influía sobre la movilidad del animal dentro de la cámara de elección. Un sistema emisor-receptor (ER), montado

sobre un dispositivo semejante a una arcada, estaba ubicado en el CC. Un ordenador comandaba el funcionamiento de la puerta y registraba el intervalo de tiempo que transcurría entre el momento en que se abría la misma y aquél en que el rayo infrarrojo era interrumpido por primera vez por el cangrejo. Este intervalo se llamó latencia. Un espejo permitía al experimentador observar el interior del CC sin ser visto por el animal.

Cuarenta cajas de elección fueron instaladas en un cuarto experimental aislado.

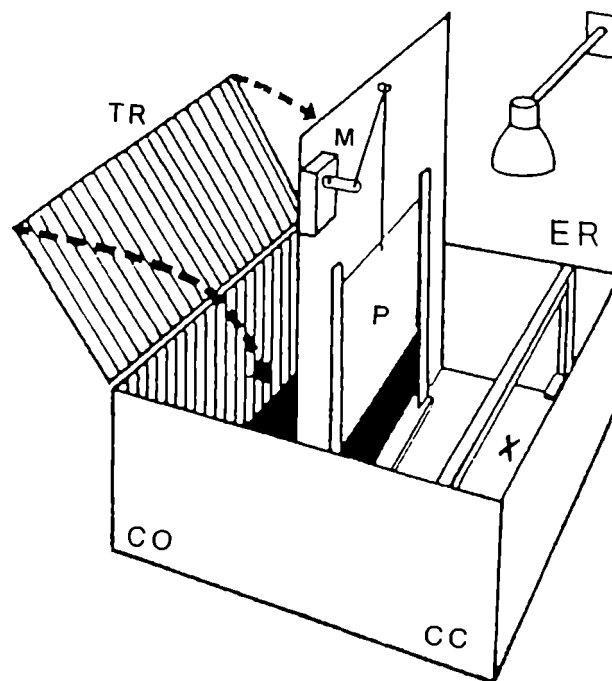


Figura 1: La caja de elección, una de las 40 unidades del aparato que se utiliza para evaluar el aprendizaje apetitivamente motivado. CC compartimiento claro; CO compartimiento oscuro; P puerta quillotina; ER sistema emisor-receptor; M motor; TR techo rebatible; X lugar de alimentación.

2) **Actómetro**

El dispositivo utilizado en la habituación de la respuesta de escape ha sido descrito anteriormente (Lozada et al. 1990). Consiste en un contenedor semiesférico plástico (C) con un piso circular llano de 10 cm de diámetro, cubierto hasta una altura 1 cm con agua. El cangrejo es ubicado en el contenedor que está suspendido mediante 3 hilos de una estructura de madera (23 x 23 x 30 cm) e iluminado por una lámpara de 10 W ubicada 30 cm sobre el animal. Una pantalla opaca rectangular (P) (25 x 7.5 cm), se mueve horizontalmente sobre el cangrejo por el accionar de un motor (M) durante 2.3 seg. Los desplazamientos provocan la respuesta de escape del animal y consecuentemente, las oscilaciones del contenedor. Una aguja cementada centralmente a la base del contenedor está conectada a un transductor piezoeléctrico (E). Las oscilaciones del recipiente inducen a través del transductor piezoeléctrico, señales eléctricas proporcionales a la velocidad de las oscilaciones (Cady 1964). Estas señales son amplificadas, integradas durante el tiempo de registro (9 seg) y traducidas a unidades numéricas en un rango de 0 a 1530, antes de ser procesadas por un ordenador. Por lo tanto, los valores están correlacionados proporcionalmente a la velocidad y al número de oscilaciones del contenedor. La amplificación de los cambios de voltaje está calibrada con una ganancia de manera que los valores se mantengan por debajo de 1530. El cuarto experimental posee 40 actómetros, aislados uno de otro mediante particiones.

Un ordenador es empleado para programar secuencias de ensayos, la duración de cada ensayo y los intervalos

interensayos, así como también para monitorear los eventos experimentales.

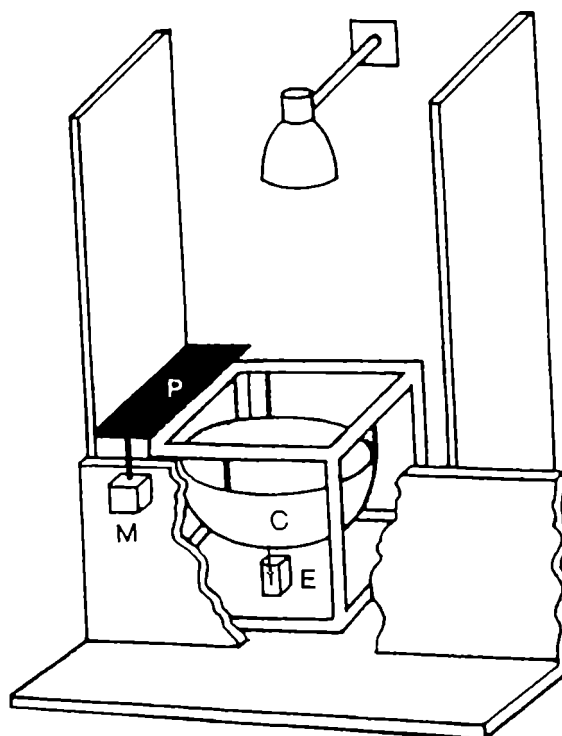


Figura 2: El actómetro, una de las 40 unidades del aparato para estudiar la habituación. C contenedor plástico, P pantalla, M motor, E transductor piezoeléctrico

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL EN LA CAJA DE ELECCIÓN:

1) *Método de entrenamiento y evaluación para el condicionamiento apetitivo:*

Para la sesión de entrenamiento los animales eran llevados al cuarto de experimentación y colocados individualmente en el compartimiento oscuro (CO) de la caja de elección, manteniendo la puerta guillotina cerrada. En cada compartimiento claro (CC), próximo a la pared distal, se colocaba un pellet de

alimento balanceado para conejo. Después de 10 minutos de adaptación, las puertas eran levantadas permitiendo la salida de los animales desde CO. Si el cangrejo permanecía en CO sin salir, la puerta se cerraba automáticamente a los 10 min (tiempo tope).

Por el contrario, si el animal pasaba a CC e interrumpía el haz infrarrojo, se registraba la latencia y la puerta permanecía abierta durante 5 minutos (tiempo de espera). Este tiempo es el que disponía el cangrejo para deambular libremente por la caja o para ingerir el alimento. Al finalizar los 5 min se procedía a bajar manualmente la puerta induciendo a los animales a pasar a CO. Una vez que todos los cangrejos habían regresado a CO y todas las puertas habían sido cerradas, se daba por concluido el primer ensayo. Después de un período de 5 min, comenzaba un nuevo ensayo, idéntico al primero. Cada sesión de entrenamiento comprendía 5 ensayos, al final de los cuales los animales eran trasladados nuevamente a sus respectivos tanques de mantenimiento.

Veinticuatro horas más tarde los animales eran sometidos a una sesión de evaluación o retención del aprendizaje.

Una sesión de evaluación era idéntica a una sesión de entrenamiento con la única diferencia que el alimento no era colocado en CC. Se registraba la latencia de salida desde a CO a CC durante 2 ó 5 ensayos.

2) Método de entrenamiento y evaluación para la habituación de la exploración:

Para la sesión de entrenamiento los animales eran llevados

al cuarto de experimentación y colocados individualmente en el compartimiento oscuro (CO) de la caja de elección, manteniendo la puerta guillotina cerrada. Después de 10 minutos de adaptación, las puertas eran levantadas permitiendo la salida de los animales desde CO. Si el cangrejo permanecía en CO sin salir, la puerta se cerraba automáticamente a los 10 min (tiempo tope). El método de entrenamiento en este paradigma es exactamente igual al explicado para el condicionamiento. La única diferencia radica en que es este caso los animales no son alimentados.

Veinticuatro horas más tarde los animales era sometidos a una sesión de evaluación o retención del aprendizaje durante la cual se registraba la latencia de salida desde a CO a CC durante 2 ó 5 ensayos.

ESTADÍSTICA

Cualquier estudio sobre un proceso de aprendizaje debe atender a dos momentos de la vida de un organismo. En el momento 1 (t_1) el organismo es expuesto a alguna experiencia u oportunidad para responder. Luego en un tiempo 2 (t_2) algún procedimiento revela la modificación que la experiencia produjo en t_1 . Se debe evaluar si la respuesta en t_2 se debe a la experiencia recibida en t_1 . Consecuentemente, los estudios de aprendizaje comparan el comportamiento de dos grupos en el tiempo t_2 , los que fueron expuestos en t_1 al tratamiento experimental y aquellos sometidos a alguna experiencia control.

Fue Rescorla (1988) quien argumentó de manera convincente en favor de este tipo de análisis en lugar de comparar t_1 con

t2, enfatizando la necesidad de distinguir claramente entre el tiempo del input (sesión de entrenamiento) y el tiempo de evaluación (sesión de evaluación).

Si el aprendizaje es considerado como un cambio interno resultado de la experiencia, éste puede ser exhibido de diferentes formas y no existe razón *a priori* en favor de una u otra medida. En esta tesis, la latencia fue la medida elegida para evaluar los cambios en la tendencia a explorar inducidos tanto por el aprendizaje de habituación como por el condicionamiento apetitivamente motivado. La retención del aprendizaje se evaluó comparando los resultados obtenidos en la sesión de evaluación de un grupo experimental con los de un grupo control.

Se utilizan distintos test estadísticos. Los datos del entrenamiento son analizados mediante un ANOVA de medidas repetidas. Los datos correspondientes a la sesión de evaluación son analizados en la mayoría de los casos mediante comparaciones planeadas *a priori* (Rosenthal y Rosnow, 1985).

Observación

El procedimiento utilizado en experimentos de habituación a un estímulo de peligro se explica en el Capítulo 7. Modificaciones particulares de los procedimientos, tanto en experimentos de condicionamiento apetitivo como en los de habituación exploratoria son explicadas en cada caso.

CAPITULO 3. APRENDIZAJE EN *CHASMAGNATHUS*. CONDICIONAMIENTO INSTRUMENTAL Ó CLÁSICO.

INTRODUCCIÓN

En los experimentos de condicionamiento, el investigador programa ciertas relaciones entre eventos y registra cambios en el comportamiento del animal. Cuando el comportamiento del sujeto cambia como consecuencia de la exposición a estas relaciones, decimos que el condicionamiento tuvo lugar. Sin embargo, cambios similares podrían producirse aún cuando el animal no hubiera estado expuesto a estas relaciones, por lo tanto se requiere controlar estrictamente la situación experimental. Solamente un análisis muy completo puede permitirnos especificar cuales son los aspectos críticos de estas relaciones responsables de los cambios en el comportamiento que se estudia.

En un experimento pavloviano clásico la relación manipulada puede ser una simple relación entre dos estímulos externos: la presentación del estímulo condicionado seguida por el refuerzo. Se necesitan sin embargo controles para asegurarse que esta relación es la responsable del desarrollo de la respuesta condicionada. El procedimiento más común ha sido exponer a los animales solamente al estímulo condicionado (EC) o incondicionado (EI). Un control más apropiado consiste en presentar ambos estímulos pero sin que el EI siga inmediata y regularmente al EC, sino que se los presenta separadamente en el tiempo a lo largo de toda la sesión experimental y con una

misma probabilidad de ocurrencia. Este procedimiento de control ha sido considerado por Rescorla (1967a) como aquél que mejor asegura que la relación entre ambos estímulos es la responsable de la emergencia del comportamiento nuevo.

En un experimento instrumental, se requiere que el animal ejecute algún tipo de respuesta relativamente arbitraria para obtener un refuerzo. La relación particular que el investigador programa incluye la presentación de un EC y de un EI que es contingente con la respuesta del sujeto. El animal recibe el refuerzo si y sólo si ejecuta la respuesta en cuestión en presencia del EC.

Debe advertirse que la identificación del tipo de condicionamiento (instrumental o clásico) no está determinado por el programa que propuso el investigador para un experimento dado, sino que resulta de analizar las variables experimentales que efectivamente determinaron el aprendizaje. Así, el experimentador puede haber propuesto un programa de contingencia clásica entre EC y EI pero el cambio en el comportamiento del animal puede deberse a una contingencia instrumental.

Desde el punto de vista de un estudioso de los aspectos mecanísticos de la memoria, el distingo entre condicionamiento instrumental y clásico puede ser importante en la medida en que estas categorías diferentes de aprendizaje se correspondan a mecanismos diferentes. Sin embargo, un requisito indispensable para suponer que dicha correlación pueda existir es que las dos categorías estén inequívocamente definidas. La realidad, es que si bien se han dado las definiciones operacionales ya

comentadas para distinguir entre las dos modalidades, no hay total consenso entre los autores sobre el supuesto básico, es decir, sobre el hecho que el comportamiento pueda ser modificado por dos tipos diferentes de contingencia. Mientras autores como Miller, Konorsky y Skinner aceptan las dos contingencias, postura generalmente conocida como la teoría de los dos factores (Rescorla y Solomon, 1967), Hull (1943) entre otros, sostiene que un solo tipo de contingencia es la determinante en cada situación.

Más allá de esas consideraciones, la determinación de qué contingencia particular es capaz de modificar el comportamiento resulta de gran interés en cuanto nos permite descubrir cuales son las variables del contexto relevantes para el animal. En la presente tesis intentaremos, mediante la modificación sistemática de la contingencia, averiguar cuáles son los eventos del ambiente que *Chasmagnathus* relaciona durante el condicionamiento apetitivamente motivado.

La caja de elección constituye un complejo de estímulos de diversa modalidad: visual, táctil, químico, y vibratorio, que se encuentran disponibles para el cangrejo desde el momento en que es colocado en la caja. El método de entrenamiento habitualmente utilizado en el laboratorio para el condicionamiento apetitivo de *Chasmagnathus*, involucra 5 ensayos consecutivos de 15 min cada uno, separados por un intervalo de 5 min, presentándose el alimento del lado claro de la caja (CC), de manera que el animal tiene que volver a salir durante cada ensayo para recibir un pellet. En un primer análisis, este condicionamiento podría considerarse de tipo

instrumental puesto que obviamente esta contingencia supone una respuesta (el pasaje desde el lado oscuro al claro, CO -> CC) en presencia de un complejo de estímulos (la caja de elección) seguida inmediatamente del refuerzo (la comida). Sin embargo, podría ser que la respuesta resultara irrelevante para el condicionamiento y que éste estuviese determinado sólo por la relación contingente y contigua entre un conjunto de estímulos visuales y/o de otra modalidad (la caja de elección) y el refuerzo (la comida), es decir, que lo predominante fuese una contingencia clásica.

Por lo tanto, la finalidad de los dos experimentos de este capítulo ha sido dilucidar si, como lo sugiere el tipo de diseño usado en el laboratorio, la contingencia determinante del condicionamiento apetitivo en *Chasmagnathus* es de tipo instrumental. Con este propósito, utilizamos en el primer experimento dos metodologías de entrenamiento: un método instrumental (MI), con ensayos, ya descrito en Materiales y Métodos Generales (Capítulo 2) y que es el usado habitualmente en el laboratorio (Dimant, 1991,1992; Tomsic, 1995); y otro clásico (MC), donde se simplifica la situación experimental, ya que se suministra todo el alimento (5 pellets) de una sola vez y en el lado claro de la caja (CC), dejándose a los animales durante una hora y media en contacto con la comida. En el segundo experimento, un grupo de animales recibe comida en CC si va de CO a CC, mientras otro grupo la recibe en CO con independencia de que vaya o no a CC. Se trata de evaluar si los movimientos en el espacio de un animal hacia un estímulo o lugar asociado con eventos apetitivos, como la entrega de

comida, pueden ser modificados por procedimientos pavlovianos.

EXPERIMENTO 1

Los animales, en número de 160 se distribuyeron en 4 grupos de 40. Dos grupos eran experimentales (EMI y EMC) y dos controles (CMI y CMC). El grupo EMI fue entrenado con el método instrumental (MI), mientras que los animales de EMC con el método clásico (MC). CMI y CMC recibían el mismo tratamiento que EMI y EMC, respectivamente, pero sin refuerzo del alimento. La latencia de salida fue registrada durante el primer pasaje CO → CC para EMC y CMC y durante los cinco ensayos de entrenamiento para EMI y CMI. Durante la evaluación, 24 horas después, todos los grupos tuvieron cinco ensayos sin refuerzo como se describe en Materiales y Métodos Generales.

Resultados y Discusión

Los valores de latencia del primer ensayo de entrenamiento no mostraron diferencias entre los 4 grupos $F=0.55$. Las curvas de entrenamiento para EMI y CMI se ilustran en la Figura 3. Una simple observación de estas curvas sugiere un curso distinto de las latencias para cada grupo a pesar de haber comenzado con un valor inicial semejante. CMI tiende a ir reduciendo su tendencia de salida desde CO, sugiriendo un proceso de habituación exploratoria; mientras EMI muestra una reducción o permanencia del valor inicial de latencia durante la sesión indicando un proceso de adquisición del condicionamiento apetitivo. Un ANOVA (2x5) de medidas repetidas sobre los datos

confirma esa impresión, ya que reveló un efecto principal significativo $F=13.21$, $p<0.005$.

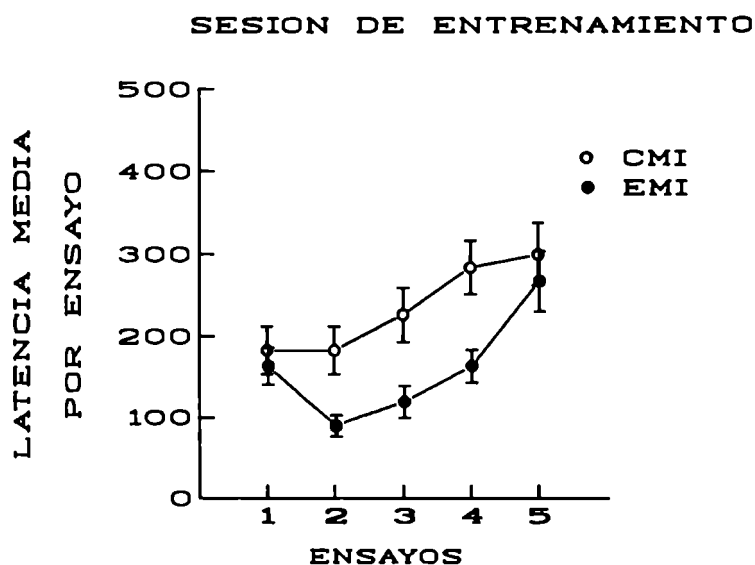


Figura 3: Sesión de entrenamiento. Curvas de aprendizaje para grupo entrenado con método EMI y de habituación para grupo entrenado según método CMI. EMI consistió en 5 ensayos con refuerzo; CMI consistió en 5 ensayos sin refuerzo. [Anova (2x5): $F=13.21$, $p<0.005$].

Los resultados de la sesión de evaluación están ilustrados en la Figura 4. La observación de estas curvas indica que los niveles de condicionamiento logrados con ambos métodos son muy similares. Los valores de las latencias a lo largo de los sucesivos ensayos durante la evaluación es típica del condicionamiento alimentario en *Chasmagnathus* (Dimant, 1991,1992; Tomsic, 1995). En el primer ensayo no hay diferencia entre los grupos experimental y control, mientras que en el segundo la diferencia es manifiesta. Esto indicaría que el primer ensayo obra como recordatorio. En los ensayos

posteriores las diferencias tiende a desvanecerse, ya sea por extinción o por habituación en el grupo experimental, debido a que durante la sesión de evaluación no hay refuerzo. Por esta razón, en la totalidad de los restantes experimentos de esta tesis que versan sobre condicionamiento apetitivo, el análisis estadístico se limitará al ensayo número dos. Comparaciones planeadas sobre estos datos, indicaron que no hay diferencia significativa para CMI vs EMI o para CMC vs EMC en el primer ensayo, mientras que las diferencias resultaron altamente significativas cuando el análisis se centró en el ensayo número dos $F=9.46$, $p<0.005$, y $F=6.69$, $p<0.025$; para las comparaciones entre grupos MI y MC, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas para CMC vs CMI o para EMC vs EMI.

SESION DE EVALUACION

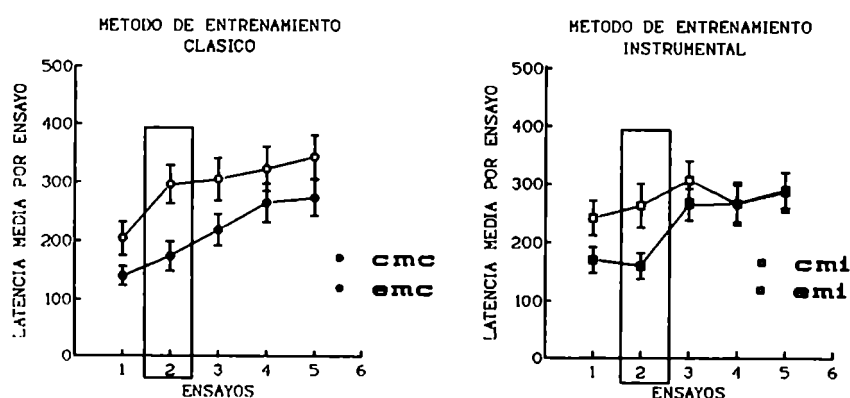


Figura 4: Curso de los valores de la latencia durante la sesión de evaluación de 5 ensayos. Comparaciones planeadas sobre el valor del ensayo 2 (recuadro) indicaron diferencias significativas para CMI vs EMI y para CMC vs EMC ($F=9.46$ y $F=6.69$, respectivamente).

La contingencia del método clásico parece ser entonces tan eficiente como la del método instrumental. Es decir, la sola presentación de la comida unida al conjunto de estímulos de la caja de elección, produce una activación de la respuesta exploratoria condicionada a dichos estímulos, que persiste al menos por 24 hs. Puede suponerse, por lo tanto, que la contingencia determinante del condicionamiento apetitivo en *Chasmagnathus* no es instrumental sino clásica aún cuando se haya usado el método instrumental de entrenamiento.

EXPERIMENTO 2

Ciento veinte cangrejos fueron entrenados con el método instrumental, distribuyéndose al azar en tres grupos de cuarenta cada uno, identificados como CMI, EMI y ECO. Los grupos CMI y EMI fueron idénticos a aquellos señalados con el mismo nombre en el experimento anterior, es decir, los animales eran colocados en CO al comienzo de cada uno de los cinco ensayos de entrenamiento y se registraba cada pasaje CO -> CC, premiándose a EMI con un pellet en CC. El grupo ECO era idéntico a EMI en todos los aspectos, salvo en que el pellet de cada ensayo era colocado en CO inmediatamente después de terminar el ensayo (al comenzar el intervalo entre ensayos). Por lo tanto, para estos cangrejos no se requería pasar a CC para obtener comida. A las 24 hs los tres grupos recibían dos ensayos de evaluación.

Resultados y Discusión

Cuando se analizan las latencias durante el entrenamiento (Figura 5a), lo más evidente es la diferencia entre EMI y ECO. Como era de esperar, las latencias de ECO fueron claramente superiores a las de EMI, ya que en muchos casos los animales del grupo ECO no dejaban CO, quedando a la espera del refuerzo en ese compartimiento. Un test de comparaciones planeadas sobre estos datos (bloque de cinco ensayos), reveló diferencias significativas entre los tres grupos (a: EMI VS CMI, $F=4.25$, $p<0.05$; b: EMI vs ECO, $F=44.7$, $p<0.005$; c: ECO vs CMI, $F=21.4$, $p<0.005$).

En la Figura 5b se ilustran los resultados correspondientes al ensayo de evaluación número dos. Comparaciones planeadas sobre estos datos indican que no hay diferencias significativas entre latencias para EMI vs ECO pero que ambos son estadísticamente diferentes al control CMI (a: $F=7.5$, $p<0.025$ y c: $F=5.07$, $p<0.05$; respectivamente). Es decir, la actividad exploratoria aparece igualmente aumentada (menor latencia), respecto al control, en aquellos grupos que fueron premiados en la caja de elección (EMI y ECO). Esto se produce con independencia de que el refuerzo haya sido dado en CC o en CO, o de que haya habido o no una estricta contingencia entre la respuesta CO \rightarrow CC y el refuerzo. La contingencia estaría entonces dada por la relación entre caja de elección y el refuerzo y no entre una respuesta y el refuerzo, ni entre un compartimiento de la caja y el refuerzo.

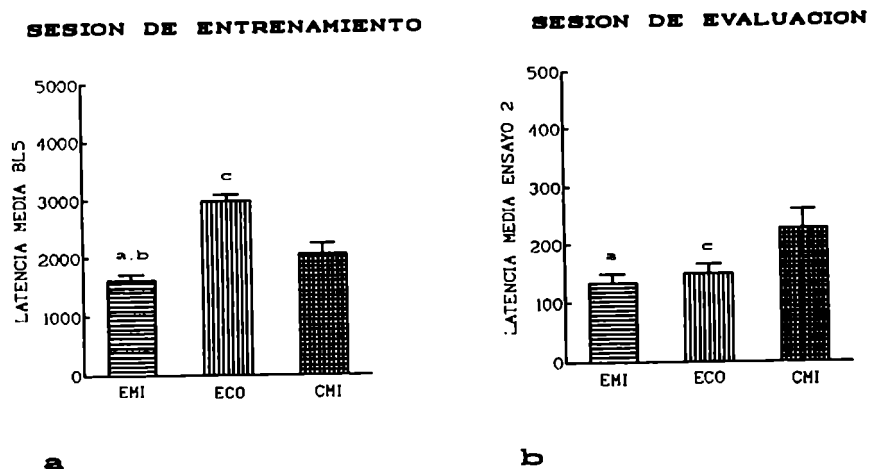


Figura 5: Efecto del entrenamiento diferencial ECO y EMI.

a) Resultados de la sesión de entrenamiento para un bloque de los 5 ensayos que reveló diferencias significativas entre los tres grupos. (Comparaciones planeadas); b) Resultados de la sesión de evaluación. Un test de comparaciones planeadas sobre el ensayo 2 indicó diferencias significativas tanto para EMI como ECO respecto al control CMI ($F=7.5$, $p<0.025$ y $F=5.07$, $p<0.025$, respectivamente.)

CONCLUSION

Los resultados de estos experimentos constituyen evidencias que conducen a una misma conclusión: el condicionamiento alimentario de *Chasmagnathus* depende fundamentalmente de una contingencia clásica, es decir, una contingencia entre un conjunto de estímulos, EC (la caja de elección) y EI (el refuerzo). Indagar acerca del peso que EI puede tener *per se* sobre la actividad exploratoria, así como cuales son los estímulos relevantes dentro de ese complejo que llamamos caja de elección, constituyen temas de investigación que desarrollaremos más adelante.

CAPITULO 4. EL ESTIMULO INCONDICIONADO. EFECTO DEL ALIMENTO SOBRE LA ACTIVIDAD EXPLORATORIA

INTRODUCCIÓN

La respuesta condicionada del proceso asociativo que estamos estudiando implica un aumento de la actividad exploratoria (una reducción de la latencia). La hipótesis básica es que ese incremento en la actividad está determinado por una contingencia clásica EC-EI y no es el efecto de alguno de esos estímulos presentados aisladamente o presentados en conjunto pero de manera no contigua. La posibilidad de que EC induzca *per se* una reducción de la latencia durante la evaluación queda excluida por los resultados obtenidos con los grupos controles (CMI o CMC, capítulo 3). Resta sin embargo, preguntarse si EI *per se* podría provocar un aumento persistente de la actividad exploratoria (al menos por 24 hs), es decir, si la ingesta de alimento podría ser la causa de las menores latencias observadas en los grupos experimentales (EMI o EMC) durante la evaluación. De ser así, una explicación de los resultados en términos sólo de aprendizaje asociativo quedaría cuestionada, con el agravante que en el entrenamiento clásico (MC) no se puede observar el curso de la adquisición de la respuesta condicionada (Figura 3).

Experimentos previos con este paradigma (Dimant, 1991) demostraron que un grupo control alimentado luego del entrenamiento, en recipientes diferentes a los de una caja de elección, presentaron durante la evaluación niveles de latencia significativamente mayores que los del respectivo grupo

experimental. Sin embargo, esas latencias fueron en muchos casos significativamente menores que las de un control corriente (CMI), es decir, menores que un grupo control que no era alimentado después del entrenamiento. Por lo tanto, el alimento parece tener algún efecto activador sobre la locomoción, aunque no podría explicar totalmente la reducción de la latencia en los grupos experimentales luego de 24 hs.

El propósito del presente capítulo es evaluar la magnitud y estudiar las características de este efecto activador que aunque persistente, no es mnésico (o al menos no es explicable en términos de aprendizaje apetitivamente motivado). Por otra parte, resultaría de utilidad desde el punto de vista metodológico, contar con un adecuado control de la contingencia que uno supone determinante del aprendizaje, para lo cual el alimento no debería tener efecto significativo sobre el desempeño. Podemos mencionar dos hipótesis para explicar el efecto potenciador del alimento sobre la actividad exploratoria. Conforme a una de ellas, la ingesta de comida podría inducir un incremento metabólico generalizado que se traduciría, entre otras variables, en un aumento de la actividad locomotora y por lo tanto en una disminución persistente de las latencias en la caja de elección. Conforme a otra hipótesis, la ingesta de alimento podría operar como desencadenante de una actividad locomotora rítmica circadiana, es decir, circunscrita a aquél período horario del día en que se dio la comida.

En relación a la primera hipótesis, J. C. Wallace (1973) estudió la relación entre el ayuno, la alimentación y la tasa

metabólica en el cangrejo costero *Carcinus maenas*, así como Cervino et al., (1995) lo hicieron en *Chasmagnathus granulatus*. Si bien los animales son tolerantes frente a un amplio rango de condiciones ambientales, el metabolismo se ve afectado por estas variables principalmente por la cantidad de alimento disponible. Salvando diferencias entre las especies analizadas, así como metodológicas, los resultados fueron similares. Varias mediciones de la tasa metabólica mostraron que, 16 hs después de la comida, la tasa aumentaba un 44 % para *Carcinus* y un 78 % para *Chasmagnathus*; a las 42 hs se mantenía un 18 % por encima del valor pre-ingesta y que sólo se alcanzaba el nivel normal a los 5 días. Una observación generalizada en estos estudios con animales de pequeña talla, señala que la variabilidad en la ingesta de comida y por lo tanto la variabilidad en la tasa metabólica es grande aún para períodos de ayuno relativamente breves.

La otra línea de investigación, ha estudiado el efecto circadiano del alimento sobre la actividad locomotora. Se acepta comúnmente que los ritmos biológicos resultan de una interacción entre mecanismos endógenos de *timing* y una serie compleja de factores ambientales (Pittendrigh, 1981), entre los que se contaría la ingesta de comida (Boulos y Terman, 1980). Así en mamíferos, se han descrito interacciones del alimento con ritmos endógenos y ciclos de luz-oscuridad (Stephan, 1986; Hau y Gwinner, 1992; Jilge, 1992), y en invertebrados, la interacción del alimento con el sentido del tiempo se conoce desde trabajos muy anteriores (Kolterman, 1971; Page y Larimer, 1972). Recientemente, se ha demostrado en la langosta de río,

que la ingesta de alimento controla la fase de un ritmo de actividad locomotora que reaparece cada 24 hs durante dos semanas (Fernandez de Miguel y Aréchiga, 1994).

Por lo tanto, el objetivo de los experimentos siguientes fue explorar la posibilidad de que el alimento produzca una disminución en las latencias durante la evaluación, ya sea debido a un aumento generalizado de la tasa metabólica o a un incremento en la actividad locomotora provocado por una coincidencia circadiana entre el momento de la evaluación y el momento de la ingesta.

Efecto directo del alimento (Metabólico)

Para evaluar exclusivamente el efecto directo de la ingesta es necesario presentar la comida independientemente del EC, es decir, en un contexto diferente al de la caja de elección. Con tal propósito, en los siguientes experimentos de este capítulo, la comida era ofrecida a los animales en bidones individuales, consistentes en cilindros de plástico transparente (17 cm de diámetro, 15 cm de altura) con una iluminación similar a la de las cajas de elección y el piso cubierto por una capa de agua de 1 cm. Se evaluó el efecto de la ingesta a distintos tiempos de ayuno.

Métodos

Se llevaron a cabo una serie de cuatro experimentos luego de 24, 72, 144 y 240 hs de ayuno respectivamente. Cada

experimento incluía un grupo experimental y un grupo control (n=40). Con el objetivo de homogeneizar los dos grupos, los cangrejos pasaban por un sólo ensayo de 10 min en la caja de elección, registrándose las latencias CO -> CC. Luego se los asignaba conforme al programa de un ordenador a un grupo experimental o a uno control, de manera de asegurar una mínima diferencia entre medias. Inmediatamente después de este ensayo **homogeneizador**, los animales eran alojados en forma individual por una hora en los bidones, donde los experimentales pero no los controles encontraban 5 pellets de comida. A continuación todos los animales eran ubicados en sus tanques de mantenimiento en el cangrejario y sometidos 24 hs después a dos ensayos de evaluación en las cajas de elección.

Resultados y Discusión

Las latencias para cada grupo durante los dos ensayos de evaluación se presentan en la Figura 6a. Un t-test sobre los datos de cada par de grupos arrojó diferencias significativas entre experimental y control para ayunos de 72 y 240 hs, ($t=2.53$, $p < 0.025$; $t=4.48$, $p < 0.005$; respectivamente) mientras que no fueron significativas las diferencias para 24 y 144 hs. Una replicación del experimento de 72 hs (Fig. 6b) no reveló diferencias significativas entre grupos. Debe destacarse, sin embargo, que en todos los casos la latencia media de los grupos alimentados fue menor que la de los no alimentados.

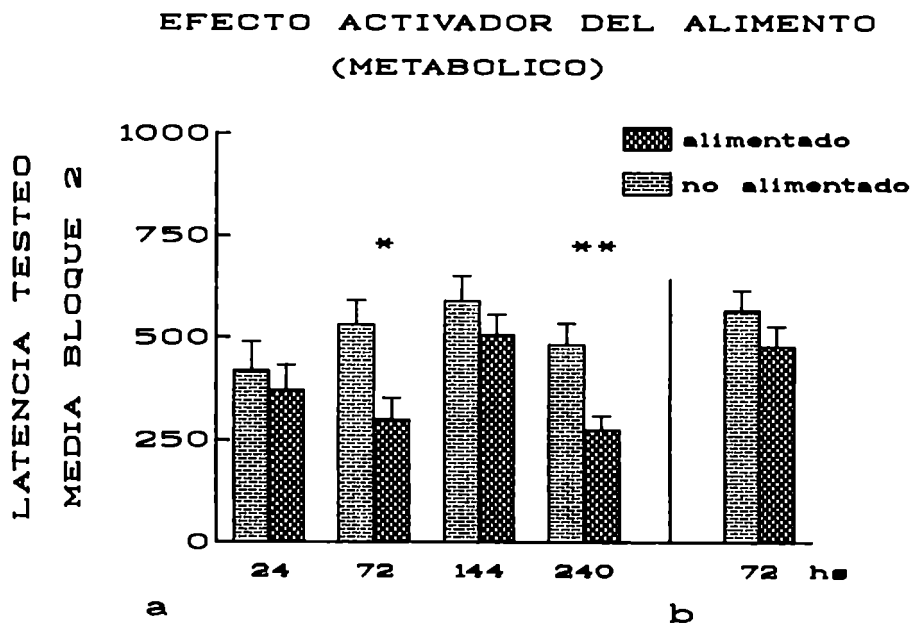


Figura 6: a) Efecto metabólico del alimento a diferentes tiempos de ayuno: 24, 72, 144 y 240 horas. Un t-test sobre el bloque de 2 ensayos de la sesión de evaluación arrojó diferencias significativas para 72 y 240 hs ($\dagger p < 0.025$; $\ddagger p < 0.005$); b) Se repitió el experimento para un tiempo de ayuno de 72 hs y no se encontró efecto del alimento.

Estos resultados sugieren que el alimento puede tener un efecto activador sobre la exploración en la caja de elección (reducción de latencias desde CO \rightarrow CC). No obstante, tal efecto no parece ser consistente, es decir, estaría bajo la influencia de factores que no alcanzamos a controlar, como lo indica el hecho que dos experimentos con el mismo tiempo de ayuno revelan en un caso el efecto y en otro no (Fig. 6b). Por otra parte la activación no parece claramente modulada por el tiempo de ayuno.

Efecto activador del alimento (Ritmo circadiano)

Estos experimentos fueron diseñados para poner a prueba

la posibilidad de que el supuesto efecto activador de la ingesta aparezca a las 24 hs pero no a períodos no circadianos. Es decir, se trata de evaluar la hipótesis circadiana de la reducción de las latencias por la comida.

Métodos

Después de 72 hs de ayuno, 160 cangrejos fueron asignados a 4 grupos de 40 animales cada uno. Los cangrejos de dos grupos (grupos AL) fueron individualmente ubicados en los bidones (Expto. 1) por una hora y alimentados durante ese lapso con 5 pellets de conejo, mientras que aquellos de los otros dos grupos (grupos CTL) permanecieron en los bidones por el mismo lapso pero no recibieron comida. Un grupo AL y un grupo CTL tuvieron dos ensayos de evaluación en las cajas de elección 24 horas después de haber estado en los bidones (AL-24 y CTL-24), mientras que los otros grupos fueron evaluados a las 18 horas (AL-18 y CTL-18). Durante el período entre bidón y caja de elección, los animales permanecieron en los tanques del cangrejario. Estos 4 tratamientos se repitieron a lo largo del día, desde las 08:00 hasta las 24:00.

Resultados y discusión

Los resultados correspondientes a los dos ensayos de la evaluación están ilustrados en la Figura 7. Una simple inspección de esta Figura sugiere que ha existido un efecto activador de la comida, pero que tal efecto no parece depender del período circadiano. Comparaciones planeadas sobre estos datos confirmaron esa impresión. Hubo una diferencia

significativa tanto para AL-24 vs CTL-24 como para AL-18 vs CTL-18 ($F=9.9$, $p < 0.005$; $F=4.7$, $p < 0.05$; respectivamente) pero no en las comparaciones entre AL-24 y AL-18 o entre CTL-24 y CTL-18.

En una replicación de este experimento con una población obtenida de otro esfuerzo de captura (datos no presentados), no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa entre ninguna de las comparaciones. Es decir, no hubo aparentemente efecto activador de la comida con independencia del intervalo alimento-evaluación.

**EFFECTO ACTIVADOR DEL ALIMENTO
(RITMO CIRCADIANO)**

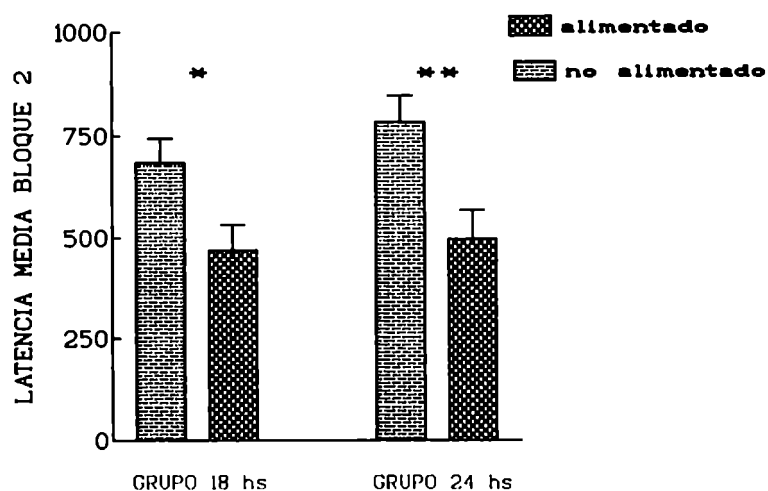


Figura 7: Efecto del alimento sobre ritmo circadiano de locomoción. Grupo 18: 18 hs de intervalo entre ingesta y evaluación. Grupo 24: 24 hs de intervalo entre ingesta y evaluación. Comparaciones planeadas sobre el bloque de 2 ensayos de la evaluación muestran un efecto significativo del alimento pero no del intervalo ingesta-evaluación. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.005$)

En resumen, la congruencia o incongruencia entre la hora en que los animales comen y aquella en que son evaluados no marca una diferencia en la actividad exploratoria dentro de la caja en el momento de la evaluación. O sea, una sola

alimentación 24h antes de la evaluación no parece ser condición suficiente para imponer en *Chasmagnathus* un ritmo circadiano de exploración.

DISCUSION GENERAL

Los resultados de este capítulo indicarían que parte de la reducción en las latencias de CO -> CC observadas después de 24 hs de una sesión de entrenamiento podría deberse al efecto del alimento y no a un proceso mnésico asociativo. Este efecto activador parece estar mediado por un incremento en la tasa metabólica, sin vinculación con el gatillado de un ritmo circadiano de actividad y no depender claramente del tiempo de ayuno previo a la comida.

Por lo tanto, sería de crucial importancia controlar en los experimentos de condicionamiento apetitivamente motivado con *Chasmagnathus*, el peso del efecto alimento sobre la actividad exploratoria durante la evaluación, estimando en cada caso el componente asociativo y el componente activador sobre la reducción de las latencias CO -> CC.

Resultaría esperable que bajo condiciones de un ayuno controlado, el desempeño de los animales que reciben el refuerzo en un arreglo típicamente pareado y en íntima contigüidad debería diferenciarse de la de aquellos que son alimentados fuera de la caja. La de estos últimos debería asemejarse a la de los animales que se habitúan a la caja de elección y no son alimentados. El componente refuerzo se evaluaría teniendo en cuenta las latencias en un grupo sin contigüidad temporal entre EC (caja de elección) y EI (comida).

CAPITULO 5. EL APRENDIZAJE APETITIVO Y HABITUACION
EXPLORATORIA. CONTINGENCIA Y CONTIGÜIDAD.

INTRODUCCIÓN. PROCESOS MNESICOS CONTINGENTES.

La mayoría de los experimentos de aprendizaje involucra el análisis específico de sólo una tarea, pero es posible que muchas situaciones de entrenamiento involucren la adquisición de más de un comportamiento (Izquierdo y Cavalheiro, 1976).

En la medida que todo proceso de aprendizaje se basa en la presentación de nuevas contingencias de estímulos, el condicionamiento estaría inevitablemente acompañado por una habituación exploratoria contingente. De esta manera, cuando un animal explora, aprendiendo el valor positivo o negativo de algunos elementos del entorno, su comportamiento se modifica de acuerdo a la experiencia sumándose al aprendizaje acerca del contexto adquirido simultáneamente.

Un ejemplo de tareas adquiridas simultáneamente, lo constituye el **paradigma de búsqueda de agua** estudiado por Tenen (1965) y Le Moal et al., (1984). Netto et al., (1986) demostraron que este aprendizaje constituía un ejemplo de tareas simultáneamente adquiridas. Entrenaron un grupo de ratas no sedientas en la tarea de búsqueda no motivada de agua. Los animales eran colocados durante dos minutos en una arena donde había un bebedero conteniendo agua aunque ningún animal bebía del mismo. Luego se las trasladaba a sus jaulas originales y al cabo de 24 horas sin agua eran evaluadas en la misma arena. Paralelamente, un segundo grupo de ratas seguía la misma

secuencia de eventos pero tomaba agua antes de la evaluación, mientras que un tercer grupo no tenía experiencia en la arena. Durante la evaluación, los primeros dos grupos, es decir los que habían experimentado la arena mostraban respuesta de *rearing* menor que la del tercer grupo, sugiriendo así habituación de la exploración (Rodgers et al., 1984). Sin embargo, las latencias para acceder al bebedero eran menores para el primer grupo que para el segundo y tercero. Se concluyó entonces que, los dos grupos experimentales (primero y segundo) habían adquirido simultáneamente una respuesta habituada y una respuesta condicionada, esta última sólo manifiesta en el grupo sediento (primero) al momento de la evaluación. Estudios adicionales (Izquierdo et al., 1980, 1981, 1984) destacaron, con otra aproximación experimental, la independencia entre los dos aprendizajes, a pesar de su simultaneidad durante la adquisición. Se demostró que la administración post-entrenamiento de β -endorfina, leu-encefalina o de un shock electroconvulsivo, es decir de agentes que interfieren con el procesamiento de la novedad (Izquierdo y Netto 1985), reducían la retención de la habituación de la exploración (aumentaba el *rearing* durante la evaluación), pero no afectaban la retención del aprendizaje asociativo ya que los grupos sedientos presentaban bajas latencias durante la evaluación.

Una idea peculiar que se deduce del análisis de este paradigma y en general de la habituación contingente con otros procesos mnésicos, es que el aprendizaje asociativo simultáneamente adquirido resulta meramente accidental a la exploración y subsiguiente a la habituación de la exploración.

No implicaría aprender algo nuevo acerca del ambiente, sino más bien la utilización de información general obtenida de manera casual en el curso de la exploración y la habituación.

A esta altura del análisis, cabe preguntarse si en el caso del condicionamiento apetitivo con *Chasmagnathus* se da también la simultaneidad de los dos aprendizajes, tal como lo sugiere el planteo inicial de este capítulo según el cual todo condicionamiento implica una habituación exploratoria, inevitable y contingente. Es decir, si el cangrejo que aprende a asociar caja-comida, aprenda al mismo tiempo que la caja no es más una novedad (Dimant, 1991). La dificultad en el presente caso es que, a diferencia de los experimentos anteriores con aprendizaje de búsqueda de agua en ratas, los dos aprendizajes se miden aquí mediante una misma variable comportamental: la latencia CO \rightarrow CC. Por lo tanto decimos que un grupo de cangrejos se ha habituado a la caja porque medimos latencias mayores, y que otro grupo ha aprendido a asociar caja-comida porque medimos latencias más breves. No podemos asegurar, no obstante, si el decremento de las latencias se debe a que la expresión de la habituación es suprimida por la del condicionamiento, o a que durante el entrenamiento la adquisición de la respuesta condicionada impidió la de la respuesta habituada.

Creemos que nuestro diseño experimental constituye un buen modelo para evaluar esta pregunta. Hay indicios que sugieren que la habituación de la exploración y el condicionamiento apetitivamente motivado coexisten en un mismo cangrejo (Dimant 1991), así como evidencias de que pueden adquirirse ambos

aprendizajes (Figura 3). En las condiciones habituales de evaluación resulta muy difícil separar ambos fenómenos. Sin embargo, una aproximación diferente que quizás pueda esclarecer la relación entre los dos procesos, consistiría en intentar una separación temporal de los mismos, es decir, permitir primero la habituación al contexto y presentar luego de manera contigua el refuerzo en un contexto diferente. Los acontecimientos cercanos en el tiempo y precedentes al reforzamiento podrían convertirse a través de la experiencia en significativos y anticipatorios de dicho reforzamiento (Rescorla, 1988).

La obtención de un condicionamiento en estas condiciones parece *prima facie* improbable, ya que una abundante bibliografía indica que el aprendizaje asociativo requiere de una pequeña asincronía temporal en la cual el EC precede al EI por un corto intervalo de tiempo. Los intervalos interestímulo generalmente observados en vertebrados están en el rango de 1-3 seg (Rescorla 1988), y para el aprendizaje apetitivo en la abeja, Menzel y Bittermman (1983) y Klein y Hammer (1993), encontraron un condicionamiento efectivo con intervalos interestímulos semejantes, en el orden de unos pocos segundos. Sin embargo, como se mencionó en la Introducción de esta tesis, no existe un intervalo temporal absoluto que produzca el condicionamiento óptimo. Diferentes preparaciones comparten la forma general de la función y no los valores absolutos (Rescorla, 1988). Así, las escalas temporales y los óptimos se miden en milisegundos o segundos y muy excepcionalmente en minutos u horas para otras. Sin embargo, se dan situaciones de aprendizaje en las que efectivamente la asociación puede

tolerar una prolongada dilación entre los eventos. El ejemplo más conocido y largamente estudiado desde el punto de vista del análisis comportamental, es del paradigma de aversión gustativa condicionada. Las ratas aprenden a evitar un alimento que estuvo asociado con síntomas de malestar gastrointestinal, pese a que dichos síntomas aparecieron luego de un largo intervalo (García y Koelling, 1966). Ciertas características de la biología de un animal, principalmente aquellas ligadas a peculiaridades en sus estrategias alimentarias, explicarían en términos de valor adaptativo varios otros ejemplos de aprendizaje asociativo con largos intervalos entre EC y EI.

Por lo tanto, los experimentos de este capítulo están dirigidos a explorar la tolerancia del condicionamiento alimentario de *Chasmagnathus* a dilaciones entre los estímulos de la contingencia clásica. La hipótesis de trabajo es que si la permanencia en la caja sin alimento fuera seguida inmediatamente por la presentación del refuerzo en otro contexto, el cangrejo aprendería a asociar caja-alimento y presentaría cortas latencias en la evaluación. A medida que se extendiera el intervalo entre las dos experiencias, podría debilitarse el condicionamiento y aumentarían las latencias durante la evaluación. En otros términos, a intervalos cortos, el condicionamiento se impondría a la habituación exploratoria, mientras que a intervalos largos, la habituación a la caja sería más fuerte que el aprendizaje asociativo.

De confirmarse esta hipótesis, los resultados tendrían un doble interés. Primero, cambios en la longitud del intervalo EC-EI permitirían evaluar el peso del componente ingesta de

alimento (EI) con relación al del componente asociativo (EC-EI) sobre el nivel de la actividad exploratoria. Segundo, el estudio de este proceso mnésico cobraría nuevo atractivo, puesto que los mecanismos que sirven a una asociación retardada no son conocidos y resulta un tanto difícil de conciliarlos con lo que se postula para explicar las propiedades asociativas a nivel celular o molecular.

Efecto del refuerzo inmediato sobre el condicionamiento y la habituación

EXPERIMENTO 1

Método

Veinticuatro horas previas al experimento, se seleccionaron 120 cangrejos y se alimentaron *ad libitum* con pellets de conejo. Los animales fueron sometidos inmediatamente antes del entrenamiento a un ensayo homogeneizador (ver pag. 56). Se formaron tres grupos de tratamiento que identificamos como CON-0, HAB y SIM (n=40). Los tres grupos permanecieron durante 1:30 hs en la caja de elección (fase caja) e inmediatamente después fueron colocados individualmente por 1 h en los bidones de plástico transparente (fase bidón). El grupo SIM (simultáneo) encontraba 5 pellets en CC durante la fase caja (grupo de condicionamiento alimentario entrenado con el método clásico); el grupo CON-0 (contiguo) encontraba los pellets en el bidón durante la fase bidón; y el grupo HAB

(**habituado**) no era alimentado en ninguna de las dos fases (grupo control del método clásico, EMC). Todos los animales eran sometidos a una misma sesión de evaluación de 2 ensayos, 24 horas después del entrenamiento.

Resultados

Los resultados de la evaluación se muestran en la Fig 8. Comparaciones planeadas sobre los datos del ensayo 2 descubrieron diferencias significativas tanto para **HAB** vs **SIM** ($F=12.02$, $p<0.005$) como para **HAB** vs **CON-0** ($F=7.7$, $p<0.025$) pero no entre los grupos **SIM** y **CON-0**.

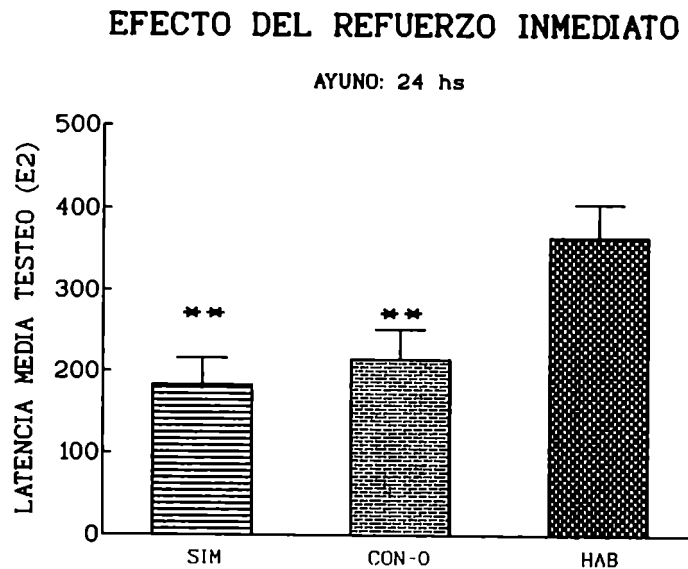


Figura 8: Efecto del refuerzo inmediato. **SIM** que come simultáneamente a la experiencia en fase caja; **CON-0** que come en estrecha contigüidad (tiempo 0) pero en la fase bidón; **HAB** no come pero permanece el mismo tiempo tanto en la fase caja como en la fase bidón. Un test de comparaciones planeadas sobre el ensayo 2 de la evaluación mostro diferencias significativas tanto para **HAB** contra **SIM** como para **HAB** contra **CON-0**, (** $p<0.005$). Periodo de ayuno de 24 hs.

EXPERIMENTO 2

Método

Se usó un diseño idéntico al del experimento anterior, pero a fin de evaluar la incidencia del ayuno, los cangrejos fueron alimentados cinco días en lugar de un día antes de la sesión de entrenamiento.

Resultados

La Fig 9 ilustra los resultados que fueron en un todo similares a los del experimento anterior. Comparaciones planeadas sobre los datos del ensayo 2 revelaron diferencias significativas tanto para HAB vs SIM ($F=17.8$, $p<0.005$) como para HAB vs CON-0 ($F=7.7$, $p<0.025$ pero no entre los grupos SIM y CON-0).

EFECTO DEL REFUERZO INMEDIATO

AYUNO: 5 Días

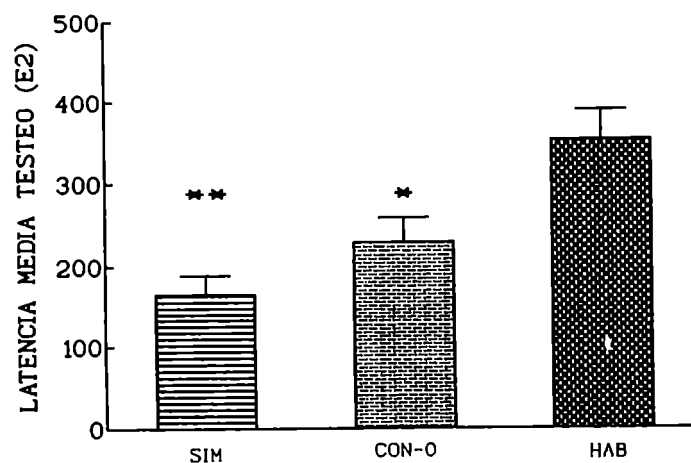


Figura 9: Efecto del refuerzo inmediato. Grupos SIM, CON-0 y HAB luego de un período de ayuno de 5 días. Comparaciones planeadas sobre el ensayo 2 de la sesión de evaluación mostró diferencias significativas tanto para HAB contra SIM, como para HAB contra CON-0, ($*p<0.025$, $**p<0.005$).

DISCUSIÓN

Los resultados de ambos experimentos coinciden en señalar:

- 1) que el debilitamiento de la contigüidad temporal en la contingencia contexto-refuerzo no impide la formación del condicionamiento apetitivo;
- 2) que el condicionamiento apetitivo se impone retroactivamente a una habituación exploratoria, ya sea anulando aquel aprendizaje o enmascarando su expresión;
- 3) que estos efectos no parecen tener relación con la cantidad de días de ayuno que precedieron al experimento.

Sin embargo, estos resultados no descartan la posibilidad de que la reducción de latencias mostrada en la evaluación por CON-0 sea total o parcialmente explicada por el efecto activador de la ingesta de comida. Con el propósito de dilucidar este punto se llevaron a cabo los experimentos de la siguiente sección.

Efecto del refuerzo diferido sobre el condicionamiento y la habituación

La hipótesis de la contigüidad predice una función no-monotónica del tiempo que EC precede a EI. Para intervalos muy largos o muy cortos el condicionamiento es pobre, pero existe un rango de intervalos efectivos. Con intervalos caja-comida cada vez más prolongados se llegaría a un punto tal en que el condicionamiento sería muy pobre y prevalecería la habituación

exploratoria, determinando latencias largas. Por el contrario, si las bajas latencias durante la evaluación son sólo explicables por el efecto del componente activador de la comida, en ningún caso prevalecería la habituación exploratoria, determinando latencias siempre cortas en comparación a un grupo no alimentado.

EXPERIMENTO 3

Método:

El diseño experimental fue similar al usado en el Experimento 1, excepto que la fase bidón se extendió por espacio de 2 hs, formándose 3 grupos: CON-1; SIM; y HAB (n=40). Al grupo CON-1 se le colocaron 5 pellets en los bidones luego de permanecer por espacio de 1 hora en la fase bidón; SIM encontró los pellets en la fase caja y el grupo HAB no fue alimentado en ninguna de las dos fases. Los cangrejos habían sido alimentados *ad libitum* 24 horas antes del entrenamiento.

Resultados

Los resultados están ilustrados en la Fig 10. Comparaciones planeadas sobre los datos del ensayo 2 revelaron diferencias significativas tanto para SIM vs HAB (a: $F=6.2$, $p<0.025$) como para SIM vs CON-1 (b: $F=4.8$, $p<0.05$) pero no entre los grupos HAB y CON-1.

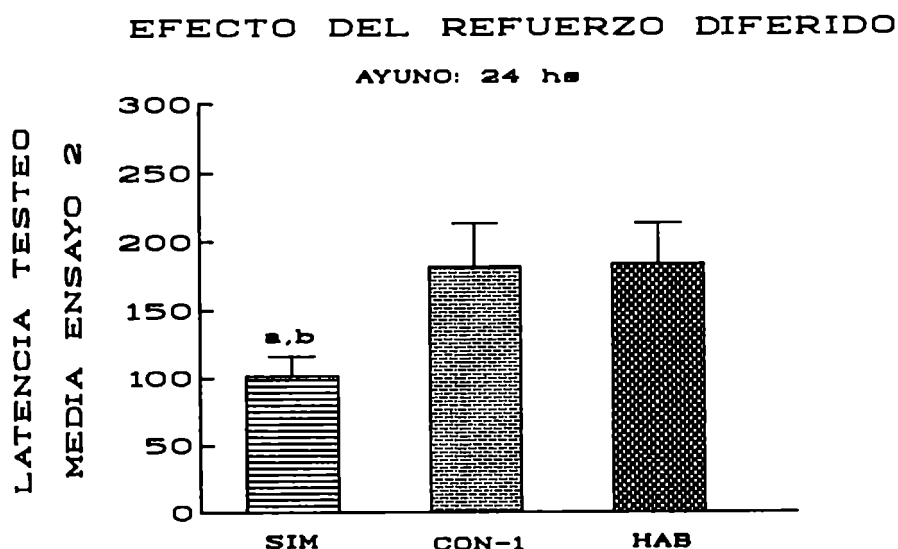


Figura 10: Efecto del refuerzo diferido. SIM come simultaneamente a la experiencia en la fase caja; CON-1 que recibe el refuerzo luego de 1h en la fase bidón; HAB que no come pero permanece el mismo tiempo en la fase caja y en la fase bidón. Un test de comparaciones planeadas sobre el ensayo 2 de la sesión de evaluación mostró diferencias significativas tanto para SIM contra HAB ($p < 0.025$), como para SIM contra CON-1 ($p < 0.05$). Periodo de ayuno 24 hs.

EXPERIMENTO 4

Se usó un diseño experimental de 3 grupos ($n=40$): (CON-5; SIM; HAB) idéntico al del experimento anterior, pero con una fase bidón de 6 hs, colocándole al grupo CON-5 los 5 pellets inmediatamente después de una permanencia de 5 horas en los bidones.

Resultados

Los resultados están ilustrados en la Fig. 11. Comparaciones planeadas sobre los datos del ensayo 2 revelaron diferencias significativas tanto para SIM vs HAB (a: $F=8.03$, $p < 0.025$) como para SIM vs CON-5 (b: $F=5.3$, $p < 0.025$) pero no entre los grupos HAB y CON-5.

EFECTO DEL REFUERZO DIFERIDO

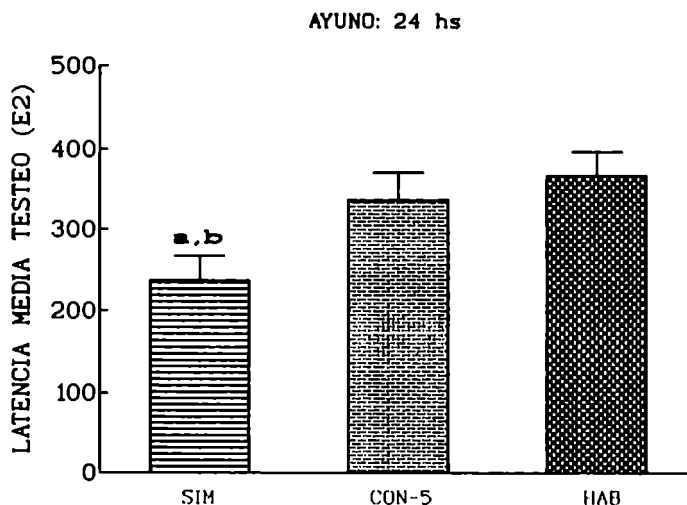


Figura 11: Efecto del refuerzo diferido. SIM come simultaneamente a la experiencia en la fase caja; CON-5 que recibe el refuerzo luego de 5 hs en la fase bidón; y HAB no come pero permanece el mismo tiempo en la fase caja y en la fase bidón. Un test de comparaciones planeadas sobre el ensayo 2 de la sesión de evaluación mostró diferencias significativas tanto para SIM contra HAB ($p < 0.025$), como para SIM contra CON-5 ($p < 0.025$). Periodo de ayuno 24 hs.

EXPERIMENTO 5

Método:

Se llevo a cabo un experimento idéntico al Exp. 4 pero se modificó el cronograma de ingesta, alimentando a los animales cinco días antes del entrenamiento.

Resultados

Los resultados se exponen en la Fig 12. Comparaciones planeadas sobre los datos del ensayo 2 revelaron diferencias significativas tanto para SIM vs HAB (a: $F=4.4$, $p < 0.05$) como para SIM vs CON-5 (b: $F=9.07$, $p < 0.005$) pero no entre los grupos HAB y CON-5.

EFFECTO DEL REFUERZO DIFERIDO
AYUNO: 5 días

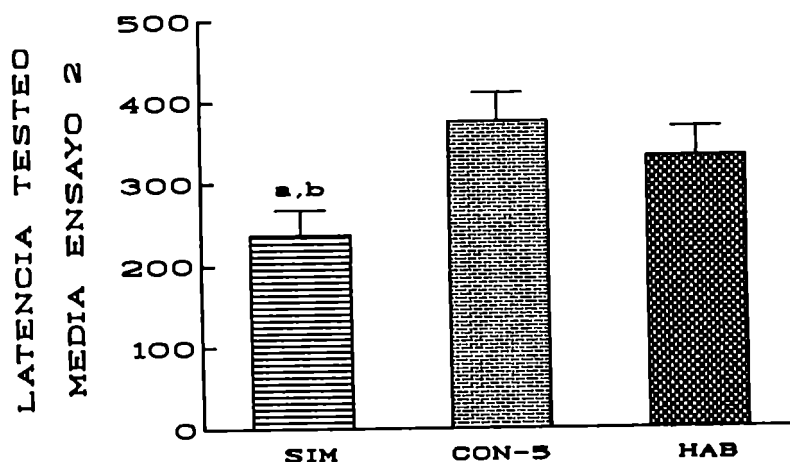


Figura 12: Efecto del refuerzo diferido. Grupos SIM, CON-5 y HAB luego de un periodo de ayuno de 5 días. Un test de comparaciones planeadas sobre el ensayo 2 de la sesión de evaluación mostró diferencias significativas tanto para SIM contra HAB ($p < 0.05$), como para SIM contra CON-5 ($p < 0.005$). Periodo de ayuno: 5 días.

DISCUSION GENERAL

Los resultados de este capítulo están de acuerdo con las predicciones de la hipótesis de la contigüidad. El condicionamiento alimentario de *Chasmagnathus* soporta una extensión del intervalo contexto-comida. Sin embargo, cuando esa dilación es al menos igual a una hora, la asociación EC-EI no se sostiene y reaparece la habituación exploratoria que se expresa por un aumento de la latencia. En otros términos, solo la asociación contexto-comida y no el probable efecto activador de la ingesta, puede superar la tendencia a disminuir la actividad exploratoria motivada por la habituación al contexto

de manera significativa.

Esta conclusión es de crucial importancia, ya que aleja la posibilidad de explicar las cortas latencias de los grupos experimentales en términos distintos a los de una asociación contexto-comida. Por lo tanto, será siempre oportuno incluir en el diseño experimental, con la categoría de control, a un grupo que sea primero habituado a la caja de elección y luego de una hora o más, alimentado en otro contexto. Este tipo de control es el que corrientemente se usa en experimentos sobre condicionamiento y que se lo conoce como **explícitamente no apareado**, con la particularidad, no obstante, de que en el presente caso el **no apareamiento**, para ser efectivo, debe extenderse por un período inusualmente largo.

No es superfluo resaltar la importancia que, para la investigación de los mecanismos mnésicos, ofrece un paradigma que tolera una prolongación del período EC-EI. Ese retardo implica que el cangrejo almacena una representación de un contexto que es inicialmente neutral o indiferente respecto al refuerzo, pero que por un período es susceptible de ser asociado con una experiencia positiva. Es decir, habría un **tiempo de espera** durante el cual el carácter neutral del contexto puede confirmarse o convertirse en positivo. Un modelo similar aunque con un refuerzo de signo negativo, es el de aversión retardada usado por Barber et al., (1989) para *Gallus domesticus*. El pollito aprende a asociar una bolilla verde con el malestar provocado por una inyección de cloruro de litio dada 30 minutos después. Barber et al (1989) destacó la posibilidad de elucidar muchos aspectos mecanísticos de este

aprendizaje, modificando el momento, con referencia al tiempo de espera, de la administración de un agente amnésico. Así encontró que 2-deoxy-galactosa, una droga que interfiere con la glicosilación de las proteínas, impide el condicionamiento si es administrada durante el tiempo de espera pero no después, lo que sugeriría que la memoria del EC implica ese proceso post-traduccional y además, que la memoria del EC y su asociación posterior con el EI son eventos independientes, en contradicción con el modelo hebbiano de la formación de la memoria.

Un tema relevante con referencia a la habituación a la caja y por ende al condicionamiento alimentario de *Chasmagnathus*, es el del tiempo necesario para la construcción de la memoria del contexto. En los experimentos de esta tesis el tiempo de permanencia en la caja de elección era de 1h y 30 min, pero sería interesante explorar el mínimo requerido para una retención robusta a las 24 horas. La formación de una representación del contexto, sin la cual no sería posible la asociación con un refuerzo posterior, es un proceso complejo que requiere un tiempo de consolidación, como lo sugieren los estudios sobre condicionamiento al miedo contextual (miedo condicionado) (Fanselow, 1990). Datos experimentales indican que una memoria corta del contexto no se puede lograr con exposiciones menores a los dos minutos y que la retención de esa representación por largo tiempo necesita de un proceso de incubación cercano a las 24 horas (Kim, 1992; Rudy y Morledge, 1994).

Sería también interesante explorar el período del

intervalo EC-EI comprendido entre la hora 0 y la primera hora de la fase bidón. Eventualmente a tiempos menores a 1 hora el condicionamiento podría seguir prevaleciendo sobre la habituación.

CAPITULO 6. EL ESTIMULO CONDICIONADO.

INTRODUCCIÓN. LA MEMORIA DEL CONTEXTO.

En el condicionamiento alimentario de *Chasmagnathus* hemos considerado al contexto de la caja de elección como el estímulo condicionado de la contingencia clásica, es decir, como si fuese uno de los eventos fásicos que corrientemente se asocian con un refuerzo. Sin embargo, existen dos puntos de vista diferentes acerca la identificación del contexto en el condicionamiento pavloviano. De acuerdo a una opinión (e.g. Rescorla y Wagner, 1972), el contexto es simplemente la suma de sus elementos (las claves individuales que el animal experimenta, sean visuales, auditivas, olfatorias o táctiles), que tienen las mismas propiedades asociativas que un estímulo condicionado consistente en un evento fásico (un flash de luz o un sonido breve). Conforme a otro punto de vista, los elementos del contexto se incorporan en una representación unitaria, un mapa espacial (Nadel y Willner, 1980; Nadel, et al., 1985), una configuración (Rudy, 1993) o un estereotipo dinámico (Fanselow, 1990; Pavlov, 1962). Por lo tanto, podría esperarse que el condicionamiento a un contexto implicase un mecanismo distinto al de un condicionamiento a un evento fásico. Estudios sobre el papel del hipocampo en el miedo condicionado (*fear conditioning*) de ratas parecen confirmar esa suposición, ya que daños a esa parte del cerebro impiden el condicionamiento del miedo al contexto pero no a un sonido.

Cualquiera sea la interpretación que mejor se corresponda al EC en el condicionamiento alimentario de *Chasmagnathus*, debe esperarse que claves del contexto de distinta modalidad sensorial tengan diferente peso en la asociación. El contexto puede configurar una constelación de estímulos en la que claves de diversa índole tienen diferente asociabilidad o saliencia con el refuerzo positivo (ver Introducción), o puede ser una configuración unitaria a la que las claves contribuyen de manera diferente, con mayor preponderancia de unas sobre otras.

Como primera aproximación a este estudio, exploraremos el papel de las claves visuales en el condicionamiento de *Chasmagnathus*, teniendo en cuenta, la importancia atribuida a la visión en los cangrejos.

EXPERIMENTO 1

El propósito de este experimento fue probar si el condicionamiento de *Chasmagnathus* puede darse en un animal privado de la visión, es decir, si en esas condiciones puede asociar claves tónicas del contexto con el refuerzo.

Método

Los cangrejos fueron privados temporariamente de la visión 24 horas antes del experimento, para lo que se les cubrió los dos ojos mediante tiras elásticas de goma negra. Cada tira (10mm x 30mm) fue pegada por sus extremos sobre el caparazón, dorsalmente en la región protorácica y ventralmente en la región suborbital, de manera que ajustaba el pedúnculo dentro de órbita, tapando así totalmente el ojo. Los animales en esta

condición serán llamados en lo sucesivo **ciegos**, dejando el término de **normales** para identificar a los que tuvieron los ojos destapados. Una vez terminado el experimento, las bandas de goma eran removidas, recuperando los animales su visión normal.

Un grupo de cangrejos ciegos (n=39) (SIM-ciego) fue condicionado conforme al método instrumental, es decir, cinco ensayos con un pellet en CC; y un segundo grupo (n=40) (HAB-ciego) actuó como control, es decir, no recibió refuerzo. Después de 24 horas, todos los animales recibieron los dos ensayos habituales de evaluación.

Resultados y discusión

Durante el entrenamiento, los cangrejos del grupo SIM-ciego comieron sin dificultad los pellets ofrecidos, pero los valores de latencia de ambos grupos fueron levemente superiores a los que habitualmente se encuentran para cangrejos normales. En la Fig 13 se presentan las medias correspondientes al segundo ensayo de evaluación. La diferencia no es significativa (t-test), indicando que los cangrejos ciegos no podrían asociar el contexto con el refuerzo. Una explicación de este resultado en términos de efecto de techo, debido a que la tendencia exploratoria de los ciegos parece algo disminuida, es improbable. En la Figura 13 se pone de manifiesto la gran diferencia que dista entre la media de cada grupo y el nivel de corte (*cut-off*, línea de puntos), así como el pequeño número de cangrejos que no pasan a CC (números entre paréntesis).

Sin embargo, para poder concluir que la falla en la

asociación se debe a la ausencia de las claves visuales del contexto, y no a alguna interferencia con la evaluación del refuerzo, parece más apropiado evaluar en cangrejos ciegos, solamente la habituación al contexto. Por ello, los experimentos siguientes de este capítulo se harán usando el paradigma de habituación exploratoria.

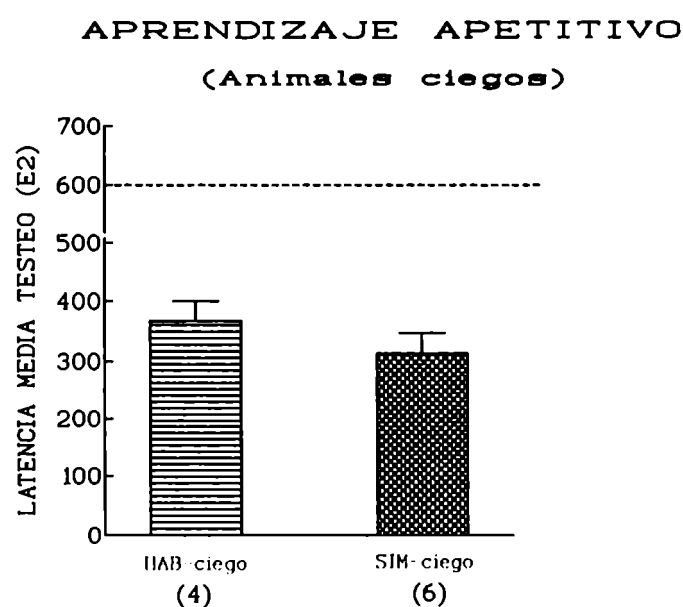


Figura 13 : Aprendizaje apetitivamente motivado. SIM-ciego: animales cegados alimentados según el método instrumental; HAB-ciego: control ciego no alimentado. El refuerzo se entrega luego de una hora de la fase bidón. Comparaciones planeadas del ensayo 2 de la sesión de evaluación no muestran diferencias.

EXPERIMENTO 2

Métodos

El diseño experimental para estudiar habituación exploratoria incluye dos grupos de animales: uno que durante

el entrenamiento permanece en la caja de elección por 1h y 30min (HAB) y otro que transcurre ese tiempo en un bidón transparente (NOHAB). El primer grupo es igual al control de los experimentos de condicionamiento ya que es un grupo de animales que se habitúa a la caja de elección, mientras que el segundo (grupo NOHAB) es el control en este tipo de experimento. La evaluación se realiza para ambos grupos a las 24 horas. Los resultados obtenidos en el Laboratorio revelan invariablemente que las latencias de HAB son superiores a NOHAB, interpretándose esta diferencia como indicativa de que para los primeros la caja ya no es novedad, por lo que disminuyen su tendencia exploratoria. Para NOHAB el entorno es novedoso (diferente al del bidón del entrenamiento), por lo que presentan latencias breves (Dimant 1991, 1992).

La mitad de los cangrejos de cada grupo fueron normales y la otra mitad ciegos (cegados temporariamente según el procedimiento del experimento anterior). Se formaron así 4 grupos (n=40): (HABnormal; NOHAB-normal; HAB-ciego; NOHAB-ciego). A las 24 hs tuvieron dos ensayos de evaluación en la caja de elección.

Resultados

Se realizaron comparaciones planeadas sobre los datos del bloque de los dos ensayos de evaluación, basadas en la predicción de una diferencia significativa para cada contraste (HAB- vs NOHAB-) y similitud entre los controles (NOHAB-ciego vs NOHAB-normal). Como se esperaba (Fig 14), el contraste HAB-normal vs NOHAB-normal demostró una diferencia significativa

(a: $F= 9.7$, $p<0.005$), pero no así HAB-ciego vs NOHAB-ciego ($F=1.2$); sugiriendo que los cangrejos sin información visual no pueden identificar el contexto. El nivel de latencia de los ciegos resultó mayor que el de los normales, como lo indica el hecho de que la media del NOHAB-ciego es significativamente superior a la del NOHAB-normal, (b: $F=4$, $p<0.05$). Sin embargo, una explicación de este resultado en términos de efecto de techo, resulta improbable debido a las consideraciones expuestas más arriba (Exp. 1). En la Figura 14 se observa una gran diferencia entre la media de cada grupo ciego y el nivel de corte (línea de puntos) y el pequeño número de cangrejos ciegos que no pasan a CC es similar al del de los normales (números entre paréntesis).

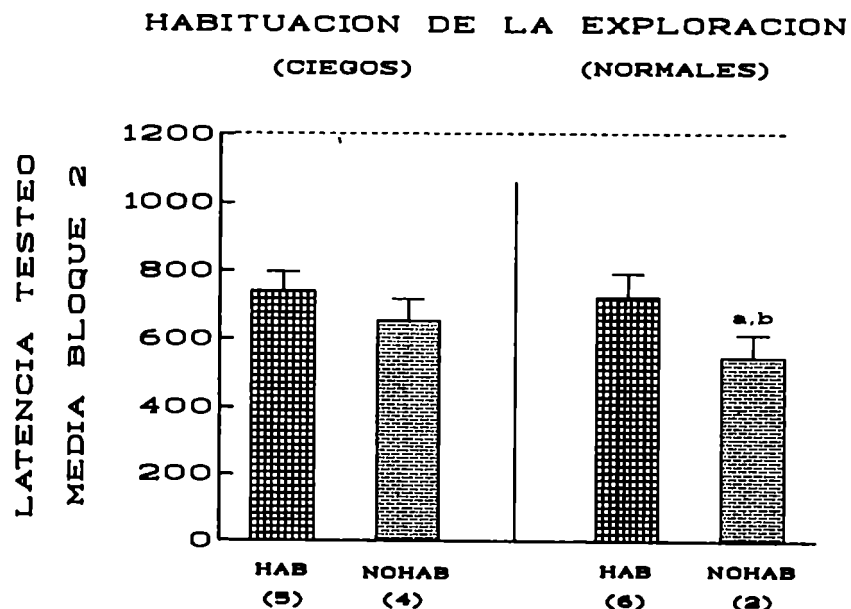


Figura 14: Habituaación de la exploración. HAB explora la caja de elección; NOHAB permanece en el bidón durante el mismo tiempo. La mitad de los animales dentro de cada grupo está cegado mientras que la otra mitad es normal. Comparaciones planeadas muestran que hay diferencias significativas entre HAB vs NOHAB normal ($p<0.005$); y entre NOHAB-ciego vs NOHAB-normal ($p<0.05$).

EXPERIMENTO 3

El propósito de este experimento fue probar si la incorporación de nuevas claves táctiles a la caja de elección, puede compensar la ausencia de claves visuales cuando se usan animales ciegos.

Método

Se usaron cuatro grupos (n=40) de cangrejos ciegos (cegados temporariamente por el método antes descrito). Dos de ellos recibieron un tratamiento exactamente igual a los ciegos del experimento anterior, es decir, un grupo permaneció por 1h 30min en las cajas y otro en los bidones, ambos evaluados en las cajas al día siguiente (HAB-sin red y NOHAB-sin red, respectivamente). Otros dos grupos recibieron el mismo tratamiento, pero la caja de elección tenía una red plástica cubriendo el piso tanto en el entrenamiento y en la evaluación del grupo entrenado (HAB-con red), como en la evaluación del grupo control (NOHAB-con red).

Resultados

Los resultados correspondientes al bloque de dos ensayos de la evaluación se muestran en la Fig. 15. Los niveles de las latencias fueron estrechamente similares para los cuatro grupos, confirmando que sin información visual los cangrejos no pueden identificar el contexto, aún cuando se incremente la presencia de claves táctiles.

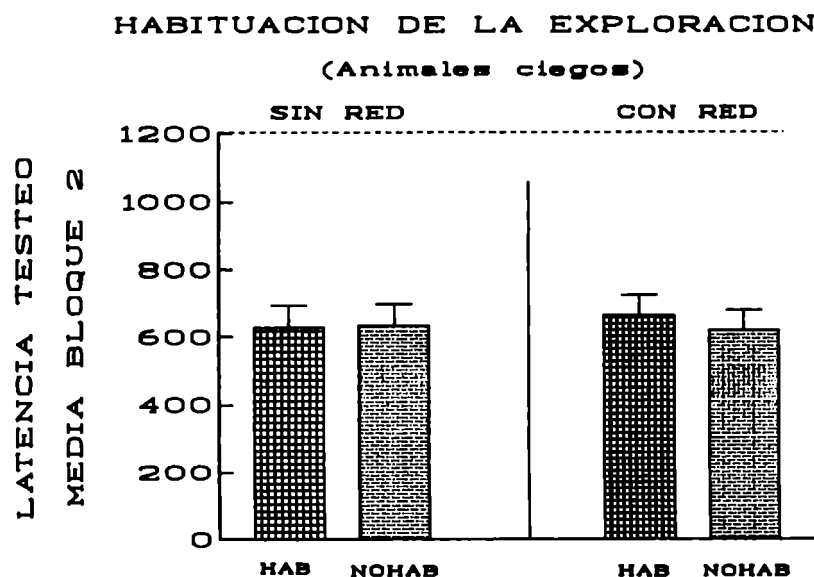


Figura 15: Habitación de la exploración. Todos los animales fueron cegados. HAB explora la caja de elección mientras NOHAB permanece en el bidón durante el mismo tiempo. HAB-con red es entrenado y testeado con red plástica, pero NOHAB-con red sólo encuentra la red durante la sesión de evaluación. Comparaciones planeadas no encuentran diferencias significativas entre los grupos.

EXPERIMENTO 4

En los experimentos anteriores las claves visuales estuvieron ausentes tanto en el entrenamiento como en la evaluación. Para aquellos cangrejos ciegos que ya habían estado en la caja durante el entrenamiento, hubo congruencia entre las claves no-visuales (táctiles) de las dos sesiones, pero esa invariancia parece no haber sido suficiente como para que reconocieran el contexto. El propósito de este experimento es poner a prueba la importancia de las claves visuales para el reconocimiento del contexto, proponiendo usar cangrejos

normales en un diseño con invariancia de claves no-visuales entre entrenamiento y evaluación pero incongruencia de claves visuales.

Método

Se usaron dos pares de grupos ($n=40$), cada par formado por un grupo HAB que durante el entrenamiento de 1h 30min estuvo en la caja y por un grupo NOHAB que permaneció ese tiempo en el bidón. La caja y el bidón de un par recibió la iluminación habitual durante el entrenamiento (HAB-luz y NOHAB-luz), mientras que el otro par pasó la sesión en total oscuridad (HAB-oscuro y NOHAB-oscuro). Todos los grupos fueron evaluados en la caja de elección (dos ensayos) con la iluminación corriente, 24 horas después del entrenamiento.

Resultados

Los resultados se sintetizan en la Fig. 16 (bloques de dos ensayos de evaluación). Los animales entrenados y evaluados en condiciones de iluminación (HAB-luz y NOHAB-luz) demostraron, como se esperaba, una buena retención ($F= 20.3$, $p<0.005$; comparaciones planeadas); mientras que aquellos entrenados en la oscuridad y evaluados en la luz (HAB-oscuro y NOHAB-oscuro) no evidenciaron retención ($F= 0.98$). Por otro lado no hubo diferencias entre los controles (grupos NOHAB; $F=1.4$). Las latencias de HAB-oscuro son breves, similares a las de cualquiera de los dos grupos que habían estado en los bidones durante el entrenamiento, sugiriendo así que para estos cangrejos la caja es una novedad que induce una mayor actividad

exploratoria, a pesar de que habían estado en ella 24 horas antes.

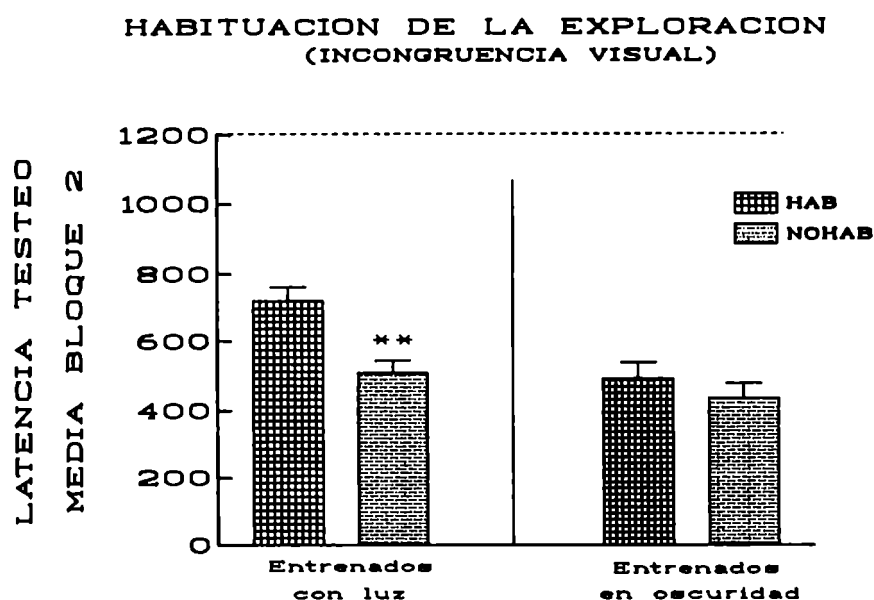


Figura 16: Habitación de la exploración bajo condiciones de iluminación incongruente entre el entrenamiento y el testeo. HAB-luz es entrenado con luz en las cajas de elección mientras NOHAB-luz permanece en bidones por el mismo tiempo. Ambos grupos se evalúan con luz. HAB-oscuro y NOHAB-oscuro son entrenados en oscuridad pero evaluados con luz. Un test de comparaciones planeadas encontró diferencias significativas para HAB-luz y NOHAB-luz ($p < 0.005$).

EXPERIMENTO 5

El objetivo de este experimento fue probar si la incorporación de nuevas claves táctiles a la caja de elección, podría compensar la incongruencia de las claves visuales, permitiendo así reconocer la identidad del contexto.

Método

Se usaron tres grupos de cangrejos ($n=40$) que estuvieron en la caja de elección tanto durante el entrenamiento (1h 30min), como durante la evaluación de 2 ensayos, 24 hs después. En un grupo la caja estuvo iluminada en ambas sesiones (HAB-luz), mientras que en los otros dos, la caja permaneció a oscuras durante el entrenamiento e iluminada durante la evaluación. A su vez, en uno de estos dos grupos el piso de la caja estaba cubierto por una red durante ambas sesiones (HAB-oscuro-red), mientras que en el otro la caja tenía el piso normal (HAB-oscuro).

Resultados

Los niveles medios de latencia para cada grupo, correspondientes al bloque de dos ensayos de evaluación, se exhiben en la Fig 17.

Es evidente que el agregado de la clave táctil, no logra compensar la incongruencia de claves visuales que impide reconocer el contexto. El nivel de latencia de HAB-luz es el de un grupo que identifica el contexto de la evaluación con aquel al que había sido pre-expuesto 24 horas antes. Los otros dos grupos revelaron latencias significativamente menores a la del primero ($F=6.5$, $p<0.025$ y $F=10.9$, $p<0.005$, para HAB-oscuro y HAB-oscuro-red, respectivamente).

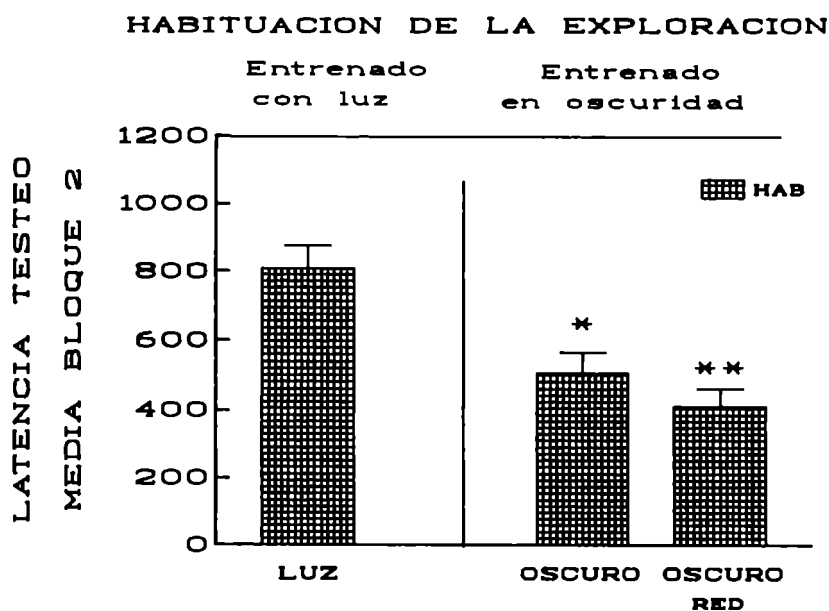


Figura 17: Habitación de la exploración en las cajas de elección. HAB-luz se habitúa a las cajas en luz; HAB-oscuro explora las cajas en oscuridad; HAB-oscuro-red tiene disponible una red plástica durante el entrenamiento y la evaluación. Durante la evaluación la luz permanece encendida. Un test de comparaciones planeadas encontró diferencias significativas entre HAB-luz vs HAB-oscuro-red (** $p < 0.005$) y HAB-luz vs HAB-oscuro (* $p < 0.025$)

DISCUSION GENERAL

Tanto la habituación exploratoria como el condicionamiento alimentario de *Chasmagnathus* requieren memoria a largo término del contexto.

Como en todo proceso mnésico cabría distinguir entre adquisición, almacenaje y evocación de la memoria contextual. La etapa de adquisición implica, ya sea el procesamiento de la información referente a cada uno de los elementos relevantes

del entorno o la construcción de una representación unitaria, según se adhiera a la idea del contexto como suma de elementos (Rescorla y Wagner, 1972) o como estereotipo dinámico o mapa contextual (Fanselow, 1990; Nadel y Willner, 1980). De acuerdo a los resultados del presente capítulo, las claves visuales son esenciales en la representación del entorno (Experimentos 1, 2 y 3), ya que cuando los cangrejos ciegos son colocados en un entorno idéntico a aquél donde habían estado 24 horas antes, lo exploran como si fuese un contexto nuevo. La preponderancia de las claves visuales queda también evidenciada en los dos últimos experimentos (4 y 5). Los cangrejos normales que habían sido pre-expuestos a un entorno a oscuras, no lo reconocen cuando 24 horas después lo exploran bajo iluminación, pese a la invariancia de las claves no-visuales.

CAPITULO 7. TRANSFERENCIA INTEROCULAR EN *Chasmagnathus*.**ESTUDIO DE LA LOCALIZACION DE LA MEMORIA.****INTRODUCCIÓN. TRANSFERENCIA INTEROCULAR.**

En los capítulos anteriores hemos concluido que el aprendizaje y la memoria en *Chasmagnathus*, requiere de una representación contextual basada preponderantemente en información visual.

Con esa identificación de la modalidad sensorial, hemos dado el primer paso en el estudio de los mecanismos que sirven a la memoria del contexto. Un segundo paso sería indagar acerca de la localización de la marca mnésica, comenzando por preguntarse si ésta se transfiere interocularmente o si está lateralizada. Por lo tanto, nos proponemos averiguar si *Chasmagnathus* puede adquirir memoria de largo término con visión monocular del contexto, y en caso afirmativo, investigar si la habituación exploratoria y el condicionamiento alimentario requieren de una representación contextual central o lateralizada.

En el presente capítulo intentaremos dar a respuesta a esas preguntas mediante la técnica de transferencia interocular. Los dos procesos de memoria estudiados hasta aquí, la habituación de la exploración y el aprendizaje apetitivamente motivado se basan en información visual relacionada con el contexto. Nos hemos ya referido extensamente en la Introducción a las razones que sustentan la hipótesis de

que una parte importante del procesamiento de la información visual relacionada con el aprendizaje es procesada en el cuerpo hemielipsoide. Es por esto que la utilización de esta técnica nos pareció apropiada para avanzar sobre la localización de la marca mnésica.

Se dice que un animal exhibe **transferencia interocular (IOT)** si habiendo aprendido a responder a un estímulo visual presentado sólo a un ojo, continúa haciéndolo cuando el mismo estímulo es presentado al otro ojo (Wehner y Müller, 1985). La transferencia interocular es un importante fenómeno relacionado con aspectos mecanísticos de la adquisición y la retención de largo término. La ocurrencia de IOT se ha visto que depende de los siguientes factores: a) el grado de dificultad en una tarea a ser aprendida (Muntz, 1961; Schulte, 1957; Menkhaus, 1957; Ingle, 1968), b) la cantidad de entrenamiento dado en un problema particular de discriminación (Catania, 1963), c) el tipo de respuesta requerida por parte del sujeto (McClearly, 1960), d) el estímulo específico empleado (Ingle, 1965), e) el paradigma experimental usado (Green et al., 1978), f) la cantidad de proyecciones retinales en el caso de los vertebrados (Robinson, 1982; Cowie y Parkinson, 1973; Ingle, 1965; Cowan et al., 1961; Sharma, 1972; Mohn y Steele Russell, 1983) o g) la posición del estímulo discriminado sobre la retina (Levine, 1945; Graves y Goodale 1977; Malin y Delius 1983).

Metodo general

Para evaluar la IOT, uno de los ojos de cada animal era cubierto mediante una tira elástica de goma negra. Cada tira (10mm x 30mm) se pegaba por sus extremos al caparazón, dorsalmente en la región protorácica y ventralmente en la región suborbital, de manera que ajustaba el pedúnculo dentro de la órbita, tapando así totalmente el ojo (DIA 1, fig 18).

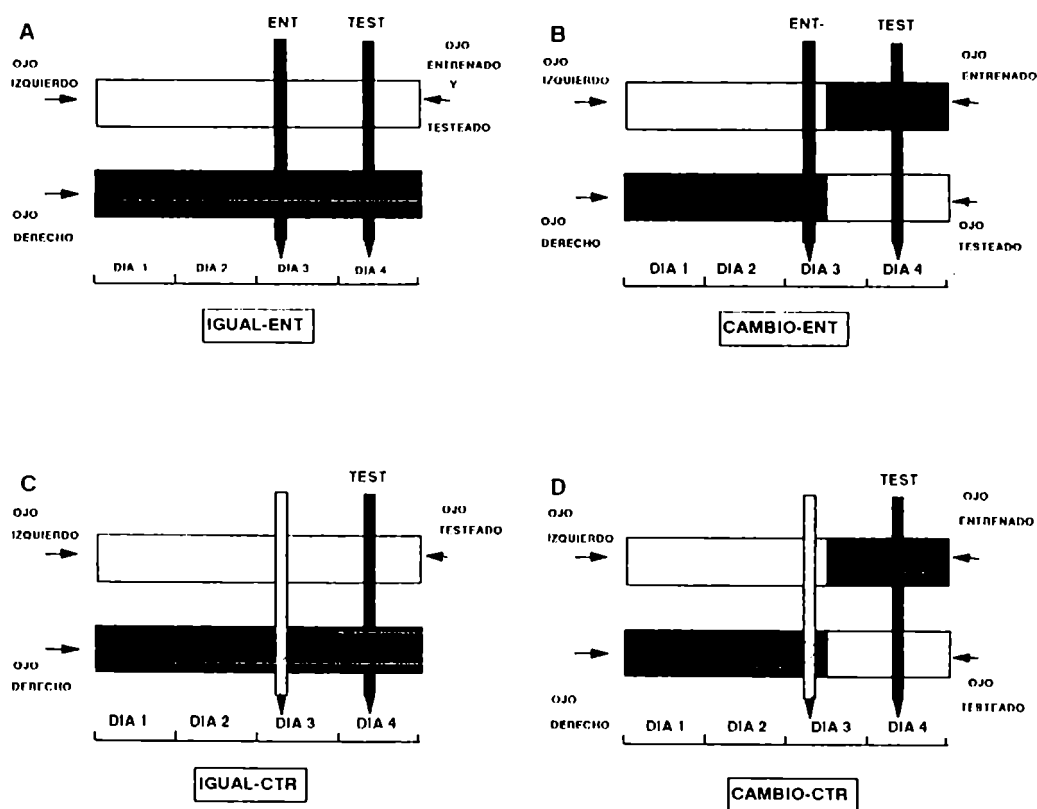


Figura 18: Diseño experimental: las barras horizontales simbolizan el ojo derecho e izquierdo; las barras negras: el ojo cubierto; las barras blancas: el ojo descubierta. Las flechas enteras: ENT: sesión de entrenamiento; TEST: sesión de evaluación. La flecha rayada: la sesión para los animales control (son ubicados en el dispositivo experimental pero no son entrenados).

Todos los cangrejos eran luego alojados en tanques de mantenimiento durante 48hs y entrenados el DIA 3 (ENT), (ver

flecha llena, fig. 18a y b). Después de completar la fase de entrenamiento, la tira era despegada del ojo tapado y pegada nuevamente en el mismo ojo (IGUAL-ENT, Fig. 18 a) o en el ojo descubierto (CAMBIO-ENT, Fig. 18 b). Se dejaba luego a los animales en sus tanques de mantenimiento por 24hs más, contadas desde el comienzo de la fase de entrenamiento, evaluando la retención en el DIA 4.

Durante la evaluación, el desempeño de los grupos entrenados (IGUAL-ENT, CAMBIO-ENT, Fig. 18 a,b) era comparada entre sí y con la de los grupos control, los que habían tenido la misma experiencia que los experimentales, incluida la oclusión monocular, pero sin entrenamiento (IGUAL-CTR, CAMBIO-CTR), (ver flecha rayada en figura 18 c,d).

El entrenamiento específico será descrito en cada experimento (ENT- flecha llena, Fig 18)

EXPERIMENTO 1

Falta de transferencia interocular en la habituación de la exploración.

Método

Cuatro grupos de animales (IGUAL-ENT, CAMBIO-ENT, IGUAL-CTR y CAMBIO-CTR), (n=40), recibieron el tratamiento explicado en Método General. La fase de entrenamiento de los grupos IGUAL-ENT y CAMBIO-ENT, (ENT-, flecha llena DIA 3, Fig 18 a, b) comprendió: 1) el traslado de los animales desde los tanques

de mantenimiento a las cajas de elección, donde se los ubicó individualmente en compartimento oscuro (CO), con la puerta guillotina cerrada por 10 min; 2) apertura de la puerta permitiendo la entrada de los cangrejos al compartimento claro (CC) y registro de la primera latencia de entrada; y iii) exploración de la caja durante 1h 30min. La fase de entrenamiento para los controles IGUAL-CTR y CAMBIO-CTR, (flecha rayada DIA 3, Fig 18 c,d) comprendió el traslado de los cangrejos desde los tanques de mantenimiento a bidones transparentes donde se los alojó individualmente por 1h 30min. Una vez finalizada la fase de entrenamiento, se realizó el **cambio de parche** a los animales, es decir, la tira era despegada y pegada nuevamente en el mismo ojo en los grupos IGUAL o en el ojo descubierto en los grupos CAMBIO. Se dejaba a los animales en sus tanques de mantenimiento por 24 hs más, contadas desde el comienzo de la fase de entrenamiento, y se evaluaba la retención mediante 2 ensayos durante el DIA 4.

Resultados y discusión

Durante el entrenamiento, la media de las latencias registradas en las cajas de elección fue similar para IGUAL-ENT y CAMBIO-ENT (datos no mostrados). En la Fig 19 se exhiben los resultados correspondientes al bloque de dos ensayos de la evaluación. Resulta evidente la diferencia entre los grupos entrenado y control que durante la fase de entrenamiento y evaluación tenían destapado el mismo ojo (IGUAL). Por el contrario, los grupos de cangrejos evaluados con el ojo que había estado cubierto durante el entrenamiento (CAMBIO),

mostraron latencias similares entre sí y con las del control de los grupos IGUAL. Comparaciones planeadas confirmaron esta impresión. Se reveló una diferencia significativa para IGUAL-CTR vs IGUAL-ENT ($F=10.06$, $p<0.005$), pero no entre los grupos CAMBIO ni entre los controles.

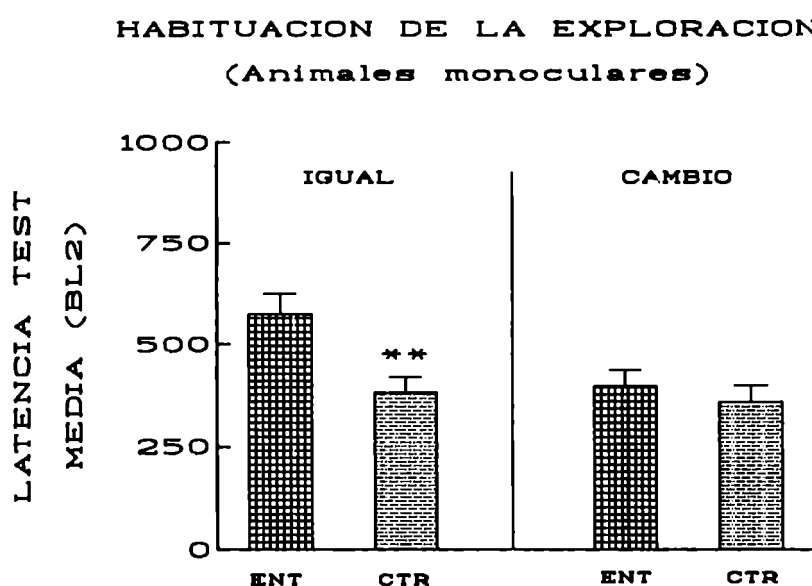


Figura 19: Retención de largo término de la habituación de la exploración en cangrejos monoculares entrenados y evaluados con el mismo ojo, grupo IGUAL, o entrenado y evaluados con ojo diferente grupo CAMBIO. Un test de comparaciones planeadas sobre los valores del bloque de 2 ensayos mostro diferencias significativas entre IGUAL-ENT vs IGUAL-CTR ($F=10.06$, $p<0.005$), Pero no entre los dos grupos CAMBIO.

Estos resultados nos llevan a dos conclusiones respecto a la capacidad mnésica de *Chasmagnathus* en relación a un

entorno conocido.

1) Puede adquirir memoria de largo término del contexto mediante visión monocular, que le permite, 24 horas después, reconocer el entorno donde estuvo y disminuir su tendencia exploratoria.

2) No puede utilizar la memoria contextual que ha sido adquirida monocularmente, para reconocer el entorno que ahora ve con el ojo que estuvo cubierto durante el entrenamiento. En otras palabras, cuando se evalúa con este ojo, el cangrejo monocular parece no reconocer el entorno, y presenta un nivel alto de actividad exploratoria.

En resumen, no habría transferencia interocular de la memoria contextual en *Chasmagnathus* evaluada con un paradigma de habituación exploratoria.

EXPERIMENTO 2

Los resultados del experimento anterior representan una prueba adicional de la preponderancia de las claves visuales en la memoria contextual. En efecto, la representación del contexto se adquirió en el grupo CAMBIO-ENT en base a la información obtenida a través del ojo descubierto, pero no pudo ser utilizada durante la evaluación por el ojo que fue cubierto durante el entrenamiento, pese a que no existió lateralización de las claves no-visuales.

El propósito del presente experimento es probar si la falta de retención de la habituación exploratoria, demostrada por el grupo CAMBIO-ENT, puede ser superada o disminuida por el enriquecimiento del contexto no visual.

Método

Se formaron cuatro grupos de cangrejos (n=40). Dos grupos recibieron el mismo entrenamiento que el grupo CAMBIO del experimento anterior (CAMBIO-ENT y CAMBIO-CTR); y los otros dos, aunque recibieron el mismo tratamiento, fueron colocados en cajas de elección que tenían cubierta el piso con una red de plástico, tanto en la fase de entrenamiento como en la fase de evaluación (CAMBIO-ENT-red, y sólo en la fase de evaluación del grupo CAMBIO-CTR-red) que fue entrenado en bidones. El procedimiento experimental fue igual en todos los aspectos al del experimento 1.

Resultados y discusión

Los resultados de los ensayos de evaluación se presentan en la Fig 20. No hay diferencia entre el grupo experimental y el control en ninguno de los dos pares (comparaciones planeadas), pese a que en uno de ellos se agregaron claves no-visuales.

Tampoco se revelaron diferencias significativas entre controles. Por lo tanto, la falta de retención de la habituación exploratoria, debido aparentemente a la imposibilidad de transferencia interocular de las claves visuales del contexto, no podría enmendarse por la

incorporación de claves no-visuales.

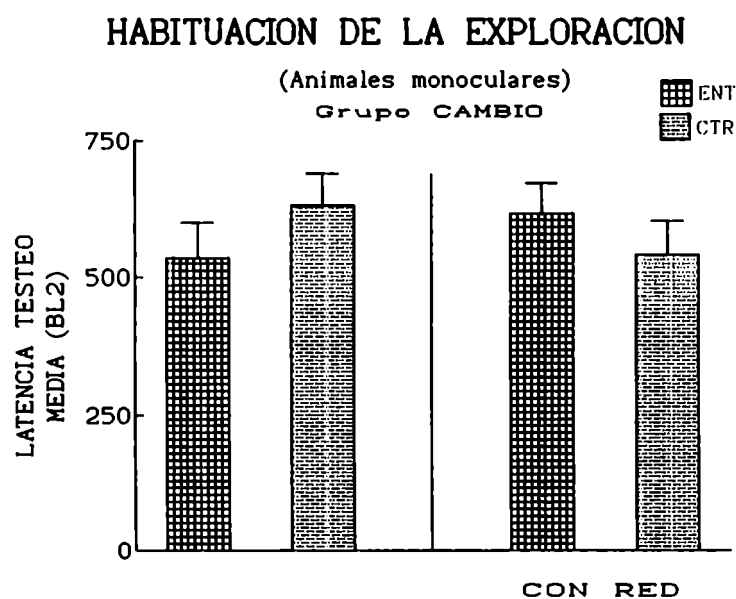


Figura 20: Retención de largo término de la habituación de la exploración en cangrejos monoculares entrenados y evaluados con diferente ojo grupo CAMBIO. La mitad de los animales fue entrenado y evaluado de la manera habitual CAMBIO-ENT y CAMBIO-CTR; la otra mitad tenía disponible una red plástica en el piso de la caja durante el entrenamiento y la evaluación del grupo CAMBIO-ENT, pero sólo en la evaluación del grupo CAMBIO-CTR que había sido entrenado en el bidón. Un test de comparaciones planeadas sobre los valores del bloque de 2 ensayos no mostró diferencias significativas entre ningún grupo.

EXPERIMENTO 3

Si la memoria a largo término del contexto visual es la base de la habituación exploratoria y del condicionamiento apetitivo, debe esperarse que la falta de transferencia interocular que afecta a la primera, también impida la retención de la respuesta condicionada. El objetivo de este

experimento es poner a prueba esa predicción.

Métodos

Se siguió el mismo procedimiento experimental y la formación de los grupos descrita para el Exp 1, es decir, conforme al esquema de Método General (Fig 18), pero con la fase de entrenamiento adecuada al condicionamiento alimentario (método instrumental). Por lo tanto, la fase de entrenamiento de los grupos IGUAL-ENT y CAMBIO-ENT (ENT flecha llena DIA 3, Fig 18 a, b) comprendió los siguientes pasos: 1) el traslado de los animales desde los tanques de mantenimiento a las cajas de elección, donde se los ubicó individualmente en CO, con la puerta guillotina cerrada por 10 min; 2) apertura de la puerta permitiendo la entrada de los cangrejos a CC y registro de la primera latencia de entrada; 3) 5 ensayos de entrenamiento apetitivo colocando un pellet de comida en la pared distal de la caja y 4) traslado de los animales desde las cajas a bidones individuales donde permanecían por 2 hs. La fase de entrenamiento para los controles IGUAL-CTR y CAMBIO-CTR (flecha rayada DIA 3 Fig 18 c,d) incluyó los mismos pasos que la fase para los entrenados, con la única diferencia que los animales fueron alimentados inmediatamente después de transcurrida 1h en la fase bidón. Una vez finalizado el entrenamiento, se realizó el cambio de parche a todos los animales, es decir, la tira fue despegada y pegada nuevamente en el mismo ojo de los grupos IGUAL o en el ojo descubierto en los grupos CAMBIO. Se dejaba a los animales en sus tanques de mantenimiento por 24

hs más, contadas desde el comienzo de la fase de entrenamiento, evaluándose la retención en el DIA 4 mediante 2 ensayos.

Resultados y discusión.

Los resultados correspondientes al ensayo dos de la evaluación se exhiben en la Fig. 21. Comparaciones planeadas sobre estos datos confirmaron dicha impresión. La diferencia fue significativa para IGUAL-ENT vs IGUAL-CTR ($F= 6.7$, $p<0.025$); pero resultó no significativa tanto para CAMBIO-ENT vs CAMBIO-CTR ($F=1.2$) como para el contraste entre controles ($F=0.3$).

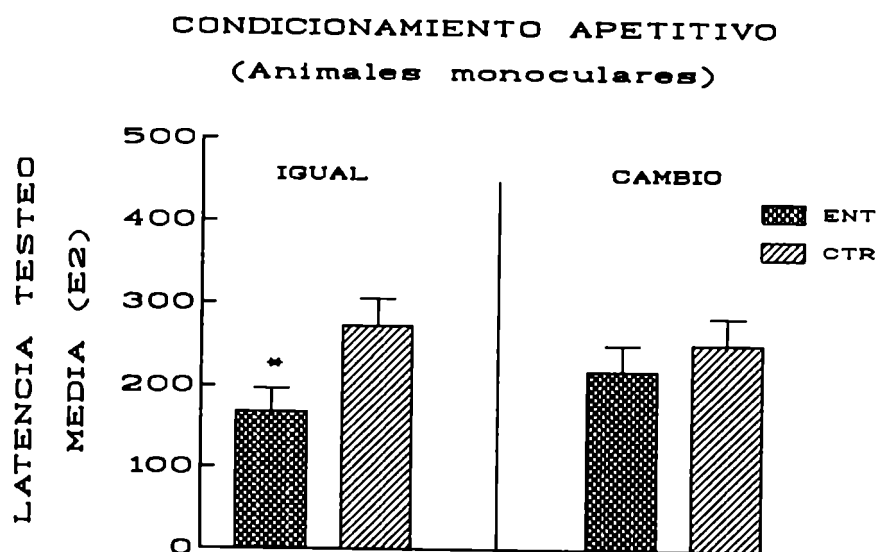


Figura 21: Retención del aprendizaje apetitivamente motivado en animales monoculares entrenados y testeados con el mismo ojo descubierto IGUAL-ENT; IGUAL-CTR; o con diferente ojo descubierto CAMBIO-ENT y CAMBIO-CTR. Un test de comparaciones planeadas mostró diferencias significativas para IGUAL-ENT vs IGUAL-CTR, ($F= 6.65$, $p<0.025$) y no CAMBIO-ENT vs CAMBIO-CTR.

Por lo tanto, concluimos que:

1) *Chasmagnathus* puede adquirir con visión monocular una respuesta alimentaria condicionada, es decir, adquirir memoria de largo término del contexto que asocia con un refuerzo positivo, permitiéndole así, 24 horas después, reconocer el entorno donde estuvo y aumentar su actividad exploratoria (disminuir la latencia CO->CC).

2) No puede utilizar la memoria contextual que ha sido adquirida monocularmente a través del ojo descubierto durante el entrenamiento, para reconocer el entorno que ahora ve con el otro ojo y evocar así la respuesta alimentaria condicionada.

En resumen, parece no haber transferencia interocular de la memoria contextual en *Chasmagnathus* cuando se la evalúa con un paradigma de condicionamiento alimentario.

EXPERIMENTO 4

Falta de transferencia interocular en la habituación de la respuesta de escape.

Además del condicionamiento alimentario y la habituación exploratoria tratados en esta tesis, se ha probado extensamente en *Chasmagnathus* otro paradigma de memoria: la habituación de largo término al pasaje repetido de una pantalla (un estímulo de peligro), (Brunner y Maldonado, 1988). La manifestación más notable de este proceso mnésico es la disminución de la respuesta de escape que normalmente provoca el pasaje del estímulo de peligro. Tal decremento de la respuesta persiste

luego de cinco días, por lo menos.

La habituación a un estímulo de peligro y la habituación a la caja de elección comparten la condición de ser ejemplos de un proceso corrientemente identificado como no-asociativo. Sin embargo, son notables las diferencias que los distinguen. Así, difieren en el comportamiento blanco (*target behavior*), ya que en un caso se trata de una reacción defensiva mientras que en el otro una actividad exploratoria; y coincidentemente, en un caso la reiteración del estímulo convierte a la sombra en inocua, mientras que en el otro caso el efecto del entrenamiento es reducir la novedad. Por lo tanto, el propósito de los experimentos siguientes es investigar si en la habituación al estímulo iterativo de peligro tampoco hay transferencia interocular.

Método

El procedimiento experimental y la formación de los grupos fue como en el Exp 1, es decir, conforme al esquema de Método General (Fig 18), pero con la fase de entrenamiento adecuada al paradigma de habituación de la respuesta de escape a un estímulo de peligro, para lo que fue necesario usar el dispositivo experimental descrito previamente como Actómetro (Fig 1). Por lo tanto, la fase de entrenamiento de los grupos IGUAL-ENT y CAMBIO-ENT (flecha llena, DIA 3 Fig 18 a, b) comprendió los siguientes pasos: i) traslado de los animales desde los tanques de mantenimiento a los actómetros, donde se los ubicó individualmente en los recipientes (Fig 1, C); ii) adaptación de 15 min y comienzo del entrenamiento efectivo que

consistió en 30 pasajes de la pantalla (P) con 3 min de intervalo. La fase de entrenamiento para los controles IGUAL-CTR y CAMBIO-CTR (flecha rayada, DIA 3 Fig 18 c,d) incluyó los mismos pasos que la fase de los entrenados, con la única diferencia que no hubo entrenamiento efectivo, es decir, los animales permanecieron en los recipientes por el mismo tiempo que los entrenados pero sin presentación de la pantalla. Una vez finalizada la fase de entrenamiento, se realizó el cambio de parche en todos los animales: la tira era despegada y pegada nuevamente en el mismo ojo de los grupos IGUAL o en el ojo descubierto en los grupos CAMBIO. Se dejaba a los animales en sus tanques de mantenimiento por 24 hs más, contadas desde el comienzo de la fase de entrenamiento, y eran entonces trasladados a los recipientes de los actómetros donde se los evaluaba en el DIA 4 mediante la presentación de 6 ensayos.

Resultados y discusión

Durante la fase de entrenamiento, los grupos CAMBIO-ENT e IGUAL-ENT presentaron los mismos perfiles de curvas de respuesta (Fig 22a). Un ANOVA 2 x 15 de medidas repetidas sobre los valores del entrenamiento en bloques de 2 ensayos no mostró diferencias significativas entre los dos grupos ni tampoco interacción grupo x ensayo, $F=1.04$, y $F=0.16$, respectivamente. En la Fig 22b se muestran las medias por grupo correspondientes a bloques de dos ensayos de evaluación. Comparaciones planeadas sobre estos datos, demostraron que la única diferencia significativa era la que corresponde a los grupos IGUAL $F=5.5$ (* $p<0.025$).

SESION DE ENTRENAMIENTO
HABITUACION RESPUESTA ESCAPE

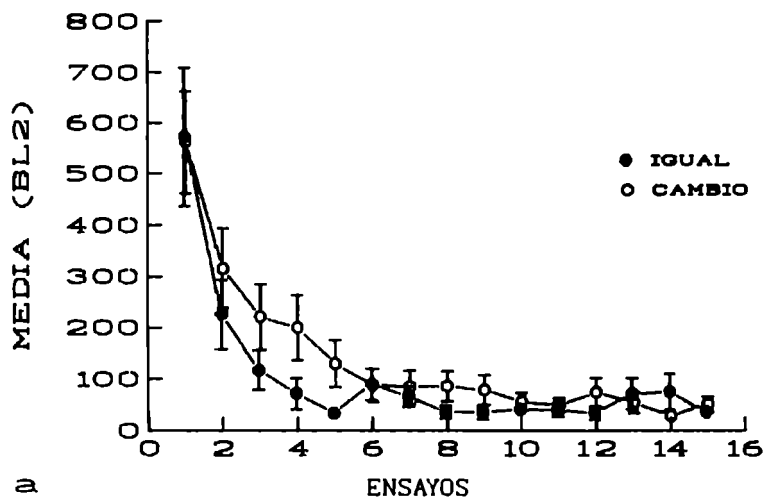
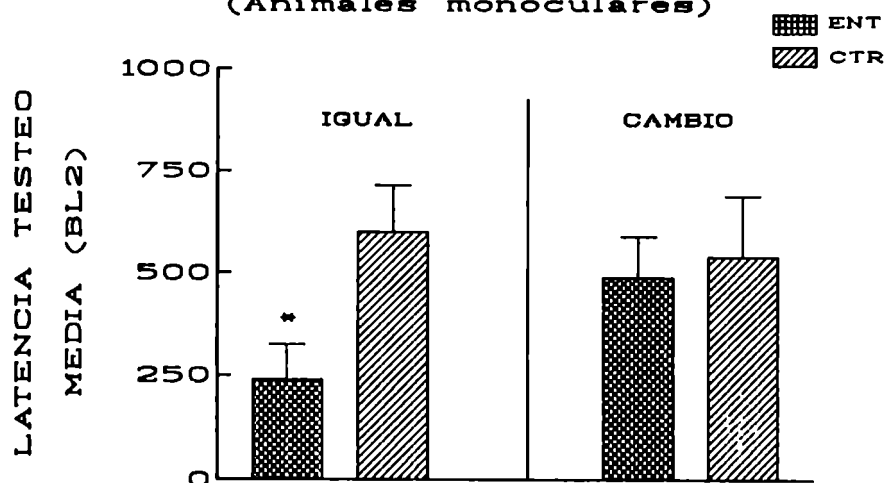


Figura 22: Adquisición y retención de la habituación de largo término a un estímulo de peligro en animales monoculares entrenados y testeados con el mismo ojo descubierto IGUAL-ENT, IGUAL-CTR o con diferente ojo descubierto CAMBIO-ENT, CAMBIO-CTR. a) sesión de entrenamiento. b) sesión de evaluación. Un test de comparaciones planeadas para los grupos IGUAL-ENT vs IGUAL-ctr encontró diferencias significativas ($p < 0.025$).

b HABITUACION RESPUESTA ESCAPE
(Animales monoculares)



Por lo tanto, los cangrejos monoculares demuestran habituación a largo término al estímulo de peligro cuando son entrenados y evaluados con el mismo ojo. Sin embargo, no existe transferencia interocular de la respuesta habituada, es decir, el aprendizaje adquirido en base a información desde un ojo no es utilizable cuando la misma información entra por el ojo cubierto durante el entrenamiento.

Recientemente, se han presentado resultados indicativos de que la habituación de *Chasmagnathus* al estímulo de peligro sería un proceso asociativo (Tomsic, Pedreira, Romano y Maldonado, 1995). Durante el entrenamiento, el cangrejo asociaría el contexto con la señal (una pantalla pasante), de manera que el reconocimiento del contexto durante la evaluación inhibiría la respuesta al estímulo. De ahí que cabría entonces hacer aquí una consideración similar a la que presentamos más arriba con referencia a la habituación a la caja y al condicionamiento alimentario. Durante el experimento de habituación al peligro, los cangrejos monoculares del grupo CAMBIO no identifican el contexto de la evaluación con aquel del entrenamiento, pese a la invariancia de las claves no-visuales, confirmando así la idea de que de que la representación del contexto es preponderante o exclusivamente visual.

EXPERIMENTO 5

Método

Con el objetivo de evaluar si los animales monoculares pueden adquirir la habituación de la respuesta con independencia de cuál es el ojo que usan durante el entrenamiento, se realizó un último experimento. Un grupo de cangrejos monoculares presentaban el ojo derecho descubierto Grupo DER- y otro grupo, descubierto el ojo izquierdo Grupo-IZO-. La mitad de los animales en cada grupo fue entrenada con una sesión de 30 ensayos (Grupo ENT) y la otra mitad no fue entrenada (Grupo CTR). De esta manera se formaron 4 grupos: DER-ENT; DER-CTR; IZO-ENT e IZO-CTR (n=40). Se dejaba a los animales en sus tanques de mantenimiento por 24hs más, contadas desde el comienzo de la fase de entrenamiento, y eran luego trasladados a los recipientes de los actómetros donde se los evaluaba en el DIA 4 mediante 6 ensayos.

Resultados y Discusión

Los resultados se muestran en la Figura 23. Un ANOVA de medidas repetidas sobre los valores del entrenamiento en bloques de 2 ensayos (Figura 23 a) no reveló efecto significativo principal ni tampoco interacción de grupo x ensayo ($F=1.46$ y $F=0.67$, respectivamente). Comparaciones planeadas sobre los datos de la evaluación (Figura 23 b), demostraron diferencias significativas tanto para DER-ENT vs DER-CTR ($F=9.0$, $p<0.005$), como para IZO-ENT vs IZO-CTR ($F=5.8$, $p<0.025$), pero no entre los grupos control.

Por lo tanto, *Chasmagnathus* parece adquirir la respuesta habituada con independencia de cuál sea el ojo entrenado.

a

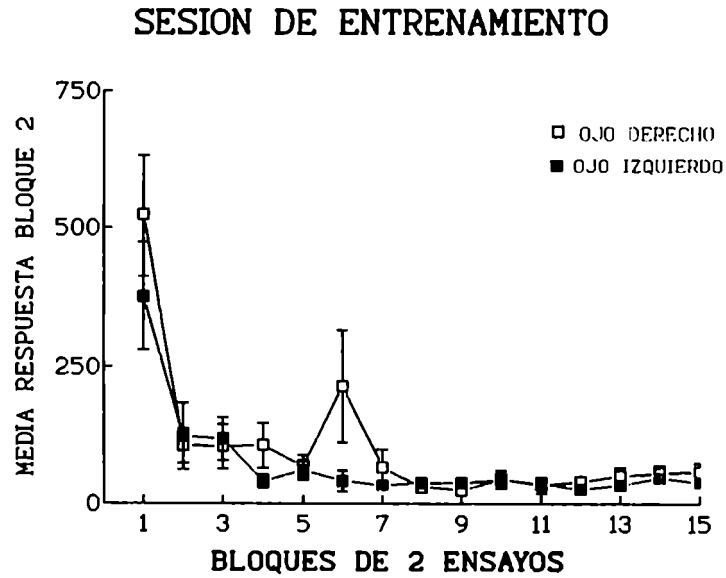
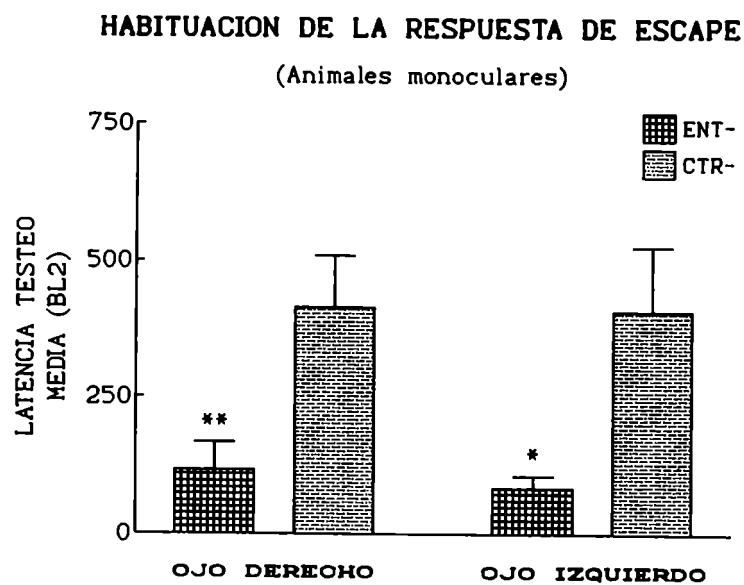


Figura 23: Adquisición y retención de la habituación de largo término a un estímulo de peligro en animales monoculares entrenados y testeados con el ojo derecho descubierto DER-ENT, DER-CTR y con el ojo izquierdo descubierto IZQ-ENT, IZQ-CTR. a) sesión de entrenamiento. b) sesión de evaluación. Un test de comparaciones planeadas encontro diferencias significativas tanto para DER-ENT vs DER-CTR ($p < 0.005$) como para IZQ-ENT vs IZQ-CTR ($p < 0.025$).

b



DISCUSIÓN GENERAL

Podrían ofrecerse tres hipótesis para interpretar el hecho de que no haya transferencia interocular (IOT) en ninguno de los paradigmas evaluados en *Chasmagnathus*.

En primer lugar, el desempeño en la sesión de evaluación de los animales que habían tenido el ojo cubierto durante el entrenamiento, puede ser simplemente el resultado de haberse utilizado ojos diferentes durante las sesiones. Bajo esta hipótesis, IOT no podría descartarse, ya que la retención deficiente sería consecuencia de la falta de congruencia entre los estímulos presentes durante el entrenamiento y los disponibles para la recuperación de la información almacenada (Spear 1973, 1978; Peck y Ader 1974; Overton 1978; Santucci y Riccio 1986). Sin embargo, dos líneas de evidencia no permiten sostener esta explicación.

a) Las curvas de entrenamiento, durante la habituación de la respuesta de escape de los animales monoculares derechos son muy similares a las de los izquierdos (Figura 23 a). Este resultado es especialmente relevante ya que se ha observado que cuando los estímulos son percibidos como realmente distintos, los perfiles de las curvas de entrenamiento son notablemente diferentes (Romano et al., 1991; Rakitin et al., 1991).

b) Los animales binoculares tienden a mostrar generalización de la respuesta habituada en ambos paradigmas, aún cuando existan diferencias muy marcadas entre los estímulos del entrenamiento y la evaluación. Así por ejemplo, se intentó infructuosamente en nuestro laboratorio, obtener una disrupción en la retención de la habituación exploratoria, mediante el

cambio, entre el entrenamiento y la evaluación de claves visuales de las paredes de la caja de elección. Sólo el fuerte contraste luz-oscuridad entre sesiones, logró impedir la habituación exploratoria de largo término (Fig 16, capítulo 6). Respecto a la habituación a largo término de la respuesta de escape, modificaciones notables en el tamaño de la pantalla no perjudican la retención (Lozada, et al., 1990). Por lo tanto, parece poco probable que una disparidad en la percepción visual de los dos ojos pueda explicar la falta de IOT.

De acuerdo a una segunda hipótesis, el resultado de los experimentos podría ser interpretada como evidencia de falta de IOT debido a una lateralización asimétrica de tipos de memoria (Sherry et al. 1981). En otras palabras, las memorias formadas por un sistema ocular no serian accesibles al sistema contralateral porque cada sistema atendería a diferentes tipos de memoria. Esta explicación ha sido ofrecida para interpretar para la falta de IOT en aves (Rogers, 1986; Andrew 1988, 1991; Rashid y Andrew 1989; Mench y Andrew 1986 y Clayton y Krebs 1994a).

Nos parece importante hacer notar una diferencia que concierne a la significación funcional atribuída a la lateralización en la memoria de aves y cangrejos. En aves, se supone generalmente que la lateralización constituye una ventaja para evitar conflictos entre la información que surge de los dos ojos. En efecto, los ojos dispuestos lateralmente, pueden considerarse de tipo **monocular**, con poca superposición. No parecería ser este el caso en los cangrejos, cuyos ojos se hallan en el extremo de un pedúnculo, y están dotados de

movimientos relativamente amplios, los que les permitirían barrer un ángulo considerable y tener así mayor grado de superposición.

La tercera explicación se basa en el trabajo con la hormiga del desierto *Cataglyphis* (Wehner y Müller 1985) sobre transferencia interocular. La falta de IOT en esos insectos se explica por el hecho que el locus de la memoria visual sería previo a la convergencia binocular. Consideramos que ésta interpretación con algunas variantes es la más adecuada para entender la falta de IOT en *Chasmagnathus*.

Nuestra hipótesis la formulamos en los siguientes términos, cuando un cangrejo monocular es evaluado con el ojo que estuvo cubierto durante el entrenamiento, no podría utilizar la información que entró a través del otro ojo y fue almacenada en el lóbulo óptico contralateral. Sin embargo, los animales monoculares podrían usar indistintamente la información almacenada en el locus ipsilateral si son entrenados y evaluados con el mismo ojo, o podrían usar una memoria integrada si son entrenados binocularmente. En otras palabras, suponemos que los cangrejos adquieren dos memorias monoculares idénticas, cada una convocada de manera independiente por los estímulos que entran por el ojo respectivo. Habría dos sistemas oculares simétricos jugando el mismo papel y los mecanismos de memoria serían entonces redundantes. Esta hipótesis no excluye la convergencia binocular de la información visual pero supone que no está involucrada en el engrama.

CAPITULO 8. CONCLUSIONES GENERALES.

1) El condicionamiento alimentario en *Chasmagnathus* depende fundamentalmente de una contingencia clásica, es decir, una contingencia entre un conjunto de estímulos, EC (la caja de elección) y el EI (el refuerzo).

2) El alimento puede tener un efecto activador sobre la exploración en la caja de elección (reducción de latencias desde CO --> CC). No obstante, tal efecto no parece ser consistente ni estar claramente modulada por el tiempo de ayuno.

3) La congruencia o incongruencia entre la hora en que los animales comen y aquella en que son evaluados no marca una diferencia en la actividad exploratoria. Una sola alimentación 24 hs antes de la evaluación no parece ser condición suficiente para imponer en *Chasmagnathus* un ritmo circadiano de exploración.

4) El condicionamiento alimentario de *Chasmagnathus* soporta una extensión del intervalo contexto-comida. Sin embargo, cuando esa dilación es al menos igual a una hora, la asociación EC-EI no se sostiene y reaparece la habituación.

5) Por lo dicho en el punto anterior, el grupo habituado en la caja de elección y alimentado luego de una hora o más en otro contexto, puede ser usado como control explícitamente no

pareado de los mecanismos que permiten la asociación de estímulos. En estas condiciones el efecto no asociativo del alimento no se manifiesta.

6) El retardo EC-EI implica que el cangrejo almacena una representación de un contexto que es inicialmente neutral, pero que por un período de tiempo puede ser asociado con una experiencia positiva posterior. Sería interesante explorar el período del intervalo EC-EI comprendido entre la hora 0 y la primera hora de la fase bidón.

7) El tiempo necesario para la construcción de la memoria del contexto en los experimentos de esta tesis fue de 1 h 30 min. Debería explorarse el mínimo requerido para una retención robusta a las 24 hs.

8) No podemos asegurar si la construcción de la representación del contexto implica el procesamiento de la información referente a cada uno de los elementos relevantes del entorno o la construcción de una representación unitaria. Sí podemos asegurar que las claves visuales son esenciales en la representación de ese entorno.

9) Esta última conclusión resultó apoyada por los experimentos de transferencia interocular. La falta de TIO en los tres paradigmas evaluados apoya fuertemente la relevancia de la información visual.

10) La falta de TIO, sugiere la idea de la posible intervención de centros asociativos en áreas de neuropilos del protocerebro lateral que serían periféricos a la convergencia de la información visual. Por esta razón la información almacenada del lado ipsilateral no estaría disponible del lado contralateral cuando los animales son entrenados con un sólo ojo descubierto.

BIBLIOGRAFIA:

- Abrams TW, Kandel ER (1988) Is contiguity detection in classical conditioning a system or a cellular property? Learning in *Aplysia* suggests a possible molecular site. *TINS* 11: 128-135.
- Abramson CI, Feinman RD (1987) Operant punishment of eye elevation in the green crab, *Carcinus maenas*. *Behav Neural Biol* 48: 259-277.
- Abramson CI, Feinman RD (1988) Classical conditioning of the eye withdrawal reflex in the green crab. *J Neurosci* 8: 2908-2912.
- Andrew RJ (1988) The development of visual lateralization in the domestic chick. *Behav Brain Res* 29: 201-209.
- Andrew RJ (1991) The nature of behavioural lateralization in the chick. En: *Neural and behavioural plasticity*. R.J. Andrew (ed). Oxford University Press. Oxford, pp 536- 554.
- Bainbridge R (1961) Migrations. En: *The physiology of crustacea (vol II)*. T.H. Waterman (ed). Academic Press, New York, pp 431-455.
- Barnwell FH (1963) Observations on daily and tidal rhythms in some fiddler crabs from equatorial Brazil. *Biol Bull* 125: 399-415.
- Barber AJ, Gilbert DB, Rose SPR (1989) Glycoprotein synthesis is necessary for memory of sickness-induced learning in chicks. *Eur J Neurosci* 1: 673-677.
- Bardo MT, Neisewander JL, Pierce RC (1989) Novelty-induced place preference behavior in rats: effects of opiate and

- dopaminergic drugs. *Pharmacol Biochem Behav* 32: 683-689.
- Bindra D, Spinner N (1958) Response to different degrees of novelty: The incidence of various activities. *J Exp Anal Behav* 1: 341-350.
- Blodgett HC (1929) The effect of the introduction of reward upon the maze performance of rats. *Univ Cal Publ Psychol* 4:113-134.
- Böck A (1942) Über das Lenvermögen bei Asseln, *Z. Vergl Physiol* 29: 595-637.
- Bond-Buckup G, Ferreira-Fontoura N, Possa-Marroni N, Kucharski LC (1991) O caranguejo. Editora da Universidade Porto Alegre, R.S. Brasil.
- Boschi EE (1964) Los crustáceos decápodos brachyura del litoral bonaerense. *Bol Inst Biol Mar* 6: 1-76.
- Botto JL, Irigoyen HR (1979) Bioecología de la comunidad del cangrejal. En: Seminario sobre ecología bentónica y sedimentación de la plataforma continental del Atlántico Sur. UNESCO, pp 161-169.
- Boulos Z, Terman M (1980) Food availability and daily biological rhythms. *Neurosci Biobehav* 4: 119-131.
- Brunner D, Maldonado H (1988) Habituation in the crab *Chasmagnathus granulatus*. Effect of morphine and naloxone. *J Comp Physiol* 162: 687-694.
- Bullock TH, Horridge GA (1965). En: Structure and function in the nervous systems of invertebrates. Freeman: San Francisco.
- Cady WG (1964) Piezoelectricity. Dover, New York.
- Castellucci V, Pinsker H, Kupfermann I, Kandel ER (1970)

- neuronal mechanisms of habituation and dishabituation of the gill withdrawal reflex in *Aplysia*. *Science* 177: 1745-1748.
- Catania AC (1963) Techniques for control of monocular and binocular viewing in the pigeon. *J Exp Anal Behav* 6: 627-629.
- Cervino CO, Medesani D, Rodriguez EM. Effects of dietary pellet food on metabolic rate of the midtidal crab *Chasmagnathus granulata* (submitted)
- Clayton NS, Krebs JR (1993). Lateralization in *Paridae* comparison of a storing and a non-storing species on a one-trial associative memory task. *J Comp Physiol A*, 171: 807-815.
- Clayton NS, Krebs JR (1994a) Memory for spatial and object-specific cues in food-storing and non-storing birds. *J Comp Physiol A* 174: 371-379.
- Clayton NS, Krebs JR (1994b) Lateralization and unilateral transfer of spatial memory in marsh tits: are two eyes better than one ? *J Comp Physiol A* 174: 769-773.
- Cowan WM, Adamson L, Powell TPS (1961) An experimental study of the avian visual system. *J Anat* 95: 545-562.
- Cowie A, Parkinson AM (1973) Effects of sectioning the corpus callosum on interocular transfer in hooded rats. *Exp Brain Res* 18: 433-445.
- Cowles RP (1908) Habits, reactions, and associations in *Ocypoda arenaria*. Tortugas Lab. Carnegie Inst Wash 2: 1-41.
- Davis M (1989) Neural systems involved in fear potentiated startle. *Ann New York Acad Sci* 563: 165-183.

- Davis M, File SE (1984) Intrinsic and extrinsic mechanisms of habituation and sensitization: Implication for the design and analysis of experiments. En: Habituation, sensitization and behavior. H.V.S. Peek, L. Petrinovich (eds). Academic Press, New York, pp: 287-323.
- Delorge JO (1968) Exploratory behavior in gold fish. En: Animal behavior in laboratory and field. A.W. Stokes (ed). W.H. Freeman and Company, San Francisco, pp 167-170.
- Denti A, Dimant B, Maldonado H (1988) Passive avoidance learning in the crab *Chasmagnathus granulatus*. *Physiol Behav* 43: 317-320.
- Dimant B, (1991) Comportamiento exploratorio en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus*. Habitación y aprendizaje apetitivo. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires.
- Dimant B, Maldonado H (1992) Habituation and associative learning during exploratory behavior of the crab *Chasmagnathus*. *J Comp Physiol A* 170: 749-759.
- Drzewina A (1910) Création d'associations sensoriels chez les crustacés. *Compt Rend Soc Biol Paris*, 68: 573-575.
- Elofsson R, Klemm N (1972) Monoamine-containing neurons in the optic ganglia of crustaceans and insects. *Z. Zellforsch* 133: 475-499.
- Elofsson R, Nassel D, Myhrberg H (1977) A catecholaminergic neuron connecting the first two optic neuropils (lamina ganglionaris and medula externa) of the crayfish *Pacifastacus linusculus*. *Cell Tissue Res* 182: 287-297.
- Erber J, Homberg U, Gronenberg W (1987). Functional roles of the mushroom bodies in insects. En: *Arthropod brain. Its*

- evolution, development, structure and functions. Ayodhya Gupta (ed). J. Willey & sons, New York, pp 485-511.
- Falck B (1962) Observations on the possibilities of the cellular localization of monoamines by a fluorescence method. *Acta Physiol Scand* 197 (suppl): 1-25.
- Fanselow MS (1990) Factors governing one trial context conditioning. *An Learn Behav* 18: 264-270.
- Fernandez de Miguel F, Aréchiga H (1994) Circadian locomotor activity and its entrainment by food in the crayfish *Procambarus clarki*. *J Exp Biol* 190: 9-21.
- Fernandez-Duque E, Valeggia C, Maldonado H (1992) Multitrial inhibitory avoidance learning in the crab *Chasmagnathus*. *Behav Neural Biol* 57: 189-197.
- Fink HK (1941) Deconditioning of the "fright reflex" in the hermit crab, *Pagurus longicarpus*. *J Comp Psychol* 32: 33-39.
- Fine-Levy JB, Derby CD, Daniel PC (1987) Chemosensory discrimination. Behavioral capabilities of the spiny lobster. *An NY Acad Sci* 510: 280-283.
- Fine-Levy JB, Girardot MN, Derby CD, Daniel PC (1988). Differential associative conditioning and olfactory discrimination in the spiny lobster *Panulirus argus*. *Behav Neural Biol* 49: 315-331.
- Fraser PJ (1974a) Interneurons in crab connectives (*Carcinus maenas* L.): giant fibres. *J Exp Biol* 61: 593-614.
- Fraser PJ (1974b) Interneurons in crab connectives (*Carcinus maenas* L.): directional statocyst fibres. *J Exp Biol* 61: 615-628.
- García J, Koelling RA (1966) Relation of to consequence in

- avoidance learning. *Psychon Sci* 4: 123-124.
- Garcia J, McGowan BK, Ervin FR, Koelling RA (1968) Cues: Their relative effectiveness as a function of the reinforcer. *Science* 160: 794-795.
- Gaston KE, Gaston MG (1984) Unilateral memory after binocular discrimination training: Left hemisphere dominance in the chick ? *Brain Res.* 303, 190-193.
- Glantz RM (1977) Visual input and motor output of the command interneurons in the defense reflex pathway of the crayfish. En: *Identified neurons and behavior of arthropods*. G. Hoyle (ed). New York, pp 259-274.
- Glanzer M (1953) Stimulus satiation: An explanation of spontaneous alternation and related phenomena. *Psychol Rev* 60: 257-268.
- Godoy A, Maldonado H (1995) Modulation of the escape response by D(Ala²) Met-enkephalin in the crab *Chasmagnathus*. *Pharmacol Biochem Behav* 50: 445-451.
- Goldstone MW, Cooke IM (1971) Histochemical localization of monoamines in the crab central nervous system. *Z. Zellforsch* 116: 7-19.
- Graves JA, Goodale MA (1977) Failure of interocular transfer in the pigeon (*Columba livia*). *Physiol Behav* 19: 425-428.
- Green L, Brecha N, Gazzaniga, MS (1978) Interocular transfer of simultaneous but not successive discriminations in the pigeon. *Anim Learn Behav* 6(3): 261-264.
- Groves PM, Thompson RF (1970) Habituation a dual-process theory. *Psychol Rev* 77: 419-450.
- Hau M, Gwinner E (1992) Circadian entrainment by feeding

- cycles in house sparrows, *Passer domesticus*. J Comp Physiol A 170: 403-409.
- Hanström B (1931, 1933, 1934a,b) Neue Untersuchungen über Sinnesorgane und Nersystem der Crustacean. I. Z. Morphol Oekol. Tiere 23: 80-236. II. Zool Jahrb Abt Anat Ontog Tiere 56: 287-520. III. Zool Jahrb Abt Anat Ontog Tiere 58: 101-144. IV. Ark Zool 26A (24): 1-66.
- Hanström B (1928) Vergleichende Anatomie des nervensystems der wirbellosen Tiere. Springer-Verlag, Berlin, Heydelberg, New York.
- Harris JE (1963) The role of endogenous rhythms in vertical migration. J Marine Biol Ass G B 43: 153-166.
- Hazlett BA (1966) Temporary alteration on the behavioral repertoire of a hermit crab. Nature 210: 1169-1170.
- Hearst E, Jenkins HM (1974) Sign tracking: the stimulus-reinforcer relation and directed actions. Monograph of the psychonomic Society. Austin, Texas.
- Heimer A (1982) Diccionario etológico. Omega ed, pp 69.
- Hermitte G, Aggio J, Maldonado H, (1995) Failure of interocular transfer in two types of learning in the crab *Chasmagnathus*. J Comp Physiol 177(3): 371-378.
- Hollis KL (1982) Pavlovian conditioning of signal-centered action patterns and automatic behavior: A biological analysis of function. Adv Study Behav 12: 164.
- Horridge GA (1978) Mechanistic teleology and explanation in neuroethology. Biosci 27 (11): 725-732.
- Howse PE (1974) Design and function in the insect brain. En: Experimental analysis of insect behaviour. L. Barton-Browne

- (ed). Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp 180-194.
- Hull CL (1943) Principles of behavior. En: Appleton-Century-Crofts, New York.
- Ingle JD (1965) Interocular transfer in Goldfish: Color easier than pattern. Science 149: 1000-1002.
- Ingle JD (1968) Interocular integration of visual learning by goldfish. Brain Behav Evol 1: 58-85.
- Izquierdo I, Cavalheiro EA (1976) Three main factor in rat shuttle behavior: Their pharmacology and secuential entry in operation during a two-way avoidance session. Psychopharmacol 49: 145-157.
- Izquierdo I, Paiva ACM, Elisabetsky E (1980) Post-training intraperitoneal administration of leu-enkephalin and beta-endorphin causes retrograde amnesia for two different tasks in rats. Behav Neural Biol 28: 246-250.
- Izquierdo I, Perry ML, Dias RD, Souza DO, Elisabetsky E, Carrasco MA, Orsingher OA, Netto CA (1981) Endogenous opioids, memory modulation and state dependency. En: Endogenous peptides and learning and memory processes. R. A. Gensen, R.B. Messing, H. Rigter & J.L. McGaugh (eds). Academic Press: New York, pp 269-290.
- Izquierdo I, Souza DO, Dias RD, Carrasco MA, Volkmer N, Perry MLS, Netto Ca (1984). Effect of various behavioral training and testing procedures on brain β -endorphin like immunoreactivity and the possible role of β -endorphin in behavioral regulation. Psychoneuroendocrinol 9: 381-389.
- Izquierdo I, Netto CA (1985) The brain β -endorphin system

- and behavior: The modulation of consecutively and simultaneously processed memories. *Behav Neural Biol* 44: 249-265.
- Jackson NW, Elwood RW (1989a) Memory of information gained during shell investigation by the hermit crab, *Pagurus bernhardus*. *Anim Behav* 37 (4): 529-534.
- Jackson NW, Elwood RW (1989b) How animals make assessments: information gathering by the hermit crab *Pagurus bernhardus*. *Anim Behav* 38 (6): 951-957.
- Jilge B (1992) Restricted feeding: a nonphotic zeitgeber in the rabbit. *Physiol Behav* 51: 157-166.
- Kandel ER (1976) *En: Cellular basis of behavior*. W.H. Freeman (ed), San Francisco.
- Kandel ER (1979a) *Microsistemas de neuronas*. *En: El cerebro*. Libros de Investigación y ciencia. Barcelona.
- Kim JJ, Fanselow MS (1992) Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science* 256: 675-677.
- Klein J, Hammer M, (1993) Learning dependent timing of the conditioned response in olfactory conditioning of the honey bee. *En: Gene-brain-behaviour*. Proceedings of the 21st Göttingen Neurobiology Conference. N. Elsner, M. Heisenberg (eds). Thieme: Stuttgart, pp 849.
- Kolterman R (1971) 24-Std-Periodik in der langzeiterinnerung and duft-und farbsignalen bei der Honigbiene. *Z vergl Physiol* 75: 49-68.
- Konorski J (1967) *Integrative activity of the brain: an interdisciplinary approach*. University of Chicago Press: Chicago.

- Korn JF, Moyer KE (1966) Habituation of the startle response and of heart rate in rat. *Can J Psychol* 20: 183-190.
- Krasne FB (1972) Learning in crustacea. En: *Invertebrate learning* (vol 2). W. Corning, J. Dyal, A.O.D. Willows (eds). Plenum, New York, pp 49-129.
- Krasne FB (1976) Invertebrate systems of gaining insight into the nature of learning and memory. En: *Neural mechanisms in learning and memory*. M.R. Rosenzweig, Bennet (eds). Mit Press. Cambridge, Mass, pp 401-429.
- Krasne FB, Lee SC (1988) Response-dedicated trigger neurons as a control point for behavior action: Selective inhibition of lateral giant command neurons during feeding in crayfish. *J Neurosci* 8: 3708-3712.
- Krasne FB, Woodsmall KS (1969) Waning of the crayfish escape response as a result of repeated stimulation. *Anim Behav* 17: 416-424.
- Le Moal M, Dantzer R, Mormede P, Baduel A, Lebrun C, Ettenberg A, van der Kooy D, Wenger J, Deyo S, Koob JF, Bloom FE (1984) Behavioral effects of peripheral administration of arginine vasopressin: a review of our search for a mode of action and a hypothesis. *Psychoneuroendocrinol* 9(4): 319-341
- Levine J (1945) Studies in the interrelations of central nervous structures in binocular vision: I. The lack of bilateral transfer of visual discriminative habits acquired monocularly by the pigeon. *J Gen Psychol* 67: 105-129.
- Lindberg RG (1955) Growth, population dynamics, and field

- behavior in the spiny lobster *Panulirus interruptus* (Randall). Univ Calif Publ Zool 59: 157-247.
- Lozada M, Romano A, Maldonado H, (1988) Effect of morphine and naloxone on a defensive response of the crab *Chasmagnathus granulatus*. Pharmacol Biochem Behav 30: 635-640.
- Lozada M, Romano A, Maldonado, H (1990) Long-term habituation to a danger stimulus in the crab *Chasmagnathus granulatus*. Physiol Behav 47: 35-41.
- Lozada M (1994) Habitación a largo término y especificidad del estímulo en el cangrejo *Chasmagnathus granulatus*. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires.
- Mackintosh NJ (1983) Conditioning and associative learning. Oxford University Press. New York.
- Maier NRF (1932) A study of orientation in the rat. J Comp Psychol 14: 387-399.
- Maldonado H, Romano A, Lozada, M (1989) Opioid action on response level to a danger stimulus in the crab *Chasmagnathus granulatus*. Behav Neurosci 103: 1139-1143.
- Mallin HD, Delius JD (1983) Inter- and intraocular transfer of color discriminations with mandibulation as an operant in the head-fixed pigeon. Behav Anal Lett 3: 297-309.
- Marlin NA, Miller RR (1981) Association to contextual stimuli as determinant of long term habituation. J Exp Psychol, An Behav Proc 7: 313-333.
- Martinez EA, Murray M, Leung MK, Stefano GB (1988) Evidence for dopaminergic and opioid involvement in the regulation of locomotor activity in the land crab *Gecarcinus lateralis*. Comp Biochem Physiol 90c: 89-93.

- McCleary RA (1960) Type of response as a factor in interocular transfer in the fish. *J Comp Physiol Psychol* 53: 311-321.
- Mench JA, Andrew RJ (1986) Lateralization of a food research task in the domestic chick. *Behav Neural Biol* 46: 107-114.
- Menkhaus I (1957) Versuche über einäugiges Lernen und Transponieren beim Haushuhn. *Z Tierpsychol Forsch* 14: 210-230.
- Menzel R, Bitterman ME (1983) Learning by honeybees in an unnatural situation. In: *Behavioral physiology and neuroethology: roots and growing points*. F. Huber, H. Markl (eds). Springer: Berlin, pp 206-215.
- Mikhailoff S (1920) Expérience réflexologique-L'activité neuro-psychique (formation des réflexes associés) est-elle possible sans l'écorce cérébrale ? Analyse de l'état actuel de la question et expériences nouvelles sur *Pagurus striatus*. *Bull Inst Océan. Monaco*, 375.
- Miller V, Domjan M (1981) Specificity of cue to consequence in aversion learning in the rat: Control for US-induced differential orientation. *Anim Learn Behav* 9: 339-345.
- Mohn G, Steele Russell I (1983) Visual discrimination learning under conditions of interocular conflict in hooded and albino rats. *Behav Brain Res* 7: 371-378.
- Muntz WRA (1961) Interocular transfer in *Octopus vulgaris*. *J Comp Physiol Psychol* 54: 49-55.
- Myhrberg HE, Elofsson R, Aramant R, Klemm N, Laxmyr L (1979) Selective uptake of exogenous catecholamines into nerve fibres in crustaceans. A fluorescence histochemical

- investigation. *Comp Biochem Physiol* 62 C: 141-150.
- Nadel L, Willner J (1980) Context and conditioning: a place for space. *Physiol psychol* 8: 218-228.
- Nadel L, Willner J, Kurz EM (1985) Cognitive maps and environmental context. En: *Context and learning*. P.D. Balsam, A. Tomie (eds). Hillsdale, NJ: Earlbaum, pp 385-406.
- Nalbach HO (1990) Visually elicited escape in crabs. En: *Frontiers in crustacean neurobiology*. K. Viese, W.D. Kren, J. Tautz, H. Reichert, B. Mulloney (eds). Birkhauser Verlag AG, Berlin, pp 165-173.
- Nassel DR, Elofsson R (1987). Comparative anatomy of the crustacean brain. En: *Arthropod brain. Its evolution, development, structure and functions*. A.P. Gupta (ed), pp 111-133.
- Netto CA, Dias RD, Izquierdo H (1986) Differential effect of posttraining naloxone, β -endorphine, leu-enkephaline and electroconvulsive shock administration upon memory of an open-field habituation and of a water-finding task. *Psychoneuroendocrinol* 11(4): 437-446.
- Nishimoto RT, Herrnkind W (1978) Directional orientation in the blue crab, *Callinectes sapidus* Rathbun: Escape responses and influence of wave direction. *J Exp Mar Biol Ecol* 33: 93-112.
- Oliver SR, Escofet A, Penchaszadeh P, Orensanz JM, (1969a) Estudios ecológicos de la región estuarial de Mar Chiquita. I. Las comunidades bentónicas. *An Soc Cientif Arg* 193: 237-262.
- Oliver SR, Escofet A, Penchaszadeh P, Orensanz JM, (1969b)

- Estudios ecológicos de la región estuarial de Mar Chiquita. II. Relaciones tróficas interespecíficas. An Soc Cientif Arg 194: 89-104.
- Overton DA (1978) Major theories of state dependent learning. En: Drug discrimination and State dependent learning. B.T. Ho (ed). Academic Press: New York.
- Page TL, Larimer J (1972) Entrainment of the circadian locomotor activity rhythm in crayfish. J Comp Physiol 78: 107-120.
- Pavlov IP (1927) Conditioned reflexes. Oxford Univ Press: London, pp 430.
- Pavlov I (1962). Essays in psychology and psychiatry. New York: Citadel.
- Peck JH, Ader R (1974) Illness-induced taste aversion under states of deprivation and satiation. Anim Learn Behav 2: 6-8.
- Peeke HVS (1984) Habituation and maintenance of territorial boundaries. En: Habituation, sensitization and behavior. HVS Peek, L. Petrinovich (eds). Academic Press: New York, pp 393-421.
- Peeke HVS, Veno A (1976) Response independent habituation of territorial aggression in the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus*. Zeits Tierpsychol 40: 53-54.
- Pedreira ME, Dimant B, Tomsic D, Quesada-Allué LA, Maldonado H, (1995a). Cycloheximide inhibits context memory and long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*. Pharmacol Biochem Behav 52: 124-127.
- Pedreira ME, Dimant B, Maldonado H Inhibitors of portein and

- RNA synthesis block context memory and long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*. *Pharmacol Biochem Behav* (en prensa).
- Pereyra P, de la Iglesia H, Maldonado H. Training to testing intervals differente from 24 hours impair habituation in the crab *Chasmagnathus*. *Physiol Behav* (en prensa).
- Pittendrigh CS (1981) Circadian systems: general perspective. En: *Handbook of behavioral neurobiology*, vol 4, biological rhythms. J. Aschoff (ed). Plenum Press: New York, London, pp 57-80.
- Rakitin A, Tomsic D, Maldonado H (1991) Habituation and sensitization to an electrical shock in the crab *Chasmagnathus*. Effect of background illumination. *Physiol Behav* 50: 477-487.
- Rashid M, Andrew RJ (1989) Right hemisphere advantage for topographical orientation in the domestic chick. *Neuropsychologia* 27: 937-948.
- Rescorla RA (1967) Pavlovian conditioning and its proper control procedures. *Psychol Rev* 74: 71-80.
- Rescorla RA (1988) Behavioral studies of Pavlovian conditioning. *Ann Rev Neurosci* 11: 329-352.
- Rescorla RA, Solomon RL (1967) Two-process learning theory: relationships between Pavlovian conditioning and instrumental learning. *Psychol Rev* 74: 151-182.
- Rescorla RA, Wagner AR (1972) Theory of Pavlovian conditioning: variations in the effectiveness of reinforcement and nonreinforcement. En: *Classical conditioning II: current research and theory*. A.H. Black &

- W.F. Prokasy (eds). Appleton-Century-Crofts: New York, pp 44-99.
- Robinson SR (1982) Interocular transfer in a marsupial: the brush-tailed possum (*Trichosurus vulpecula*). *Brain Behav Evol* 21: 114-124.
- Rodgers RJ, Richards C, Precious JI (1984) Naloxone administration following brief exposure to novelty reduces activity and rearing in mice upon 24-h retest: A conditioned aversion ? *Psychopharmacol* 82: 322-326.
- Rogers LJ (1986) Lateralization of learning in chicks. *Adv Study Behav* 16: 147-189.
- Romano A, Lozada M, Maldonado H (1990). Effect of naloxone pretreatment on habituation in the crab *Chasmagnathus granulatus*. *Behav Neur Biol* 53: 113-122.
- Romano A, Lozada M, Maldonado H (1991) Non habituation processes affect stimulus specificity of the response-habituation in the crab *Chasmagnathus granulatus*. *Behav Neurosci* 105: 542-552.
- Romano A, Delorenzi A, Pedreira ME, Tomsic D, Maldonado H. Acute administration of a permeant analog of cAMP and a phosphodiesterase inhibitor improve long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*. *Behav Brain Res* (en prensa).
- Romano A, Locatelli F, Pedreira ME, Delorenzi A, Maldonado H, Effect of activation and inhibition of the cAMP-dependent protein kinase on long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*. *Brain Res* (enviado para su publicación).
- Rosenthal R, Rosnow RL, (1985) *En: Contrast analysis. Focused comparisons in the analysis of variance.* Cambridge

- University Press (ed). New York.
- Rossi JB (1982) Aspectos hibrobiológicos del arroyo San Clemente (bahía Samborombón). Revista del Museo de La Plata. Zoología, 132: 29-38.
- Rudy JW (1993) Contextual conditioning and auditory cue conditioning dissociate during development. Behavioral Neuroscience 107: 887-891.
- Rudy JW, Morledge P (1994) Ontogeny of contextual fear conditioning in rats: Implications for consolidation, infantile amnesia, and hippocampal system function. Behav Neurosci 108(2): 227-234.
- Sandeman DC (1982) Organization of the central ganglia. In: The biology of crustacea, vol 3. Neurobiology: Structure and Function. H.L. Atwood and D.C. Sandeman (ed). Academic Press: New York, pp 1-61.
- Sandeman D (1990) Structural and functional levels in the organization of decapod crustacean brains. En: Frontiers in crustacean neurobiology. K. Wiese (ed). Basel, Boston, Berlin.
- Sandeman DC (1982) Organization of the central nervous system. En: The biology of crustacea (vol 3). Neurobiology, Structure and Function. H.L. Atwood, D.C. Sandeman (eds). Academic Press, New York, pp 1-61.
- Santos EA, Stefanello TM (1991) The hemolymph of *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Decapoda, Grapsidae) as a target tissue of the crustacean hyperglycemic hormone. Brazilian J Med Biol Res 24: 267-270.

- Santucci AC, Riccio DC (1986) Hypothermia-induced anterograde amnesia and its reversal in rats trained on a T-maze task. *Physiol Behav* 36: 1065-1069.
- Saraco M, Maldonado H, (1995) Ethanol affects context memory and long-term habituation in the crab *Chasmagnathus*. *Pharmacol Biochem Behav* 51(2/3): 223-229.
- Schulte A (1957) Transfer und transpositionsversuchemit monokulardressierten Fischen. *Z vergl Physiol* 39: 432-476.
- Sharma SC (1972) The retinal projections in the crayfish: An experimental study. *Brain Res* 39: 213-223.
- Sherrington C (1906) The integrative action of the nervous system. New Haven. Conn: Yale University Press.
- Sherry DF, Krebs JR, Cowie RJ (1981) Memory for the location of stored food in marsh tits. *Anim Behav* 29: 1260-1266.
- Spear NE (1973) Retrieval of memory in animals. *Psychol Rev* 80: 163-175.
- Shöne H (1961) Complex behavior. En: The physiology of crustacea (vol II). T.H. Waterman (ed). Academic Press, New York, pp 465-520.
- Skinner BF, (1938) The behavior of organisms. Appleton-Century-Crofts, New York.
- Sokolov EN (1963) Perception and conditioned reflex. Pergamon: Oxford.
- Spaulding EG (1904) An establishment of association in hermit crabs, *Eupagurus longicarpus*. *J Comp Neurol* 14: 49-61.
- Spear NE (1978) The processing of memories: Forgetting and retention. Hillsdale, NJ: Erlbaum.
- Stephan FK (1986) The role of period and phase in

- interactions between feeding- and light- entrainable circadian rhythms. *Physiol Behav* 36: 151-158.
- Strausfeld NJ (1976) *Atlas of an insect brain*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Taylor RC (1970) Environmental factors which control the sensitivity of a single crayfish interneuron. *Comp Biochem Physiol* 33: 911-921.
- Tenen SS (1965) Retrograde amnesia from electroconvulsive shock in a one-trial appetitive learning task. *Science* 148: 1248-1250.
- Thompson RF, Spencer WA (1966) Habituation: A model phenomenon for the study of neural substrates of behavior. *Psychol Rev* 43: 258-281.
- Thorpe WH (1963) *Learning and instinct in animals* (2da edición). London: Methuen.
- Tiunova AA (1994) Interocular memory transfer after monocular visual discrimination learning in chicks. En: *Neuronal mechanisms of learning and memory. Localization and formation of memory trace*. European Science Foundation (ed). *Il Ciocco*, pp 18.
- Tolman EC (1932) *Purposive behavior in animals and men*. Century, New York.
- Tolman EC (1948) Cognitive maps in rats and men. *Psychol Rev* 55: 189-208.
- Tolman EC (1949) There is more than one kind of learning. *Psychol Rev* 56: 144-155.
- Tolman EC, Honzik CH (1930) Introduction and removal of reward, and maze performance in rats. *Univ Calif Publs Psychol* 4:

- 257-275.
- Tomsic D, Maldonado H (1990) Central effect of morphine pretreatment on short and long-term habituation to a danger stimulus in the crab *Chasmagnathus*. *Pharmacol Biochem Behav* 36: 787-793.
- Tomsic D, Maldonado H, Rakitin A (1991) Morphine and GABA: effects on perception, escape response and long-term habituation to a danger stimulus in the crab *Chasmagnathus*. *Brain Res Bull* 26: 699-706.
- Tomsic D, Massoni B, Maldonado H, (1993) Habituation to a danger stimulus in two semiterrestrial crabs: ontogenic, ecological and opioid modulation correlates. *J Comp Physiol a* 173: 621-633.
- Tomsic D, Dimant B, Maldonado H (1995) Age-related deficits of long-term memory in the crab *Chasmagnathus*. *J Comp Physiol A* 176:
- Valeggia C, Fernandez-Duque E, Maldonado H, (1989) Danger stimulus-induced analgesia in the crab *Chasmagnathus granulatus*. *Brain Res* 481: 304-308.
- Varju D, Sandeman DC (1989) Tactile learning in a new habitat an spatial memory in the crayfish *Cherax destructor*. En: Dynamics and plasticity in neural systems. N. Elsner, W. Singer (eds). Thieme: Stuttgart, pp 21.
- Volz P (1938) Studien über das Knallen der Alpheiden, nach Untersuchungen an *Ahpheus dentipes* Guérin und *Synalpheus laeuimanus* (Heller). *Z Morphol Okol Tiere*, 34
- von Bethe A (1898) Das centralnervensystem von *Carcinus maenas* II *Arch Mikroskop Anat* 51: 382-452.

- Wagner AR (1976) Priming in STM: An information-processing mechanism for self-generated or retrieval-generated depression of performance. En: Habituation: Perspectives from child development, animal behavior and neurophysiology. T.J. Tighe, R.M. Leaton (eds). Lawrence Erlbaum Associates. Hillsdale, N.J., pp 95-128.
- Wagner AR (1978) Expectancies and the priming of STM. In: Cognitive Processes in Animal Behavior. SH Hulse, H Fowler & WK Honig (eds). Erlbaum Hillsdale, NJ, pp 177-209.
- Wagner Ar (1979) Habituation and memory. En: Mechanisms of learning and motivation. A. Dickinson, R.A. Bookes (eds). Erlbaum, Hillsdale, N.J.
- Wallace JC (1973) Feeding, starvation and metabolic rate in the shore crab *Carcinus maenas*. Marine Biol 20: 277-281.
- Warren HC (1921) A history of the association psychology. New York: Scribner pp 328.
- Waterman TH, Wiersma CAG (1963) Electrical responses in decapod crustacean visual systems. J Cell Comp Physiol 61: 1-16.
- Wehner R, Müller M (1985) Does interocular transfer occur in visual navigation by ants ? Nature 315 (6016): 228-229.
- Welker WI (1959) Escape, exploratory, and food-seeking responses of rats in a novel situation. J Comp Physiol Psychol 52: 106-111.
- Wiersma CAG, Yamaguchi T (1966) The neuronal components of the optic nerve of the crayfish as studied by single unit analysis. J Comp Neur 128: 333-358.
- Wiersma CAG, Yamaguchi T (1967) Integration of visual stimuli by the crayfish central nervous system. J Exp Biol

47: 409-431.

Woodbury PB (1986) The geometry of predator avoidance by the blue crab, *Callinectes sapidus* Rathbun. Anim Behav 34: 28-37.