



## **Condicionamiento operante neonatal:**

### **Auto-administración de leche en ratas de 5 días de edad**

Tesista: Agustín Molina

Director: Carlos Arias

---

**Resumen:** En este estudio se presenta una técnica de condicionamiento instrumental para su aplicación en la temprana ontogenia de la rata. El procedimiento se basa en la auto-administración de leche a nivel neonatal. Este reforzador es contingente con movimientos de cabeza y miembros anteriores que la cría emite en el contexto del amamantamiento. En dos experimentos se analizó cómo cambia la probabilidad de ejecución de dichos movimientos (conducta operante) en función de la contingencia con la infusión intraoral de leche (reforzador). Además, se estudió cómo la variación sistemática de la magnitud del reforzador o de la cantidad de separación materna puede afectar la adquisición del condicionamiento instrumental. Las crías de 5 y 6 días de edad mostraron diferencias en la ejecución de dichas conductas en función de la contingencia con el reforzador tras dos (Experimento 1) o una (Experimento 2) fase de adquisición de 15 minutos. Además, los sujetos apareados mostraron una mayor tasa de respuesta al comienzo de la extinción. Los resultados evidencian la efectividad de la técnica desarrollada y su valor potencial para el estudio de procesos de aprendizaje en la temprana ontogenia. Permite asimismo analizar posibles mecanismos que regulan las propiedades motivacionales de reforzadores naturales o de otras sustancias, tal el caso del alcohol.

**Palabras clave:** aprendizaje operante o instrumental - infantes - reforzador - adquisición – extinción.

---

## **Introducción**

A pesar de la relativa inmadurez en el momento del nacimiento, la cría de rata dispone de ciertas capacidades sensoriales (Lecanuet & Schaal, 1996), perceptivas (Hoffman, Flory & Alberts, 1999a, b) y de aprendizaje (Johanson & Hall, 1979), que le permiten llevar a cabo las actividades básicas que garantizan su supervivencia. Ya a nivel prenatal se observan comportamientos secuenciados y coordinados conocidos como

patrones de acción fetal (Robinson & Brumley, 2005). Entre dichos patrones de conducta se encuentra la conducta de limpieza facial (en inglés, facial wiping; Berridge, 2000; Robinson & Smotherman, 1991) y la respuesta de estiramiento (en inglés, stretch response; Andersen, Robinson & Smotherman, 1993; Robinson & Brumley, 2005). Además, cuando el pezón se acerca a la región perioral, tanto el feto como la cría de rata son capaces de responder con movimientos laterales de cabeza y con una presión activa del pezón. La cría recién nacida dispone también de otro tipo de conductas orales que son emitidas en respuesta a la estimulación quimiosensorial, tal el caso de los movimientos bucales, el lameteo o el chupeteo (Robinson & Smotherman, 1992a). Por su parte, a los 4 ó 5 días de edad la madurez motora de la cría de rata le permite no sólo emitir respuestas de orientación y exploración con la cabeza sino que también aparecen conductas exploratorias que involucran las extremidades delanteras (Alberts, 2005).

A pesar de la relativa inmadurez del repertorio conductual durante la ontogenia temprana, distintos autores han desarrollado técnicas para la evaluación de condicionamiento instrumental aplicables a neonatos e infantes (Amsel, Burdette & Letz, 1976; Flory, Langley, Pfister & Alberts, 1997; Guenaire, Costa & Delacour, 1982; Johanson & Hall, 1979; Kenny & Blass, 1977; Lithgow & Barr, 1984). Estas técnicas requieren por lo general de largos períodos de separación materna y aislamiento social factibles de inducir estrés, hiponutrición y/o fatiga; procesos que pueden incidir sobre el aprendizaje y la memoria.

Recientemente se ha desarrollado una técnica basada en la presión de un pezón artificial que permite analizar efectos motivacionales de reforzadores líquidos, tal el caso de la leche y una solución de sacarina. El tiempo que duran las sesiones de condicionamiento cuando se emplea el pezón artificial es de sólo 10 minutos; tiempo que parece suficiente para la adquisición de respuestas condicionadas de carácter apetitivo (por ejemplo, Petrov, Nizhnikov, Kozirov, Varlinskaya, Kramskaya & Spear, 2004). Durante la adquisición de la conducta de succión del pezón artificial se observa un incremento gradual de los movimientos de cabeza y de las extremidades delanteras del neonato (Bordner, Molina & Spear, 2006). Estas conductas en el medio natural están destinadas a estimular la glándula mamaria. El incremento progresivo que se observa en estas conductas puede ser interpretado como un proceso de condicionamiento clásico (asociación del pezón en calidad de estímulo condicionado con las propiedades incondicionales de la leche) o un proceso de aprendizaje instrumental (asociación entre

conductas propias de la lactancia y reforzamiento lácteo; véase Petrov, Varlinskaya, & Spear, 2003). Esta última observación sugiere la posibilidad de un aprendizaje asociativo rápido y básico que no requeriría de largos períodos de separación materna o largas sesiones de entrenamiento. Estas observaciones dieron pie a los objetivos e hipótesis del presente estudio.

## **Objetivos**

### *Objetivo general*

Diseñar una tarea de condicionamiento instrumental que pueda ser aplicada en diferentes edades de la temprana ontogenia de la rata. El interés radica en abrir nuevas posibilidades al estudio de capacidades infantiles de aprendizaje, así como ofrecer una forma alternativa de auto-administración que potencialmente pueda aplicarse no sólo a reforzadores naturales (leche) sino también a otras sustancias como el alcohol.

### *Objetivos específicos*

- Diseñar una tarea de condicionamiento instrumental en la cual el neonato (5 y 6 días de edad) pueda ser entrenado efectivamente sin los requisitos de largas sesiones de entrenamiento y largos períodos de separación materna o social.
- Analizar la incidencia de factores tales como la cantidad de separación materna o la magnitud del reforzador sobre el proceso de aprendizaje.
- Analizar si el proceso de auto-administración del reforzador modula subsecuentes patrones de aceptación del mismo.

## **Hipótesis**

Considerando los antecedentes, la hipótesis que guía este estudio es que las crías de 5 y 6 días de vida postnatal serán capaces de modificar su comportamiento de acuerdo a la contingencia del mismo con la disponibilidad de un reforzador. Este aprendizaje ocurrirá en un período relativamente corto de entrenamiento. Además, variables como la magnitud del reforzador o la cantidad de tiempo que las crías estén separadas de la madre tendrán impacto sobre la ejecución de la tarea diseñada. Esto permitirá definir los parámetros más adecuados para la aplicación del procedimiento.

### **Experimento 1: Aplicación de un procedimiento de condicionamiento instrumental en crías de rata de 5 y 6 días de edad**

Los sujetos bajo examinación fueron ratas de 5 días de edad. En este momento evolutivo se han aplicado otras técnicas de condicionamiento instrumental que requirieron significativa motivación inducida por largos períodos de aislamiento materno o social (por ejemplo, Domínguez, López, Chotro, & Molina, 1996; Johanson & Hall, 1979). También es necesario destacar que la técnica del pezón artificial no puede utilizarse luego del segundo día de vida postnatal ya que las crías parecen discriminar rápidamente las características del pezón materno en referencia a las del pezón artificial (Cheslock, Varlinskaya, Petrov & Spear, 2000). Como se observará, el procedimiento desarrollado pretende evitar períodos extensos de aislamiento del neonato y puede ejecutarse utilizando sesiones de entrenamiento de mínima duración.

En base a la literatura preexistente, el reforzador elegido fue la leche dado que las crías de rata son altamente sensibles a las propiedades reforzantes de la misma. La infusión intraoral de leche asociada a estímulos ambientales relativamente neutros promueve un rápido aprendizaje apetitivo, el cual puede ocurrir en una sola sesión de condicionamiento (Cheslock, Varlinskaya, Petrov, & Spear, 2000). La leche no sólo representa el único soporte nutritivo del organismo recién nacido sino también posee la propiedad de activar el sistema opioide endógeno, que participa en la modulación de procesos de aprendizaje apetitivo derivados de distintas experiencias tempranas con distintos reforzadores (Robinson, Arnold, Spear & Smotherman, 1993; Chotro & Arias, 2003; Nizhnikov, Varlinskaya, Petrov, & Spear, 2006; Roth & Sullivan, 2003). Además, bajo condiciones de estrés, la leche produce efectos calmantes (Blass & Fitzgerald, 1988; Blass, Shide, & Weller, 1989). Por lo tanto, este nutriente posee la capacidad de actuar como reforzador positivo o negativo.

En el Experimento 1, se comparó el desempeño de sujetos apareados y sus controles no apareados durante dos fases consecutivas de condicionamiento seguidas por una fase de extinción. Se predijo que la actividad motora asociada a la infusión intraoral de leche incrementará gradualmente en función de la contingencia explícita entre el comportamiento y el reforzador. Se predijo también que al retirarse el reforzador (fase de extinción), los niveles de actividad motora serán mayores en los sujetos apareados en relación con sus controles no apareados.

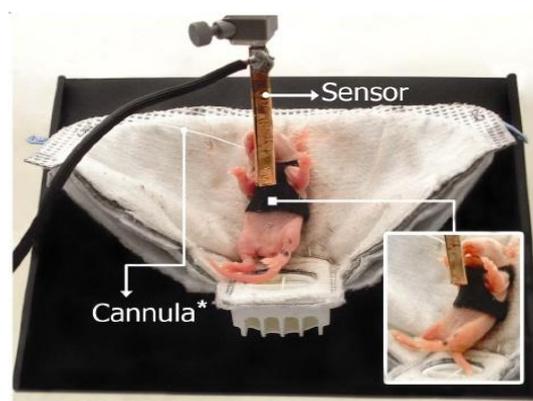
## Metodología

### *Sujetos*

Se emplearon 44 ratas de la cepa Sprague-Dawley (22 ratas macho y 22 ratas hembras) representativas de 6 carnadas. Las ratas nacieron y fueron criadas en el bioterio del Centro de Psicobiología del Desarrollo, Universidad de Binghamton, Nueva York, EE.UU. El día de nacimiento fue considerado como día postnatal 0 (DP0). El bioterio se mantuvo a temperatura constante ( $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ), con un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas (inicio del ciclo de luz a las 7:00 horas). Todos los animales fueron tratados acorde a los lineamientos éticos establecidos por la Asociación Psicológica Americana (APA, 1985).

### *Aparatos y materiales*

El aparato empleado para sostener a la cría y entrenarla en el procedimiento de condicionamiento instrumental fue desarrollado a partir de una serie de estudios preliminares (véase Figura 1). La estructura donde se colocaba a la cría, denominada "silla de condicionamiento", se elaboró utilizando una máscara para gases tóxicos cortada por la mitad que luego se sujetaría a una base construida con cartón. Se ubicó al animal en dicha silla en una posición semisupina (inclinación de  $40^{\circ}$ ) sobre una superficie de algodón sujetado con un pequeño chaleco elaborado con tela fina y elástica. Al chaleco se le realizaron dos orificios de 0.5 cm de diámetro cada uno. El propósito de los mismos fue el de liberar las extremidades delanteras mientras las extremidades traseras se dejaban reposar sobre una base constituida por el filtro de la máscara. De acuerdo a estudios previos el uso del chaleco no genera incompetencia comportamental o malestar aparente del neonato (Petrov et al, 2004).



**Figura 1.** Silla de condicionamiento.

Un brazo estereotáxico (Solting, Wood Dale, IL) permitió posicionar un sensor sensible al tacto (4 cm de longitud y 0.1 cm de diámetro) a una distancia de 1 cm de la cavidad oral del animal. Dicho sensor se ubicó en forma perpendicular a la silla de condicionamiento y equidistante de las extremidades delanteras de la cría. El contacto físico con el sensor producía la activación de una bomba de infusión (Kashinsky-Rozboril, Model 5/2000) que se encontraba conectada a una cánula de polietileno (Clay Adams, PE 50) que se hallaba implantada en la mejilla del animal (para más detalles véase Arias, Molina, Molina & Apear, 2007).

### *Procedimientos*

1. Separación materna e implante de la cánula: Los días postnatales 5 y 6 (DPs 5 y 6) se separaron a las crías de sus madres 3 horas antes del inicio de la fase de condicionamiento y se las ubicaron en cajas de plástico (15 x 8 x 15 cm) cubiertas con viruta (temperatura  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). A todas las crías se les implantó una cánula en la mejilla siguiendo un procedimiento ampliamente utilizado (Domínguez, López, Chotro, & Molina, 1996; Hall & Rosenblatt, 1977).

2. Fase de habituación: Sólo el DP5 y una hora antes de la fase de condicionamiento, se ubicaron a los animales durante 5 minutos en las sillas de condicionamiento. Durante este período las crías no tuvieron acceso al sensor táctil. Esto se realizó con el fin de habituarlos a la manipulación experimental y a los requerimientos posturales.

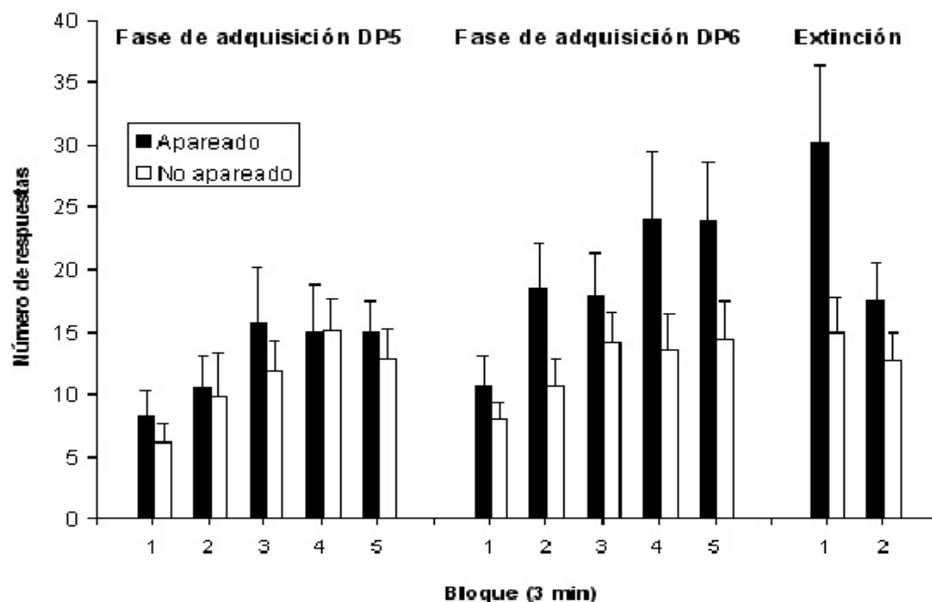
3. Fases de adquisición y de extinción: El DP5 y a las 3 horas de separación materna, las crías fueron asignadas a las condiciones experimentales definidas por la contingencia entre el reforzador y la conducta instrumental: condición "apareada" (grupo experimental) y condición "no apareada" (grupo control). La distribución de los animales fue cuasi-aleatoria ya que se procuró que cada par de sujetos estuviera conformado por neonatos de igual sexo y similar peso. Antes del comienzo de la fase de adquisición, se estimularon a los neonatos en la zona ano-genital con el propósito de producir micción y defecación, se registraron sus pesos ( $\pm 0.01$  g), se ubicaron a las crías en sus sillas de condicionamiento y se conectaron las cánulas implantadas en sus mejillas a la jeringa situada en la bomba de infusión. Por último, se acercó el sensor a la cabeza y extremidades delanteras de cada animal. La fase de adquisición tuvo una duración de 15 minutos. Cada vez que los sujetos de la condición apareada tocaron y

activaron el sensor, recibieron 1 microlitro (ul) de leche intraoral (reforzador). La cría de la condición no apareada recibía igualmente el reforzador cada vez que la cría de la condición apareada activaba el sensor. Finalizada la fase de adquisición se volvió a pesar a las crías, se les retiraron las cánulas y fueron devueltos a su madre.

El DP6 se siguió el mismo procedimiento con la excepción de que se suprimió la fase de habituación. Esta segunda fase de adquisición fue seguida por una fase de extinción de 6 minutos, en la cual no se administró el reforzador. En todas las fases se registró la cantidad de contactos por minuto de cada cría con el sensor. El consumo de leche durante el DP 5 y 6 fue calculado a través de la siguiente fórmula: Porcentaje de peso corporal ganado =  $[(\text{peso corporal post-entrenamiento} - \text{peso corporal pre-entrenamiento}) / \text{peso corporal pre-entrenamiento}] \times 100$ .

### Resultados

En la Figura 2 se ilustra el número de respuestas (media  $\pm$  error estándar de la media) emitidas por los sujetos del grupo apareado y no apareado a lo largo de las dos fases de adquisición, y durante la extinción; los valores se encuentran agrupados en bloques de tres minutos.



**Figura 2.** Número de respuestas emitidas por los sujetos a los largo de las dos fases de adquisición y fase de extinción.

El ANOVA utilizado para procesar la fase de adquisición reflejó una interacción significativa entre el tratamiento de los animales y los bloques de evaluación comportamental,  $F(1,21) = 4.54, p < 0.05$ . Los sujetos apareados, particularmente durante el segundo ensayo de condicionamiento (DP6) exhibieron un incremento significativo de las respuestas bajo evaluación en referencia a sus controles específicos. Esta diferencia sólo alcanzó valores significativos durante los últimos 3 bloques de evaluación. Durante la fase de extinción también se observó que los sujetos apareados exhibieron un mayor número de respuestas en relación a los sujetos no apareados,  $F(1,21) = 7.32, p < 0.05$ .

El número de respuestas emitidas por los neonatos de la condición apareada correlacionó significativamente con los valores de consumo de leche obtenidos en ambas condiciones experimentales y en ambas sesiones experimentales (correlación *V* de Pearson). Además, los niveles de actividad de los animales apareados y no apareados no correlacionaron significativamente. También se observó que la tasa de respuesta del grupo apareado durante la primera sesión de adquisición (DP5) correlacionó positiva y significativamente con el nivel de respuesta obtenido en la fase de adquisición del segundo día de entrenamiento (DP6). Esta correlación no se observó cuando se consideraron las puntuaciones de los animales no apareados. Las correlaciones bajo examinación han sido ilustradas en la Tabla 1.

|  | <i>R<sub>xy</sub></i> |
|--|-----------------------|
| <b>Primera sesión experimental (DP5)</b>   |                       |
| Respuestas del grupo apareado y del grupo no apareado durante la adquisición                   | 0.08                  |
| Respuestas durante la adquisición y consumo de leche en el grupo apareado                      | 0.51*                 |
| Respuestas del grupo apareado durante la adquisición y consumo de leche del grupo no apareado  | 0.64*                 |
| Respuestas durante la adquisición y consumo de leche en grupo no apareado                      | 0.09                  |
| Consumo de leche del grupo apareado y del grupo no apareado                                    | 0.75*                 |
| <b>Segunda sesión experimental (DP6)</b>   |                       |
| Respuestas del grupo apareado y del grupo no apareado durante la adquisición                   | 0.05                  |
| Respuestas durante la adquisición y consumo de leche en el grupo apareado                      | 0.50*                 |
| Respuestas del grupo apareado durante la adquisición y consumo de leche del grupo no apareado. | 0.62*                 |
| Respuestas durante la adquisición y consumo de leche en el grupo no apareado                   | 0.10                  |
| Consumo de leche del grupo apareado y del grupo no apareado                                    | 0.58*                 |
| <b>Primera y segunda sesión experimental</b>   |                       |
| Respuestas del grupo apareado durante la adquisición del DP5 y la adquisición del DP6          | <b>0.74*</b>          |
| Respuestas del grupo no apareado durante la adquisición del DP5 y la adquisición del DP6       | 0.05                  |

**Tabla 1.** Coeficientes de correlación de Pearson considerando el número absoluto de respuestas del grupo apareado y no apareado durante las dos fases de adquisición (DP5 y 6), y los valores de consumo de leche durante ambos días de entrenamiento. \*  $p < 0.05$ .

## **Experimento 2: Análisis de parámetros que pueden afectar la ejecución de la tarea de condicionamiento instrumental**

En el Experimento 2 se evaluó la posible incidencia de la magnitud del reforzador y la cantidad de tiempo de separación materna previa a la fase de condicionamiento. Hall (1979) observó que el nivel de separación materna correlaciona positivamente con los niveles de ingesta de infusiones intraorales de leche así como con la cantidad de actividad comportamental producida por este nutriente. Por lo tanto, bajo condiciones que impliquen mayor tiempo de separación del cuidado materno es posible que mejore la ejecución en la tarea de condicionamiento instrumental que se ha descrito en el Experimento 1. Por otro lado, la mayor magnitud de un reforzador se ha asociado en la literatura con una adquisición más rápida de la respuesta instrumental y con una mayor resistencia a la extinción (Tarpy, 1997).

Es necesario explicitar que el presente experimento fue desarrollado mediante la utilización de un solo ensayo de adquisición seguido por una fase de extinción. De acuerdo a estudios preliminares, ciertas modificaciones de la silla de condicionamiento explicitadas en la sección "Aparato y Materiales" permiten observar una rápida adquisición del aprendizaje operante en sólo una sesión de condicionamiento.

En este experimento también se evaluó la afinidad hacia el reforzador (leche), en una prueba independiente de consumo del nutriente lácteo durante el DP8. Dicha prueba de consumo permitió analizar si el proceso de auto-administración del reforzador modula subsecuentes patrones de aceptación del mismo.

## **Metodología**

### *Sujetos*

Se utilizaron 104 ratas de la cepa Sprague-Dawley (54 ratas macho y 50 ratas hembra) representativas de 11 carnadas.

### *Aparatos y materiales*

En este experimento se amplió el diámetro de los agujeros del chaleco (de 0.5 a 1 cm) y el sensor se elaboró a partir de una pieza rectangular de plástico (5 cm de largo por 0.6 cm de ancho) cubierta con cobre. Esto permitió incrementar la distancia entre el sensor y la cabeza del neonato (el sensor se situó 0.5 cm más lejos que en el Experimento 1).

### *Procedimientos*

Los procedimientos fueron similares a los del Experimento 1.

1. Separación materna e implante de la cánula: Se asignó cuasi-aleatoriamente a las crías a uno de los ocho grupos según su condición experimental (apareada o no apareada), el tiempo de separación materna (3 horas o 6 horas) y la magnitud del reforzador (1.0 uL o 1.5 uL).

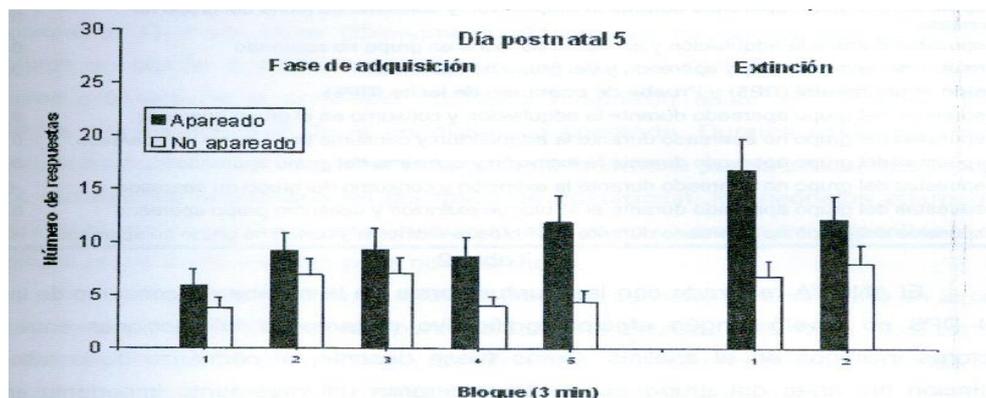
2. Fase de habituación: Se realizó una hora antes del entrenamiento.

3. Fases de adquisición y extinción: La fase de adquisición tuvo una duración de 15 minutos. El volumen de leche administrado en cada pulso fue de 1.0 uL para la mitad de los sujetos y de 1.5 uL para la mitad restante. La fase de extinción duró 6 minutos y se realizó inmediatamente después de la fase de adquisición.

4. Prueba de consumo de leche: El DP8, todos los neonatos fueron evaluados en términos de ingesta del reforzador empleado durante el DP5. Las crías fueron separadas de la madre 3 horas antes de la prueba, se les implantó una cánula intraoral y se las ubicó en cajas individuales de plástico (16 x 9 x 20 cm.) cuyo suelo fue mantenido a 30°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ). Se utilizó una bomba de infusión (KD Scientific, Holliston, Massachusetts) para administrar durante 15 minutos un volumen de leche equivalente al 5.5% del peso corporal de cada cría. La variable dependiente que se consideró como índice de consumo fue el porcentaje de peso corporal ganado a lo largo de la prueba de ingesta.

### **Resultados**

En la Figura 3 se ilustra el número de respuestas (media  $\pm$  error estándar de la media) emitidas por los sujetos del grupo apareado y no apareado a lo largo de la fase de adquisición y de la fase de extinción; los valores se encuentran agrupados en bloques de tres minutos. En esta figura se han colapsado las puntuaciones correspondientes a la magnitud del reforzador (1.0 uL o 1.5 uL) y a la cantidad de separación materna (3 horas o 6 horas) debido a que estos factores no ejercieron efectos significativos sobre la frecuencia de ejecución de la tarea comportamental.



**Figura 3.** Número de respuestas emitidas por los sujetos a lo largo de las fases de adquisición y extinción.

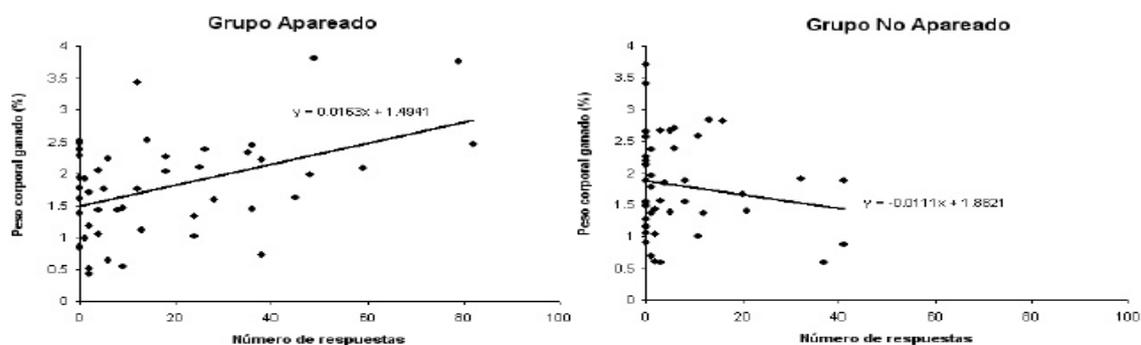
El ANOVA utilizado para procesar las respuestas de las crías durante ambas fases reflejó una interacción significativa entre el tratamiento de los animales y los bloques de evaluación comportamental,  $F(6,288) = 2.27$ ,  $p < 0.05$ . Comparaciones post-hoc indicaron que en el último bloque de la fase de adquisición (5), las crías de la condición apareada exhibieron una mayor y significativa cantidad de respuestas que los controles no apareados. Esto se volvió a observar al considerar el primer bloque de la fase de extinción. Además, la cantidad de respuestas operantes emitidas por los sujetos de la condición apareada durante el primer bloque de la extinción fue significativamente mayor que el número de respuestas en los bloques 1, 2, 3 y 4 de la fase de adquisición. La cantidad de respuestas generadas por las crías del grupo apareado en el segundo bloque de extinción no difirió del número de respuestas correspondientes a los bloques iniciales de la fase de adquisición (1, 2, 3 y 4). En los sujetos pertenecientes a la condición no apareada no se observó ninguna diferencia significativa a lo largo de las fases de adquisición y extinción.

La cantidad de leche consumida por las crías de las condiciones apareada y no apareada, operacionalizada a través del porcentaje de peso corporal ganado, correlacionó positiva y significativamente con la cantidad de veces que los sujetos de la condición apareada respondieron haciendo contacto con el sensor (correlación " $r$ " de Pearson). Además, al considerar las tasas de respuesta durante la sesión experimental, no se observó ninguna correlación entre las crías de la condición apareada y sus controles no apareados. Las correlaciones bajo examinación han sido ilustradas en la Tabla 2.

| Sesión experimental (DP5)   | Rxy   |
|---|-------|
| Respuestas del grupo apareado y del grupo no apareado durante la adquisición                  | 0.08  |
| Respuestas durante la adquisición y consumo de leche en el grupo apareado                     | 0.77* |
| Respuestas del grupo apareado durante la adquisición y consumo de leche del grupo no apareado | 0.88* |
| Respuestas durante la adquisición y consumo de leche en grupo no apareado                     | 0.25  |
| Consumo de leche del grupo apareado y del grupo no apareado                                   | 0.75* |
| <b>Sesión experimental (DP5) y Prueba de consumo de leche (DP8)</b>                           |       |
| Respuestas del grupo apareado durante la adquisición y consumo en el grupo apareado           | 0.20  |
| Respuestas del grupo no apareado durante la adquisición y consumo en el grupo no apareado     | 0.02  |
| Respuestas del grupo apareado durante la extinción y consumo del grupo apareado               | 0.32  |
| Respuestas del grupo no apareado durante la extinción y consumo del grupo no apareado         | -0.03 |
| Respuestas del grupo apareado durante el 1º bloque extinción y consumo grupo apareado         | 0.44* |
| Respuestas del grupo no apareado durante el 1º bloque extinción y consumo grupo no apareado   | -0.16 |

**Tabla 2.** Coeficientes de correlación de Pearson considerando el número absoluto de respuestas del grupo apareado y no apareado durante la fase de adquisición (DP5), las respuestas durante la fase de adquisición (DP5) y el consumo de leche (DP5), y las respuestas durante la fase adquisición o extinción (DP5) y el consumo de leche (DP8). \* $p < 0.05$ .

El ANOVA realizado con las puntuaciones de la prueba de consumo de leche del DP8 no reveló ningún efecto significativo ni tampoco interacciones entre los factores incluidos en el análisis. Como fue descrito, al comienzo de la fase de extinción las crías del grupo apareado mostraron un incremento importante en la respuesta que luego se extinguió. Se correlacionaron por separado las puntuaciones de cada uno de los dos bloques de la fase de extinción con los datos de consumo de leche del DP8. Como se puede observar en la Figura 4, en las crías de la condición apareada, la cantidad de contactos con el sensor durante el primer bloque de la extinción correlacionó positiva y significativamente con la aceptación del reforzador durante la prueba de consumo ( $r = .44$ ,  $p < 0.05$ ). En el caso de los controles no apareados, esta correlación no fue significativa ( $r = -.16$ ,  $p < 0.05$ ; véase también Tabla 2).



**Figura 4.** Correlación entre la tasa de respuesta emitida por los sujetos de la condición apareada y no apareada durante el primer bloque de la extinción (DP5), con el consumo del reforzador obtenido por dichos sujetos en la prueba de ingesta realizada el día postnatal 8.

## Discusión

El común denominador de los resultados encontrados en los experimentos 1 y 2 es que las crías de rata de 5 y 6 días de edad modifican la probabilidad de ejecución de ciertas conductas cuando estas se refuerzan con un nutriente similar a la leche materna. Las crías cuya conducta estuvo emparejada con la infusión intraoral de leche mostraron significativamente mayor cantidad de respuestas que los controles pertinentes. Este efecto fue claramente observable cuando se emplearon dos (Experimento 1) o un único (Experimento 2) ensayo de condicionamiento. Otro resultado en común a ambos experimentos es que al comienzo de la extinción, aquellos animales de la condición apareada mostraron tasas de respuesta más elevadas que los animales de la condición no apareada. Durante esta fase no se reforzó la conducta de las crías. Por lo tanto, este fenómeno podría indicar que a partir de la contingencia establecida en las fases de adquisición, los neonatos apareados continúan buscando el reforzador aún cuando este ya no se encuentra disponible. Este fenómeno no se observó en las crías no apareadas.

Según diferentes autores, la infusión intraoral de leche se acompaña en la cría de un incremento de actividad comportamental generalizada (Hall, 1979; Robinson & Smotherman, 1992a, b). Sin embargo, las diferencias que se encontraron entre las dos condiciones experimentales difícilmente pueden ser explicadas por este efecto de activación comportamental inducido por la leche. En los dos experimentos se observó en el grupo apareado un aumento gradual en la emisión de respuestas como resultado de la contingencia de las mismas con la administración del reforzador. Sin embargo, en el grupo no apareado los niveles de actividad motora se mantuvieron bajos y estables a lo largo de las fases de adquisición y de extinción. Además, en ninguno de los dos experimentos se encontró asociación entre el número de respuestas emitidas por las crías de la condición apareada y el número de respuestas emitidas por los controles no apareados. Esto apoya la hipótesis de que las diferencias entre las condiciones experimentales se debieron a la contingencia establecida entre la conducta operante y la infusión del reforzador y no a los efectos incondicionales de la leche.

En ambos experimentos los animales de la condición apareada mostraron una mayor cantidad de respuestas al comienzo de la fase de extinción que los sujetos de los grupos control. Se observó una clara tendencia a que las tasas de respuestas de los sujetos apareados se vieran incrementadas incluso con respecto a la fase de adquisición. Según Thomas y Papini (2001) este pico en la respuesta que se produce durante la

extinción (en inglés, extinction spike), está relacionado con la retirada de una recompensa esperada por el animal. Las teorías de la frustración han propuesto que esto podría reflejar un estado emocional negativo como consecuencia de la repentina omisión de un reforzador (Amsel, 1992; Papini & Dudley, 1997). El incremento de la tasa de respuesta observado durante la extinción es una nueva evidencia de que la cría de rata ya a los 5 días de edad percibe la omisión del refuerzo, como una situación negativa que genera un incremento en la excitación del animal. El atribuir un componente motivacional a este aumento de la tasa de respuesta durante la extinción se sustenta también por el hecho de que, en los sujetos de la condición apareada, la cantidad de respuesta emitida al comienzo de la extinción correlaciona positivamente con la aceptación del reforzador tres días después (DP8).

A diferencia de lo que se esperaba, en el Experimento 2 ninguna de las variables manipuladas (magnitud del reforzador y tiempo de separación materna), afectaron significativamente el desempeño de las crías durante las fases de adquisición o extinción. Aparentemente pequeñas variaciones en estos factores no afectan el estado motivacional de las crías sometidas al proceso de aprendizaje.

En los dos experimentos, la actividad motora de los animales apareados no se diferenció de la mostrada por los animales no apareados en el último bloque de la extinción. Aunque no se puede descartar la fatiga como un factor que pueda participar en este efecto, distintos autores han observado que crías de edad similar aprenden rápidamente a inhibir una respuesta cuando se suprime el reforzador (Hoffman, Flory & Alberts, 1999a; Johanson & Hall, 1979).

La técnica desarrollada cumple con los objetivos planteados, en tanto que permite a la cría de 5 y 6 días de edad auto-administrarse un reforzador en función de la contingencia explícita establecida entre éste y su conducta. En un estudio complementario se ha observado que las crías de rata de 5 días, utilizando esta misma técnica, se administran volúmenes de alcohol similares a los de leche (Arias, Molina, Spear & Molina, 2006). Finalmente, el modelo de condicionamiento operante, desarrollado parece ser de fácil adaptación a ratas recién nacidas e infantes. El diseño de técnicas análogas en bebés humanos ha permitido el estudio de adquisición, retención y expresión de memorias durante esta etapa a partir de la contingencia entre comportamientos específicos de la edad y la presentación de refuerzos positivos (Rovee-Collier, 1987; Rovee-Collier & Barr, 2002).

**Referencias bibliográficas**

- Alberts, J. R. (2005). Infancy. In: *The behavior of the laboratory rat*. (Whishaw, IQ y Kol B, Eds), pp. 266-277. New York: Oxford University Press. American Psychological Association (1985) *Guidelines for Ethical Conduct in the Care and use of Animals*. Incorporated by Reference in the Ethical Principles of Psychologists of APA.
- Amsel, A. (1992) Frustration theory-many years later. *Psychol Bull.*; 112 (3): 396-9.
- Amsel, A., Burdette, D. R. & Letz, R. (1976). Appetitive learning, patterned alternation, and extinction in 10-day-old rats with non-lactating suckling as reward. *Nature*, 262,816-818.
- Andersen, S. L, Robinson, S. R. & Smotherman, W. P. (1993). Ontogeny of the stretch response in the rat fetus: Kappa opioid involvement. *Behavioral Neuroscience*, 107,370-376.
- Arias, C, Molina, A., Spear, N. E. & Molina, J. C. Neonatal operant responding controlled by the reinforcing effects of milk and ethanol. *European Chemoreception Research Organisation (ECRO)*. Granada, Spain. September 2006.
- Berridge, K. C. (2000). Measuring hedonic impact in animals and infants: Microstructure of affective taste reactivity patterns. *Neuroscience and Behavioral Reviews*,24.
- Blass, E. M. & Fitzgerald, E. (1988). Milk-induced analgesia and comforting in 10-day-old rats: opioid mediation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 29(1), 9-13.
- Blass, E. M., Shide, D. J. & Weller, A. (1989). Stress-reducing effects of ingesting milk, sugars, and fats. A developmental perspective. *Annals of New York Academy of Science*, 575, 292-305.
- Bordner, K. A., Molina, J. C. & Spear, N. E. (2006). Operant conditioning supported by ethanol reinforcement in the newborn rat. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 30(6), 187. Cheslock, S. J., Varlinskaya, E. I., Petrov, E. S., & Spear, N. E. (2000).
- Rapid and robust olfactory conditioning with milk before suckling fixperience-. promotion of nipple attachment in the newborn rat. *Behavioral Neuroscience*, 114(3), 484- 495.

- Chotro, M. G. & Arias, C. (2003). Prenatal exposure to ethanol increases ethanol consumption: a conditioned response? *Alcohol*, 30(1), 19-28.
- Domínguez, H. D., López, M. F., Chotro, M. G. & Molina, J. C. (1996). Perinatal responsiveness to alcohol's chemosensory cues as a function of prenatal alcohol administration during gestational days 17-20 in the rat. *Neurobiology of Learning and Memory*, 65(2), 103-112.
- Flory, G. S., Langley, C. M., Pfister, J. F. & Alberts, J. R. (1997). Operant learning for a thermal reinforcer in 1-day-old rats. *Developmental Psychobiology*, 30, 41-47.
- Guenaire, C, Costa, J. C. & Delacour, J. (1982). Conditionnement operant avec renforcement thermique chez le rat nouveau-ne'. *Physiology & Behavior*, 29, 419-424.
- Hall, W. G. (1979). Feeding and behavioral activation in infant rats. *Science*, 205 (4402), 206-9.
- Hall, W. G. & Rosenblatt, J. S. (1977). Suckling behavior and intake control in the developing rat pup. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 91, 1232-1247.
- Hoffman, C. M., Flory, G. S. & Alberts, J. R. (1999a). Neonatal thermotaxis improves reversal of a thermally reinforced operant response. *Developmental Psychobiology*, 34, 87-99.
- Hoffman, C. M., Flory, G. S. & Alberts, J. R. (1999b). Ontogenetic adaptation and learning: A developmental constraint in learning for a thermal reinforcer. *Developmental Psychobiology*, 34, 73-86.
- Johanson, I. B. & Hall, W. G. (1979). Appetitive learning in 1-day-old rat pups. *Science*, 205(4404), 419-421.
- Kenny J. T. & Blass, E. M. (1977). Suckling as incentive to instrumental learning in preweanling rats. *Science*, 196, 898-899.
- Lecanuet, J. P. & Schaal, B. (1996), Fetal sensory competencies. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 68, 1-23.
- Letz, R., Burdette, D. R., Gregg, B., Kittrell, M. E. & Amsel, A. (1978). Evidence for a transitional period for the development of persistence in infant rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 92, 856-866.
- Lithgow, T. & Barr, G. A. (1984). Self-Stimulation in 7- and 10-Day-Old Rats. *Behavioral Neuroscience*, 98(3), 479-486.

- Nizhnikov, M. E., Varlinskaya, E. I., Petrov, E. S. & Spear, N. E. (2006). Reinforcing properties of ethanol in neonatal rats: involvement of the opioid system. *Behavioral Neuroscience*, 120(2), 267-280
- Papini, M. R. & Dudley, R. T. (1997). Consequences of surprising reward omissions. *Review of General Psychology*, 1, 175-197.
- Petrov, E. S., Varlinskaya, E. I. & Spear, N. E. (2003). Reinforcement from pharmacological effects of ethanol in newborn rats. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 27(10), 1583-1591.
- Petrov, E. S., Nizhnikov, M. E., Kozlov, A. P., Varlinskaya, E. I., Kramskaya, T. A. & Spear, N. E. (2004). Repetitive exposures to a surrogate nipple providing nutritive and non-nutritive fluids: effects on suckling behavior of the newborn rat. *Appetite*, 43, 185-194.
- Robinson S. R., Arnold H. M., Spear N. E. & Smotherman W. P. (1993). Experience with milk and an artificial nipple promotes conditioned opioid activity in the rat fetus. *developmental Psychobiology*; 26, 375- 387.
- Robinson S. R. & Smotherman W. P. (1991). The amniotic sac as scaffolding: prenatal ontogeny of an actin pattern. *Dev Psychobiol*, 24(7), 463-485.
- Robinson, S. R. & Smotherman, W. P. (1992a). Fundamental motor patterns of the mammalian fetus. *Journal of Neurobiology*, 23(10), 1574-1600.
- Robinson, S. R. & Smotherman, W. P. (1992b). Organization of the stretch response to milk in the rat fetus. *Developmental Psychobiology*, 25(1), 33-49.
- Robinson, S. R. & Brumley, M. R. (2005). Prenatal behavior. En: *The behavior of the laboratory rat*. (Whisahaw, ÍQ y Kol B, Eds), pp. 257-265. New York: Oxford University Press.
- Roth, T. L. and R. M. Sullivan (2003). Consolidation and expression of a shock-induced odor preference in rat pups is facilitated by opioids. *Physiol Behav*, 78(1), 135-142.
- Rovee-Collier, C. (1987). Learning and memory in infancy. En: Doniger, Joy, (Eds.), *Handbook of infant development*. (2<sup>nd</sup> ed.). Wiley series on personality processes (pp. 98-148). Oxford: John Wiley & Sons.
- Rovee-Collier, C. & Barr, R. (2002). Infant cognition. En: Hall Pashler & John Wixted, (Eds.), *Stevens' handbook of experimental psychology* (3rd ed.), Vol. 4:

Methodology in experimental psychology (pp. 98-148). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.

Tarpy, R. M., (1997). *Aprendizaje: Teoría e investigación contemporáneas*. Madrid: McGraw-Hil

Thomas B.L. & Papini M.R. (2001). Adrenalectomy eliminates the extinction spike in autoshaping with rats. *Physiot Behav*; 72(4), 543-7.