



Tesis Psicológica
ISSN: 2422-0450
Fundación Universitaria Los Libertadores

Los anfibios como modelo para el estudio de la evolución de la cognición espacial. Procedimientos utilizados en el registro comportamental y sus bases neurales*

Muzio, Rubén N.; Daneri, M. Florencia; Sotelo, María Inés

Los anfibios como modelo para el estudio de la evolución de la cognición espacial. Procedimientos utilizados en el registro comportamental y sus bases neurales*

Tesis Psicológica, vol. 13, núm. 2, 2018

Fundación Universitaria Los Libertadores

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=139061595003>

Artículo de investigación

Los anfibios como modelo para el estudio de la evolución de la cognición espacial. Procedimientos utilizados en el registro comportamental y sus bases neurales*

Amphibians as a model for the study of the evolution of spatial cognition. Procedures used in the behavioral register and its neural bases

Rubén N. Muzio ** rnmuzio@gmail.com
Universidad de Buenos Aires, Argentina

M. Florencia Daneri *** fdaneri@df.uba.ar
Universidad de Buenos Aires, Argentina

María Inés Sotelo **** inessotelo@gmail.com
Universidad de Buenos Aires, Argentina

Tesis Psicológica, vol. 13, núm. 2, 2018

Fundación Universitaria Los
Libertadores

Recepción: 09 Enero 2018

Recibido del documento revisado: 02
Febrero 2018

Aprobación: 27 Noviembre 2018

CC BY-SA

Resumen: Los anfibios constituyen un grupo filogenéticamente muy antiguo que se caracteriza por ser representantes de la transición del medio acuático al terrestre, con todas las implicaciones que esto tuvo en la organización de su sistema nervioso. El uso de este modelo animal para estudiar la evolución de la cognición espacial brinda la ventaja de poseer un sistema nervioso simple, que carece de neocorteza, lo cual permite indagar los circuitos cerebrales básicos que subyacen a esta conducta. Empleando una aproximación comparativa, en este artículo se describen los distintos procedimientos y dispositivos experimentales que se utilizan para el estudio de las habilidades de orientación y navegación espacial en anfibios y sus bases neurales. La capacidad de aprendizaje espacial es fundamental para la supervivencia de los individuos, pudiendo incluir estrategias que involucran claves visuales del ambiente e información auto-referencial. Teniendo en cuenta toda la información acumulada hasta el momento en anfibios, tanto en condiciones controladas de laboratorio como en ambientes naturales, es posible concluir que las propiedades de esta habilidad cognitiva han sido mayormente conservadas a lo largo de la evolución.

Palabras clave: anfibios, cognición espacial, evolución, laberintos, formación hipocámpal, pallium medial.

Abstract: Amphibians are a phylogenetically very old group that is characterized by being the representatives of the transition from the aquatic to the terrestrial environment, with all the implications that this could have on the organization of its nervous system. The use of this animal model to study the spatial cognitive evolution, offers the advantage of having a simple nervous system, without a neocortex, which allows inquire about the basic brain circuits that underlie this behavior. Employing a comparative approach, this article describes several procedures and experimental devices used for the study of spatial orientation and navigation abilities in amphibians, as well as its neural bases. Spatial learning is essential for individuals' survival, being able to include strategies involving environmental visual cues and self-referential information. Taking into account all the information accumulated to date in amphibians, both in laboratory controlled conditions and in natural environments, it is possible to conclude that the properties of this cognitive ability have been largely conserved throughout evolution.

Key words: Amphibians, Spatial cognition, Evolution, Mazes, Hippocampal formation, Medial pallium.

Introducción

Los anfibios conforman un grupo filogenéticamente muy antiguo, crucial dentro de los vertebrados ya que sus ancestros sobrellevaron la transición del medio acuático al terrestre, lo que tuvo varias implicaciones en la organización de su sistema nervioso. Es sorprendente que sólo en los últimos años se haya iniciado un estudio exhaustivo acerca de su organización cerebral, y en particular de la formación hipocampal, relacionada con la conducta de orientación y navegación espacial (Bingman & Muzio, 2017; Daneri & Muzio, 2013; Muzio, 2013; Muzio, Daneri & Sotelo, 2017; Sotelo & Muzio, 2015). El uso de los anfibios para el estudio de la evolución de la cognición espacial brinda la ventaja de poder indagar acerca de los circuitos neurales básicos que subyacen a este tipo de conducta, ya que su encéfalo tiene una organización relativamente simple y no posee la neocorteza de los mamíferos (Muzio, 2013).

Globalmente, el aprendizaje por orientación es fundamental para la supervivencia de los organismos, ya que brinda la capacidad de movilizarse en el espacio de manera rápida aún en condiciones en las que no se dispone de otro tipo de claves ambientales (e.g. en la oscuridad). Dado el valor adaptativo de esta conducta, no es sorprendente que esté presente en una gran variedad de clases zoológicas, con distintas especies representantes como abejas, hormigas, lombrices, ratas, ratones, palomas y peces, entre otros organismos, incluyendo también algunas especies de anfibios anuros (Daneri & Muzio, 2013; Greding, 1971; Ingle & Sahagian, 1973; Muzio, 2013; Sotelo & Muzio, 2015). De esta forma, la extensa generalidad observada en este comportamiento da cuenta de la razones de por qué es importante el análisis del aprendizaje espacial en anfibios desde una perspectiva evolutiva.

Empleando un marco de investigación comparada, el objetivo de este trabajo es describir los distintos procedimientos y dispositivos experimentales que se han utilizado para el estudio de la cognición espacial en anfibios, así como analizar las bases neurales que parecen estar involucradas en esta habilidad. En particular, se destaca como modelo experimental al sapo terrestre *Rhinella arenarum*, representante anuro de este grupo, siendo hasta el momento la especie más estudiada en relación con los mecanismos cerebrales asociados a la cognición espacial en esta clase de vertebrados (Daneri, Casanave & Muzio, 2011; Muzio, Daneri & Sotelo, 2017; Sotelo, Bingman & Muzio, 2015; Sotelo, Daneri, Bingman & Muzio, 2016).

Si bien no constituye el propósito central de este trabajo, cabe mencionar también la existencia de investigaciones sobre navegación espacial en anfibios realizados en ambientes naturales (<biblio>). Del mismo modo que otras especies (ver Sinsch, 1987), el sapo *R. arenarum* también realiza migraciones estacionales hacia charcas de reproducción frecuentemente lejanas (Gallardo, 1974), implicando una habilidad de navegación espacial bien desarrollada basada en alguna clase de aprendizaje. En particular, en un estudio realizado por nuestro grupo de investigación acerca de la ecología espacial del sapo *R. arenarum*,

hemos podido describir los hábitos de uso del territorio y su dinámica de movimiento en un ambiente natural (Balero, Scardamaglia, Sotelo, Fernández, Reboreda & Muzio, 2017). En particular, se observó que el área de acción de los individuos presentó alta variabilidad, estando asociada fundamentalmente a la distancia entre su refugio y la fuente de alimento más próxima. Ahora bien, en términos más amplios, considerar la información obtenida de los estudios en ambientes naturales complementa la obtenida en el laboratorio en varios aspectos. Por ejemplo, el análisis del comportamiento migratorio de los anfibios sugiere que pueden emplear diferentes estrategias espaciales, similares a las observadas en los mamíferos. Así, los movimientos de los anfibios estarían principalmente guiados por el comportamiento de orientación para elegir la distancia más corta hasta la meta, de manera de minimizar el riesgo de predación y deshidratación (Sinsch, 2006).

También a partir de estudios de campo, se pudo verificar que individuos de algunas especies de anfibios desplazados pasivamente pueden reubicarse en sitios conocidos utilizando una variedad de señales direccionales y mecanismos de orientación para llevar a cabo dicha orientación (Sinsch, 2006). Por otro lado, se ha comprobado que la orientación en anfibios se logra mediante la integración de señales visuales, acústicas, magnéticas, mecánicas y olfativas en un sistema redundante multisensorial (Ferguson, 1971). La clasificación de información sensorial especie-específica, a veces, población-específica, obtenida de las señales ambientales en una determinada jerarquía, optimiza la información disponible en cada hábitat (Sinsch, 2006). Este hecho es central en el procesamiento y categorización de señales contextuales, que afectan a todo el aprendizaje conductual posterior. Por lo tanto, este tipo de análisis proporciona información con un enfoque ambiental y ecológico. Además de los estudios en ambientes naturales, el aprendizaje espacial y las capacidades de memoria de los anfibios se pueden examinar más detalladamente en experimentos de laboratorio, tal como se describirá en este trabajo.

En ese sentido, para estudiar las estrategias y mecanismos comprometidos en la orientación espacial en anfibios es necesario desarrollar dispositivos experimentales acordes a las habilidades que potencialmente puedan realizar estos individuos. Debido a los escasos antecedentes con los que se contaba para el caso de los anfibios, la elección y elaboración de dispositivos experimentales adecuados constituyó un desafío adicional importante.

Uso de dispositivos experimentales en el estudio del aprendizaje espacial en anfibios

Los laberintos son los dispositivos experimentales que comúnmente han sido utilizados para el estudio de las habilidades espaciales con modelos animales de laboratorio. Los laberintos han sido diseñados con variadas formas y tamaños, tales como: (a) El campo abierto (*open field*; circulares, rectangulares, etc.), o el laberinto de agua (*water maze* o laberinto de

Morris), en los que la exploración no está restringida. El uso de estos laberintos permite, por ejemplo, evaluar la memoria espacial en un campo abierto en ratas modelo de la enfermedad de Alzheimer (Bassani, et al., 2018) o el efecto que tiene una manipulación en la forma del laberinto de agua en la memoria espacial (Bye, Hong, Moore, Deibel & McDonald, 2018). (b) El laberinto radial (*radial maze*), el laberinto en cruz (*plus maze*), o el laberinto en T (*T-maze*), que son los laberintos de camino predeterminado más utilizados (Daneri & Muzio, 2013). Estos laberintos se pueden utilizar como herramienta para estudiar, entre otras, las estrategias de orientación espacial utilizadas por los sujetos en relación con el refuerzo obtenido (Kosaki, Pearce & McGregor, 2018) o conductas de recolección típicas de una determinada especie (Dalcourt, Miller, Couzin & Garnier, 2018).

Orientación espacial mediante el uso de estrategias egocéntricas

Dentro de la variedad de laberintos disponibles, el laberinto en cruz es el más indicado para explorar el uso de distintos mecanismos para el aprendizaje espacial basado en estrategias denominadas egocéntricas. Esto se debe a que en este tipo de estrategias la fuente de información espacial está en el propio animal y no en correlaciones espaciales entre los elementos que lo rodean. Así, el sujeto aprende en un sistema clásico de elecciones alternativas a efectuar giros a la derecha o a la izquierda en el punto de decisión del laberinto para llegar a la meta. A este aprendizaje taxonómico de orientación se le puede agregar el aprendizaje de guía, en que el animal se orienta utilizando alguna clave visual del ambiente (Daneri & Muzio, 2013).

Aunque es escasa la bibliografía referente a estudios de aprendizaje utilizando laberintos con anfibios, se destaca el trabajo de Greding (1971) quien realizó una comparación del desempeño de tres especies de ranas (*Rana clamitans*, *R. boylei* y *R. pipiens*) y tres especies de sapos (*Bufo marinus*, *B. valliceps* y *B. woodhousei fowleri*) en un laberinto en T, en donde los sujetos tenían que escapar de un estímulo aversivo eléctrico (el brazo derecho era el único seguro, sin descarga eléctrica). Allí se observó que las seis especies pudieron aprender la tarea de orientación espacial, no obstante, los sapos tuvieron un mejor desempeño que las ranas (desplazándose hacia el brazo seguro en un mayor número de ensayos). La capacidad de aprendizaje en un laberinto en T también fue evaluada utilizando agua como reforzador en el sapo de vientre de fuego *Bombina orientalis* (Brattstrom, 1990), observándose una orientación en el espacio del 100% de los individuos tras 40 ensayos de entrenamiento.

En nuestro laboratorio, usando el sapo terrestre *Rhinella arenarum* se ha observado que los sujetos son capaces de aprender una tarea de orientación en un laberinto en cruz (con un arreglo espacial en T) empleando agua como recompensa, a la cual se accedía ejecutando siempre la misma respuesta de giro (a la derecha o a la izquierda, según el grupo experimental) (Daneri, Casanave & Muzio, 2011). Una vez alcanzado el

criterio de aprendizaje (más del 75% de respuestas correctas) los animales eran capaces de revertir esa respuesta y aplicar la regla a la situación inversa, cuando se cambiaba el sentido de giro para llegar a la recompensa en el brazo opuesto (ver Figura 1).

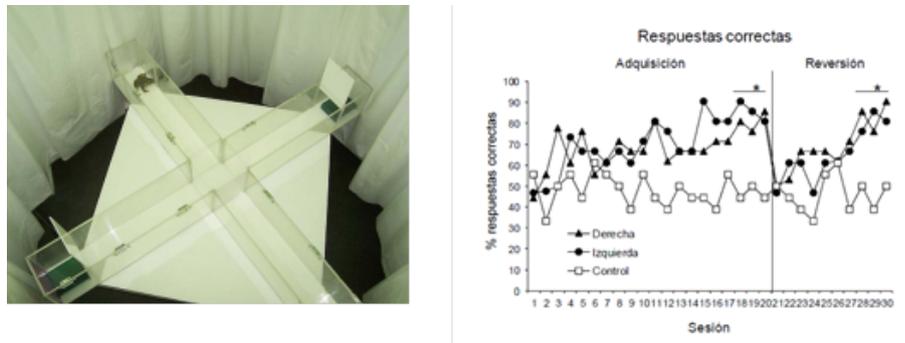


Figura 1.

Vistasuperior del laberinto en cruz

Fuente: Adaptado de Daneri, Casanave & Muzio, 2011.

El sonido como estímulo de orientación espacial

Existen datos que demuestran que los anfibios son capaces de utilizar información auditiva como referencia para orientarse y hallar una pareja o una fuente de agua (Wells, 1977, Wilczynski & Capranica, 1984). Acosarte Sin embargo, estos datos provienen en su mayoría de estudios de campo, en los que las variables no están completamente aisladas unas de otras y es más difícil hacer determinaciones precisas. Valiéndose del laberinto en cruz en el laboratorio (utilizado en una disposición en T), agua como reforzador y colocando dos parlantes en el extremo de los brazos opuestos, se ha logrado entrenar sapos *Rhinella arenarum* en una tarea donde debían encontrar una recompensa (cercana o lejana, según el caso) usando una fuente de sonido (un canto de sapo macho de la misma especie) que se activaba de manera azarosa en alguno de los brazos (Sotelo, Bingman & Muzio, Inédito). Los animales debían salir del brazo de partida y luego girar hacia uno de los brazos (izquierdo o derecho) para hallar la recompensa. La ubicación de la recompensa era aleatoria (acceso a un recipiente con agua), pudiendo ser hallada únicamente a través de la fuente de sonido que provenía del brazo correspondiente en cada ensayo. Con la mitad de los sujetos, la recompensa fue ubicada en el brazo opuesto del que provenía el canto y en la otra mitad del mismo lado. En estas condiciones experimentales estos anfibios fueron capaces de navegar exitosamente hacia la recompensa valiéndose únicamente de la información auditiva proporcionada.

Orientación espacial utilizando información geométrica del entorno

La información de tipo geométrica (dada por formas, contornos, relaciones espaciales entre referencias; Cheng, 1986) está siempre presente en el ambiente. Esta fuente de información es ampliamente

utilizada por los animales para orientarse en sus respectivos entornos (e.g., Sutton, 2009; para una revisión detallada ver Cheng, Huttenlocher & Newcombe, 2013). Contrariamente a lo que ocurre en nuestras grandes ciudades y asentamientos humanos, en un ambiente natural abunda en mayor medida la geometría irregular (Sutton, 2009). Sin embargo, el desarrollo de geometrías ambientales regulares (ya sea en laboratorio o en arenas virtuales) es útil para poder estudiar la utilización de propiedades geométricas en la navegación espacial (Cheng, Huttenlocher & Newcombe, 2013; Sotelo, Bingman & Muzio, 2015, 2017) ya que permite simplificar las variables de estudio (como pueden ser el contorno *-boundary-* y los ángulos o distancias relativas entre referencias; Lee, Sovrano & Spelke, 2012; Pearce, Graham, Good, Jones, & McGregor, 2004; Spelke, Lee & IZard, 2010). Un dispositivo muy utilizado para estudiar el uso de la geometría espacial es la arena rectangular (Cheng, 1986; Sotelo & Muzio, 2015). En un estudio muy influyente que introdujo la discusión acerca de este tipo de información publicado por Cheng (1986) se entrenaron ratas en una arena rectangular con presencia de claves visuales y olfativas en las paredes para que buscaran una recompensa (comida) oculta bajo la viruta en un lugar particular de la arena. Sorprendentemente, se observó que aunque por sí solas las claves visuales o las olfativas bastaban para poder localizar la recompensa, las ratas tendían a cometer errores sistemáticos escurbando con alta frecuencia en un lugar ubicado a 180°, diagonalmente opuesto, a la recompensa oculta. Cheng atribuyó estos resultados a que en dicha situación los sujetos estaban utilizando predominantemente la información brindada por la forma rectangular de la arena, más que la información ofrecida por las claves visuales u olfativas presentes. Como la arena rectangular generaba dos esquinas diagonales opuestas geoméricamente iguales, los sujetos elegían frecuentemente la esquina equivocada (para un análisis más detallado acerca de las implicaciones de la propuesta de Cheng acerca de la información geométrica, ver Gallistel, 1990; Shettleworth, 2010).

Geometría y claves visuales en la orientación espacial

Los hallazgos de Cheng (1986) impulsaron la realización de varias series experimentales posteriores con distintas especies y entornos que cuestionaron el verdadero uso de la geometría para la navegación en el espacio (para una revisión, ver Cheng & Newcombe, 2005; Cheng, Huttenlocher, & Newcombe, 2013). Para indagar acerca de estas cuestiones, el dispositivo experimental más utilizado sigue siendo la arena rectangular, que se emplea durante la adquisición de este tipo de aprendizaje espacial conjuntamente con otros tipos de claves ambientales (visuales, olfativas, pendiente, etc.). Una vez adquirida la respuesta, se administran distintos ensayos de prueba eliminando parcialmente algunas de estas claves originales para evaluar qué tipo de claves han sido empleadas por los sujetos durante el aprendizaje. Así, por ejemplo, se puede evaluar la preferencia por distintos tipos de

información y/o fenómenos de bloqueo, ensombrecimiento o facilitación entre la geometría y los otros tipos de información. Los ensayos de prueba ayudan a establecer qué características del ambiente controlan la conducta aprendida (ver por ejemplo, Bingman, Erichsen, Anderson, Good & Pearce, 2006; Sotelo y Muzio, 2015; Sotelo, Bingman & Muzio, 2015, 2017; Vargas, López, Salas & Thinus-Blanc, 2004). En nuestro laboratorio hemos utilizado la arena rectangular con distintos propósitos vinculados al estudio del uso de la geometría en el sapo *Rhinella arenarum*. En un primer experimento (Sotelo, Bingman & Muzio, 2015), se entrenaron sujetos parcialmente deshidratados para que ubicaran la recompensa (agua) utilizando solamente la información provista por una arena rectangular (grupo Sólo Geometría; sin claves visuales en sus paredes) o en combinación con la información aportada por un panel con rayas transversales rojas y azules sobre una de las paredes angostas (grupo Clave-Geometría). En el primer grupo los sujetos debía llegar a la meta usando únicamente información geométrica (i.e., relación entre paredes cortas y largas), mientras que el segundo grupo disponía además en su entorno de una clave visual polarizante (sólo uno de las paredes angostas tenía el panel; Figura 2a derecha).

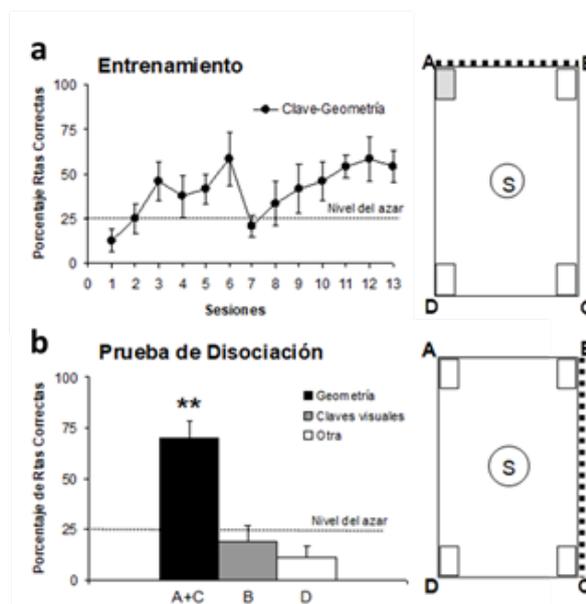


Figura 2

Resultados del aprendizaje de geometría y claves visuales

Fuente: Adaptado de Sotelo, Bingman & Muzio, 2015.

Una vez adquirida la respuesta se realizaron ensayos de prueba (tests): (i) para el grupo Sólo Geometría, el test de Geometría-Invalidada consistía en romper la geometría rectangular colocando en la arena dos paneles adicionales que generaban una nueva geometría cuadrada, la cual no aportaba información precisa sobre la localización de la recompensa; (ii) para el grupo Clave-Geometría se realizaron tres tests: a) Test de Geometría, en el que se retiraba el panel visual, quedando sólo la información aportada por la geometría rectangular para localizar

la recompensa; b) Test de Clave, en el que la arena rectangular se transformó en arena cuadrada (ídem grupo Sólo Geometría), sin eliminar el panel rayado; y c) un Test de Disociación/Conflicto, en el que se retiraba el panel de la pared corta y se colocaba un nuevo panel rayado similar en una de las paredes anchas de la arena (Figura 2b derecha). El objetivo de estos últimos tests era establecer si los animales eran capaces de encontrar la recompensa utilizando información geométrica (únicamente), información de clave (únicamente) o información preferencial, ya sea de geometría o clave visual, en el caso de presentarse las fuentes de información en conflicto (determinando así cuál era la preferencia de los animales en esta situación).

Los antecedentes provenientes de estudios en otros vertebrados utilizando entornos muy similares, demuestran que ratas, palomas y peces (Bingman, Erichsen, Anderson, Good & Pearce, 2006; Cheng, 1986; Vargas, López, Salas & Thinus-Blanc, 2004) son capaces de utilizar tanto información geométrica como de clave visual para orientarse en el espacio. En estos estudios se ha observado que las ratas y palomas prefieren guiarse por claves geométricas en el test de conflicto, mientras que los peces prefieren las claves visuales (Vargas et al., 2004). Nuestros resultados en sapos (Sotelo, Bingman & Muzio, 2015) indican que los animales pueden aprender a ubicar una meta utilizando en forma individual tanto información de geometría como de claves visuales (datos no mostrados), pero en una situación de conflicto, los animales prefieren, al igual que ratas y palomas, la información geométrica (Figura 2b).

Así, a través del análisis comparado con otras especies de vertebrados, se comprobó que estos anfibios se comportan como sus pares amniotas. A nivel evolutivo, esto podría estar reflejando una estrategia de respuesta característica de tetrápodos terrestres, aunque dada la escasa información disponible al respecto, estas conclusiones deben ser tomadas con cautela (Sotelo et al., 2015).

¿Geometría de contorno o características geométricas aisladas?

El mismo procedimiento empleado en el estudio anterior en la arena rectangular, con las condiciones Sólo-Geometría y Clave-Geometría (Figura 3a,b), fue repetido en otro experimento para analizar mediante un nuevo test la transferencia de información desde el contorno de geometría rectangular a otro contexto de geometría deltoide o cometa (Sotelo, Bingman & Muzio, Inédito). Este cambio generaba la inversión de la disposición alternada de las paredes cortas y largas de la arena rectangular, formando un cometa con dos paredes cortas y dos largas sucesivas pero manteniendo tanto la longitud de las paredes cortas como la de las largas, además de conservar la presencia de dos esquinas de 90° entre una pared corta y una larga contiguas; Figura 3d-e.

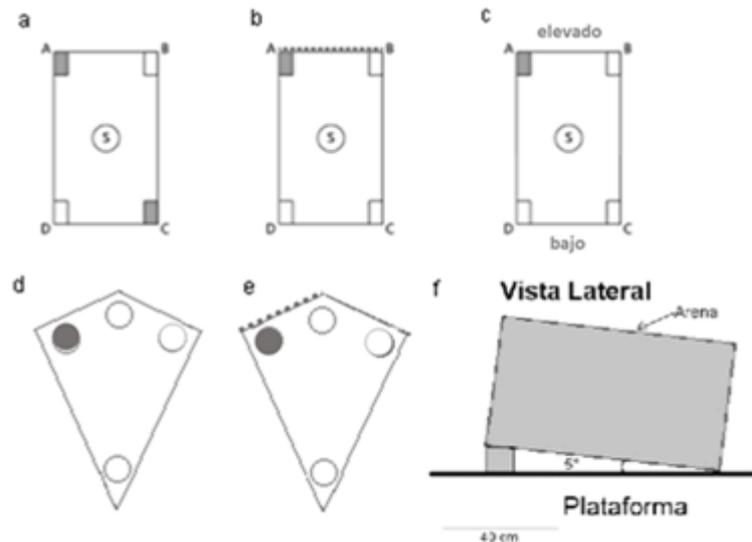


Figura 3
Diagramas de las arenas

Fuente: Autores

Experimentos similares fueron desarrollados en ratas por Pearce y colaboradores (2004, 2006) utilizando una pileta (arena) rectangular y otra con forma de cometa que contenían agua turbia para esconder una plataforma sumergida. El objetivo de estos procedimientos era estudiar si los sujetos utilizan para navegar en el espacio la *geometría general* de la arena rectangular, o simplemente se guían usando sólo las propiedades geométricas de la esquina específica recompensada (generada por la unión de una pared corta y otra larga en un ángulo de 90°). Establecer esta diferencia es esencial para determinar si la geometría como tipo de información es clave para la navegación, o sencillamente puede resumirse en propiedades o variables más simples del ambiente (Cheng, Huttenlocher & Newcombe, 2013). Si los individuos estuvieran utilizando todo el contorno de la arena como información, la transformación de rectángulo a cometa debería impedir que encontraran el refuerzo; mientras que, si sólo se guían por la presencia de una pared corta y otra larga consecutivas, podrían igualmente ubicar la esquina correcta así la geometría general cambiara. Esto último fue lo que se observó en los estudios con ratas (Pearce, Good, Jones & McGregor, 2004; Pearce, Graham, Good, Jones, & McGregor, 2006), los sujetos fueron capaces de ubicar la plataforma escondida aun cuando la geometría general se había transformado. En el caso de los anfibios, a diferencia de lo ocurrido en ratas, la respuesta de los sapos bajo la condición Sólo-Geometría reveló que cuando los animales eran cambiados de la arena rectangular (Figura 3a) a la arena cometa (Figura 3d), no pudieron transferir exitosamente la información aprendida para ubicar nuevamente la meta. En tanto que para la condición Clave-Geometría, cuando los sapos fueron cambiados de la arena rectangular con clave visual (Figura 3b) a la arena cometa (también con clave visual, Figura 3e), los sapos parecían elegir preferentemente una esquina, que en términos generales, mantenía una relación correcta con la clave

visual experimentada durante el entrenamiento. Los resultados de este estudio sugieren que los sapos y las ratas difieren en las estrategias que emplean para representar la información espacial disponible en una arena rectangular.

En esta instancia, tal como se mencionó en la sección anterior, cabe recordar que en una situación de conflicto entre la fuente de información geométrica con la aportada por una clave visual, tanto ratas, palomas como anfibios, comparten una estrategia similar de preferencia de uso de la geometría. Por lo tanto, estos últimos resultados obtenidos en sapos con la arena cometa (situación que transforma parcialmente la configuración del contexto), sugieren que anfibios y mamíferos habrían adicionalmente desarrollado mecanismos diferentes para la *representación de la geometría ambiental* utilizada para la navegación. Esto podría ser el resultado de las distintas presiones de selección evolutiva a las que estuvieron expuestos (i.e., los diferentes ambientes que tuvieron que enfrentar y las estrategias que moldearon dichos entornos). Pero para responder a esta hipótesis, aún se deben realizar a futuro más estudios funcionales sobre los mecanismos cerebrales asociados.

En términos generales, los resultados obtenidos hasta el momento en anfibios, coinciden con esta visión general acerca de las limitaciones que surgen del moldeamiento evolutivo sobre la representación de la geometría espacial. En este sentido, es interesante señalar que en sapos sólo se observa una transferencia exitosa de la información adquirida cuando se pasa de una arena rectangular a una arena circular, pero no a la inversa (Sotelo, Bingman & Muzio, Inédito). Esto sugiere que esta característica también podría ser una propiedad conservada a nivel evolutivo.

La pendiente del entorno como fuente de información para la orientación espacial

La pendiente de un terreno puede constituir en sí misma una fuente de información a fin de desplazarse en el mismo. Estudios previos muestran que humanos, ratas, palomas y peces (Grobéty & Schenk, 1992; Holbrook & Burt de Perera, 2009; Holmes, Nardi, Newcombe & Weisberg, 2015; Nardi & Bingman, 2009; Nardi, Funk, Newcombe & Shipley, 2009) son capaces de navegar en un ambiente que posee una inclinación dada, generada por ejemplo por la presencia de un barranco o una pendiente en el suelo. Actualmente este paradigma es muy estudiado, puesto que los desplazamientos que realizan la mayoría de los animales es tridimensional e implican la codificación de información espacial tanto en el eje horizontal como en el vertical (Hayman, Verriotis, Jovalekic, Fenton & Jeffery, 2011). En este sentido, la presencia de una pendiente (que puede lograrse experimentalmente levantando una arena experimental por uno de sus lados mediante el agregado de cuñas o suplementos) permite a los sujetos obtener información en un gradiente vertical que agrega una nueva dimensión a los estudios de navegación, normalmente planteados en un plano (Nardi, Newcombe & Shipley, 2011). Algunos de los estudios mencionados sobre utilización de pendiente comparan también el uso

de este tipo de información con la que aporta la geometría. Por ejemplo, en palomas, utilizando una inclinación de 20°, se ha observado que son capaces de aprender a navegar utilizando ambos tipos de información (Nardi & Bingman, 2009); pero si luego en ensayos de prueba se colocan en conflicto estas dos fuentes de información prefieren la información aportada por la pendiente. Para analizar esta variable en anfibios, en nuestro laboratorio utilizamos la arena rectangular sin presencia de claves visuales, pero en este caso con una pendiente de 5° (la misma utilizada en humanos; Nardi, Funk, Newcombe & Shipley 2009). Esta inclinación era generada por la colocación de un suplemento base debajo de uno de los lados angostos de la arena experimental (Figura 3c). En esta condición de entorno rectangular inclinado entrenamos a los sapos para ubicar una recompensa. Luego de alcanzar la asíntota de adquisición de respuesta, se realizaron ensayos de prueba para testear qué información (geometría o pendiente) preferían los animales ante una situación de conflicto. El conflicto fue generado cambiando el sentido de la pendiente en forma ortogonal. Para ello se removieron los suplementos originales (ubicados bajo un lado angosto de la arena) y se colocaron nuevos suplementos debajo de un lado ancho de la arena, generando también una inclinación de 5°, en dirección perpendicular a la original. Los resultados indicaron que los sapos (a diferencia de las palomas) utilizaron preferentemente la geometría del contorno de la arena experimental cuando la información geométrica y de pendiente fue puesta en conflicto (Sotelo, Bingman & Muzio, 2017). Sin embargo, es importante destacar que la pendiente utilizada en el caso de los sapos fue menor a la que se usó en palomas (5° versus 20°) e igual a la que se utilizó en humanos (5°), de manera que esta preferencia de los animales por la geometría podría deberse al bajo grado de inclinación administrado. Serán necesarios más experimentos futuros en sapos en una situación de mayor pendiente para dilucidar esta cuestión.

Bases neurales del aprendizaje espacial. *Pallium Medial*; La formación hipocampal de los anfibios

Al observar estas habilidades espaciales y tratar de compararlas entre los distintos grupos, surge la necesidad de indagar acerca de cuál es la estructura encefálica que sustenta y subyace a esta conducta. El cerebro de los vertebrados muestra una gran diversidad y variedad de adaptaciones especializadas. El grado de variación, evidente en las especializaciones comportamentales, se ha ido desarrollando en una larga historia de ramificaciones filéticas y diversificación. Sin embargo, no todos los rasgos comportamentales y neurales tienen que haber cambiado necesariamente durante el curso de la evolución. Debido a que estas radiaciones comparten un ancestro evolutivo en común, del cual todos estos grupos han heredado algunos rasgos de la organización cerebral y comportamental, los cerebros de los vertebrados existentes son como un mosaico de características primitivas y derivadas (Nieuwenhuys, Ten Donkelaar & Nicholson, 1998; Northcutt, 1981, 1995).

Por otro lado, la navegación espacial es una habilidad generalizada, compartida por todos los animales y crucial para la vida. En este sentido, es central poder entender cuáles son los sustratos neurales implicados y determinar el grado en que estas bases neurales son compartidas entre distintas especies.

Una de las áreas cerebrales tradicionalmente asociada a la codificación de información espacial en los vertebrados es el hipocampo, o formación hipocampal (Bingman & Muzio, 2017; Bingman, Rodríguez, & Salas, 2017; O'Keefe & Nadel, 1978). Esta área en conjunto con la corteza en los mamíferos llevó recientemente al establecimiento del reconocido circuito del "GPS humano" (Hafting, Fyhn, Molden, Moser & Moser, 2005; Moser, Kropff & Moser, 2008; O'Keefe & Nadel, 1978). Específicamente, se han descrito distintos tipos de neuronas con capacidad de decodificar características particulares del entorno. Así, mediante métodos de registro de actividad neuronal, se describieron en el hipocampo las "células de lugar" (*place cells*), que tienen la capacidad de codificar la posición específica que tiene un animal, al activarse selectivamente cuando se encontraba en un ambiente particular (O'Keefe & Dostrovsky, 1971).

Recientemente, se identificaron en distintos circuitos nerviosos del hipocampo y la corteza entorrinal (zona contigua al hipocampo) las neuronas denominadas "células en red o células grilla" (*grid cells*), que también proporcionan un mapa del entorno espacial pero, a diferencia de las *células de lugar* del hipocampo que se activan cuando el animal está en una posición fija, estas *células en red* poseen muchos campos de activación que permiten formar una matriz dinámica que cubre todo el ambiente en el que se encuentran (Hafting, Fyhn, Molden, Moser & Moser, 2005). Desde una perspectiva comparativa, es posible observar en los distintos grupos de vertebrados que las habilidades de aprendizaje espacial parecen compartir sustratos neurales homólogos: el *hipocampo* en aves y mamíferos, la *corteza medial* en reptiles y, de manera similar, el *pallium lateral* de peces -el presunto homólogo del hipocampo de amniotas- (Bingman & Muzio, 2017; Bingman, Rodríguez, & Salas, 2017; González, López, Morona & Moreno, 2017; López, Broglio, Rodríguez, Thinus-Blanc & Salas, 1999; Muzio, 1999, 2013; Salas, Broglio & Rodríguez, 2003).

En los anfibios existe la hipótesis aceptada, indicando que el *pallium medial* es homólogo a la formación hipocampal de otros tetrápodos, basado en la posición topográfica (cuadrante dorsomedial del telencéfalo), sus interconexiones neurales y en la información inmunoneurohistoquímica (ver por ejemplo, Northcutt & Ronan, 1992). Para determinar el papel del *pallium medial* en el aprendizaje de tareas de orientación y navegación espacial se han realizado en nuestro laboratorio varios experimentos, aplicando tanto procedimientos de lesión como de medición de la actividad neural en esta área (Daneri, Casanave & Muzio, 2015; Sotelo, Daneri, Bingman & Muzio, 2016). En primer lugar, se llevó a cabo un estudio en el que se evaluaron los efectos de la lesión del *pallium medial* (Figura 4).

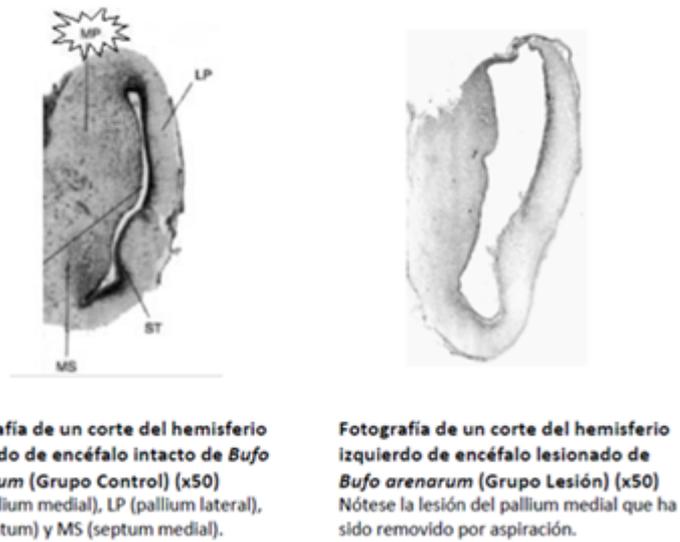


Figura 4
 Corte de hemisferio izquierdo de encéfalo intacto y lesionado en Bufo
 Fuente: Autores

En este caso, la tarea espacial consistió en el aprendizaje de una regla de orientación en un laberinto en cruz, en la que los animales debían ubicar una pileta con agua localizada sólo en uno de los brazos del laberinto (Daneri, Casanave & Muzio, 2011). Los resultados revelaron que los animales lesionados tenían una deficiencia en la adquisición del aprendizaje, ya que no lograron orientarse espacialmente como los animales de los grupos controles (intactos y sham -con operación simulada-). En este caso, su desempeño no mejoró con el entrenamiento y se mantuvo en niveles del azar (Figura 5).

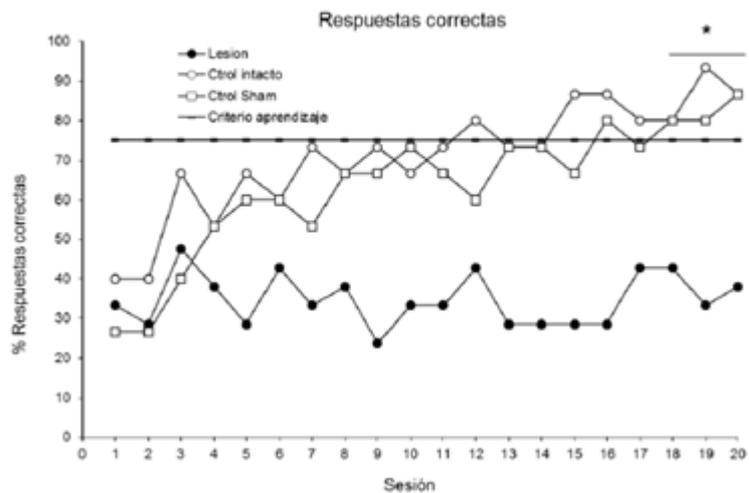


Figura 5
 Porcentaje de respuestas correctas en grupo intacto y grupo lesión
 Fuente: Autores

De esta manera, los resultados obtenidos aplicando la técnica de lesión cerebral sugieren que los animales sin un pallium medial funcional pierden la capacidad de orientarse en el espacio mediante una estrategia de giro, por lo tanto, de anticipar la presencia de la recompensa en una determinada ubicación del espacio. Estudios comparativos en ratas con lesión hipocampal han mostrado que estos animales siguen conservando la habilidad de orientarse por una respuesta de giro. En este caso, la repuesta de giro parecería ser independiente de la integridad del hipocampo (Kesner, Bolland & Davis, 1993; Packard & McGaugh, 1996). Así, a diferencia de lo que ocurre con el hipocampo de los mamíferos, nuestros resultados en anfibios indican que el pallium medial participa en la regulación de esta estrategia básica de orientación en el espacio. En conjunto, estos resultados sugieren que el hipocampo de mamíferos y el pallium medial de anfibios, si bien son estructuralmente homólogos, no tienen una equivalencia funcional completa.

Técnicas de medición de actividad neural y estructuras cerebrales implicadas en la navegación espacial

Tinción histoquímica de AgNOR

El aprendizaje espacial y el establecimiento de nuevas memorias generan cambios morfológicos en la región organizadora de los nucleolos (en inglés *NOR*) de las neuronas telencefálicas. Los nucleolos son estructuras que se encuentran dentro del núcleo de cada célula, encargados principalmente del ensamblado de ribosomas. Cuando una célula incrementa la síntesis de proteínas, los nucleolos aumentan su tamaño y pueden multiplicarse. Dado que el aprendizaje requiere una gran cantidad de nuevas proteínas, aquellas áreas cerebrales que han estado activas durante ese proceso de aprendizaje muestran neuronas con nucleolos de mayor tamaño o con doble nucleolo (Puddington & Muzio, 2016). Los componentes nucleolares contienen grupos de proteínas afines a la plata que pueden detectarse utilizando la técnica de tinción histoquímica AgNOR. Luego de la tinción, los NORs pueden ser fácilmente identificables como puntos negros localizados en el área nucleolar (Treere, 2000). La comparación morfométrica de los nucleolos en distintas áreas cerebrales de animales que recibieron o no entrenamiento permite identificar áreas asociadas a un aprendizaje particular. Esta técnica se ha utilizado con éxito en estudios en peces, mamíferos y actualmente también en anfibios (Daneri, Casanave & Muzio, 2015; Puddington, Daneri, Papini & Muzio, 2016).

Respecto del análisis de los mecanismos que codifican en anfibios el aprendizaje espacial, en nuestro laboratorio se realizó un estudio entrenando sapos en una arena circular transparente donde los animales tenían acceso a las claves visuales del ambiente y también a claves visuales intralaberinto para orientarse y localizar una recompensa (Daneri, Casanave & Muzio, 2015). Luego de alcanzar el criterio de aprendizaje (75% de respuestas correctas) los animales fueron sacrificados y se evaluó posteriormente la actividad neural de distintas áreas cerebrales

empleando la técnica de AgNOR. Los resultados mostraron que hubo una activación diferencial del pallium medial, ya que el área relativa de los NORs era significativamente mayor que en otras áreas cerebrales (Figura 6).

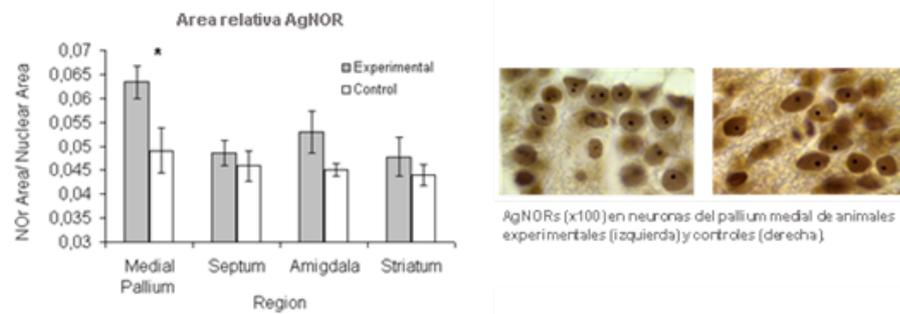


Figura 6

Área relativa de los NORs y Neuronas del pallium medial de un animal entrenado

Fuente: Autores

Técnica inmunohistoquímica de c-Fos.

Uno de los métodos ampliamente utilizado desde hace tiempo en distintos vertebrados para medir la activación específica de neuronas en distintas áreas cerebrales es la técnica inmunohistoquímica de genes de activación temprana (en inglés *IEG*), que se emplea en particular para revelar la presencia del factor de transcripción *c-Fos* (Ball & Gentner, 1998; Clayton, 1997; Mayer, Pecchia, Bingman, Flore & Vallortigara, 2016). Esta técnica se aplica regularmente luego de tareas comportamentales diversas y se usa como indicador de actividad cerebral reciente debida al aprendizaje (Ball & Gentner, 1998; Clayton, 1997). *c-Fos* es un gen que codifica para un factor de transcripción (del mismo nombre) que regula la síntesis de proteínas asociada a procesos de proliferación, diferenciación y muerte celular (Velázquez et al., 2015). En neurociencia se utiliza como indicador de actividad reciente en el tejido nervioso debida a un aumento en la recepción de estímulos asociados a conductas, mayormente aprendidas, y su pico óptimo de síntesis sucede después de aproximadamente 90 minutos de ocurrido el evento estimulante o de aprendizaje. Básicamente, para realizar la técnica inmunohistoquímica de *c-Fos* se sacrifica a los animales, se extraen sus cerebros y se los corta en secciones para luego aplicarles anticuerpos (elaborados en distintas especies animales) que reconocen específicamente la proteína *c-Fos*. De esta manera, se identifica la localización de *c-Fos* en el tejido nervioso y se procede a su cuantificación.

En nuestro laboratorio hemos utilizado esta técnica en anfibios, aplicándola en los cerebros del sapo terrestre *R. arenarum* (Daneri, Bingman & Muzio, 2015). Uno de los primeros análisis efectuados con esta técnica fue la evaluación de la actividad neural asociada al aprendizaje espacial con información geométrica rectangular y claves visuales (Sotelo, Daneri, Bingman & Muzio, 2016), utilizando para ello animales que

habían tenido el entrenamiento descrito anteriormente (condiciones experimentales Sólo-Geometría y Clave-Geometría).

Los resultados de la medición de neuronas marcadas con c-Fos indicaron que los sapos de ambos grupos entrenados (Sólo-Geometría y Clave-Geometría) muestran una activación diferencial en el pallium medial respecto de un grupo control no entrenado (Figura 7).

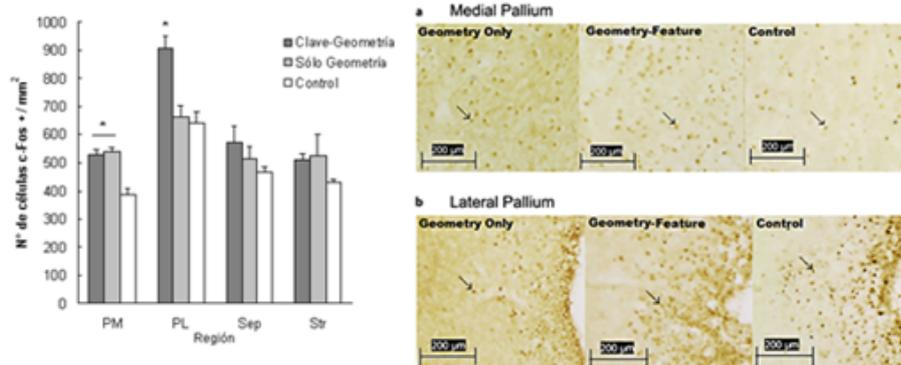


Figura 7

Número de células c-Fos +/mm² y Neuronas de pallium medial y lateral abajo

Fuente: Autores [Adaptado de Sotelo, Daneri, Bingman & Muzio, 2016].

En la Figura 7 también se puede observar un aumento de neuronas marcadas con c-Fos en el pallium lateral, pero sólo en los animales entrenados con geometría y claves visuales (probablemente asociado al procesamiento visual de esta región, aunque serán necesarios más estudios futuros para confirmar esta hipótesis). Las otras dos regiones analizadas (septum y striatum) no mostraron diferencias entre los grupos.

Además de este estudio inicial, esta técnica también se aplicó para identificar las áreas cerebrales activadas en la tarea de orientación espacial mediante el uso de una fuente de información auditiva (vocalización de un conoespecífico) en un laberinto en cruz. En congruencia con los resultados anteriores, el pallium medial mostró aquí también mayor cantidad de células c-Fos+ y, además, se observó activación del área septal (Sotelo, Bingman & Muzio, Inédito).

Actualmente, se están procesando varias muestras cerebrales obtenidas en algunos de los experimentos anteriores de aprendizaje de geometría (el estudio realizado con claves sonoras en un laberinto en cruz) y otros adicionales en los que se usaron distintos tipos de claves visuales, globales y locales con el fin de mejorar el conocimiento funcional de las áreas neurales comprometidas en estos tipos de aprendizaje y de establecer patrones de activación específicos (Sotelo, Bingman & Muzio, Inédito).

Finalmente, también es importante destacar que la técnica de c-Fos ha probado ser exitosa en otras especies de anfibios, siendo utilizada en análisis tan variados como el seguimiento del desarrollo embrionario en tritones (Leclerc, Duprat & Moreau, 1999) o el efecto de feromonas en el cerebro de salamandras (Laberge, Feldhoff, Feldhoff & Houck, 2008).

Discusión general

Este trabajo ha reunido un conjunto de procedimientos y dispositivos experimentales que se utilizan para el estudio de las habilidades espaciales y sus bases neurales en anfibios, describiendo algunos de los principales resultados obtenidos en un marco evolutivo. Dos de los dispositivos experimentales más empleados han sido el laberinto en cruz y la arena rectangular. El primero ha sido utilizado para indagar acerca de los mecanismos que subyacen a estrategias egocéntricas (Daneri, Casanave & Muzio, 2011, 2015). En tanto que el segundo se ha usado para analizar la información aportada por la geometría del entorno en combinación con otras fuentes de referencia para orientarse y navegar en un ambiente (Sotelo, Bingman & Muzio, 2015, 2017).

Los resultados obtenidos de los experimentos realizados utilizando el laberinto en cruz han permitido comprender, por ejemplo, la naturaleza de la respuesta de giro en anfibios y las diferencias con mamíferos: los datos obtenidos en nuestro laboratorio sugieren que en los anfibios (a diferencia de los que sucede en mamíferos) la estrategia de giro depende de la existencia de una formación hipocampal funcional, el *pallium medial* (Daneri, Casanave & Muzio., 2011, 2015; Daneri, Casanave & Muzio, 2015). Así mismo, la utilización del laberinto en cruz demostró que para navegar, los sapos son capaces de utilizar un sonido tal como una vocalización de un conoespecífico (Sotelo, Bingman & Muzio, Inédito).

En cuanto a los resultados obtenidos en los experimentos con la arena rectangular, permitieron asociar la información de la geometría de contorno a distintos tipos de claves ambientales; entre otras, se utilizaron claves visuales (Sotelo, Bingman & Muzio, 2015) y la pendiente de la arena (Sotelo, Bingman & Muzio, 2017). El conjunto de estos estudios sugiere que los anfibios son capaces de utilizar una gran variedad de claves ambientales para navegar en el espacio, incluyendo la geometría ambiental. También sugieren que los sapos, al igual que otros vertebrados, suelen preferir la información geométrica a otros tipos de información, aunque depende de la saliencia relativa de los otros estímulos (Sotelo & Muzio, 2015).

En todos los escenarios descritos, los animales fueron capaces de llegar a un criterio de aprendizaje y, administrando ensayos de prueba, se logró establecer qué tipo de claves disponibles estaban utilizando en cada caso. A través de estos estudios se demostró que para llegar a una meta los anfibios pueden navegar en el espacio usando: (1) sólo la geometría (al menos de forma rectangular); (2) una clave polarizante del ambiente (como un panel rayado horizontal); (3) claves locales sobre la recompensa (Sotelo, Bingman & Muzio, 2015; Sotelo, Bingman & Muzio, Inédito), esto también se observó en una arena circular (Daneri et al., 2011); (4) una pendiente de 5° en la arena experimental (Sotelo, Bingman & Muzio, 2017); (5) el sonido de canto de un conoespecífico (Sotelo, Bingman & Muzio, Inédito); o incluso (6) información propioceptiva, brindada por la posición relativa del cuerpo (Daneri, Casanave & Muzio, 2011).

Asimismo, se comprobó que los anfibios codificaban mucha más información espacial de la estrictamente necesaria para localizar la recompensa. Es decir, codificaban simultáneamente una variada información complementaria acerca del ambiente, como se demostró en los experimentos que combinaban geometría con otros tipos de información, donde estaban presentes distintos tipos de claves visuales simultáneas (Sotelo, Bingman & Muzio, 2015, 2017; Sotelo, Bingman & Muzio, Inédito) o incluso la combinación de información interna propioceptiva combinada con la de claves visuales externas (Daneri, Casanave & Muzio, 2011). Cuando en los contextos estudiados se evaluaron las preferencias por los distintos tipos de información, se observó que en general, los sujetos preferían guiarse por la información geométrica, aunque esto podría variar al aumentar la saliencia de otros estímulos como por ejemplo, de las claves visuales presentes. Esta variación de preferencia también se ha visto en otros vertebrados y siempre parece ser dependiente, entre otros factores, de la saliencia de los estímulos (Cheng, Huttenlocher & Newcombe, 2013; Rescorla & Wagner, 1972), las capacidades sensoriales (Sotelo & Muzio, 2015) y la edad o la experiencia previa (Cheng et al., 2013; Twyman, Newcombe & Gould, 2012).

Tal como se mencionó en la introducción, cabe indicar que estas habilidades de orientación y aprendizaje espacial han sido también analizadas en ambientes naturales (Shettleworth, 2010; Sinsch, 1990, 2006), incluso en estudios propios realizados en el sapo *R. arenarum* (Balero, Scardamaglia, Sotelo, Fernández, Reboreda & Muzio, 2017), aportando datos acerca de las estrategias llevadas adelante en la navegación espacial, aunque sin los detalles exhaustivos que permite la experimentación en las condiciones controladas del laboratorio. Específicamente, se describieron los hábitos de uso del territorio y su dinámica de movimiento, encontrándose que el área de acción de un individuo es muy variable y está relacionada con la distancia entre su refugio y la fuente de alimento más próxima (Balero et al., 2017). Estos resultados son congruentes con los obtenidos en otras especies de anfibios, en que los movimientos de los individuos estarían orientados a elegir la distancia más corta hasta la meta (Sinsch, 2006).

En cuanto a los resultados obtenidos en los estudios de actividad cerebral asociada al aprendizaje espacial, haciendo la evaluación tanto por la técnica de AgNOR como mediante la técnica de c-Fos, se ha observado que el Pallium Medial (i.e., la Formación Hipocámpal de los anfibios) es la principal área telencefálica comprometida en la navegación espacial (Daneri, Casanave & Muzio, Inédito; Sotelo, Daneri, Bingman & Muzio, 2016). Estos resultados no son sorprendentes, ya que coinciden con las evidencias obtenidas en los otros grupos de vertebrados estudiados como peces, aves y mamíferos, en los que la Formación Hipocámpal es la región cerebral que procesa la mayor parte de la información relacionada con la cognición espacial (Bingman et al., 2006; Mayer et al., 2016; Tommasi, Gagliardo, Andrew & Vallortigara, 2003; Tommasi, Chiandetti, Pecchia,

Sovrano & Vallortigara, 2012; Vargas, López, Salas & Thinus-Blanc, 2004, Vargas, Bingman, Portavella, & López, 2006).

Sin embargo, en nuestros estudios en anfibios, al analizar el procesamiento de información de geometría combinada con distintas claves visuales, conspicuas y/o locales (Sotelo, Daneri, Bingman & Muzio, 2016), así como al evaluar situaciones donde se presentaba una fuente de información auditiva (Sotelo, Bingman & Muzio, Inédito), obtuvimos algunos patrones diferenciales de activación neural entre distintas áreas del telencéfalo.

En las tareas que involucraban sólo información geométrica sin claves visuales, se activó únicamente el Pallium Medial (o Formación Hipocampal), mientras que en la tarea que incluyó geometría y claves visuales se observó, además del Pallium Medial, la activación de otras áreas del palio como el Pallium Lateral y, en menor medida, el Pallium Dorsal (Sotelo et al., 2016). Una interpretación de estos resultados, requeriría conocer alguno de los tipos de estímulos que pueden procesar estas regiones cuando en un contexto determinado existe información de una modalidad sensorial específica o combinaciones de varias modalidades. En términos neuroanatómicos, el Pallium Lateral y el Pallium Dorsal de los anfibios están asociados a la corteza olfatoria y general, respectivamente, de los mamíferos (Moreno & González, 2004; Northcutt & Kicliter, 1980), con lo cual su activación parecería no tener mucha explicación en este contexto. En aves y mamíferos las tareas que involucran el procesamiento de claves visuales suelen activar distintas áreas cerebrales, entre las que se destaca el núcleo Estriado, ubicado en la zona subpalial o ventral de los hemisferios (Mayer & Bischof, 2012; Packard, Hirsh & White, 1989; Shimizu, Bowers, Budzynski, Kahn & Bingman, 2004). No obstante, estudios recientes (Ocaña, Uceda & Rodríguez, 2017) han encontrado un patrón similar de activación en la zona dorsal o palio del pez Goldfish durante una tarea de aprendizaje que involucraba claves visuales ambientales, con lo cual se especula que estas áreas del palio podrían también estar funcionando como cortezas accesorias de procesamiento (tal como la corteza entorrinal de los mamíferos).

En las tareas que involucraban el uso de información auditiva también se observó activación del Pallium Medial, pero también del área Septal (Sotelo, Bingman & Muzio, Inédito). Es importante señalar que en estos experimentos la fuente de sonido empleada fue el canto de un macho conespecífico (cantos que en general están asociados a la etapa reproductiva). El procesamiento de esta información auditiva se realiza a través de los núcleos talámicos ventromediales y el torus semicircularis, que envían conexiones al Septum (Neary, 1988; Roden, Endepols & Walkowiak, 2005; Wilczynski & Endepols, 2007). Aunque existen pocos datos acerca del papel del Septum Medial en anfibios (Dicke & Roth, 2009), estudios en mamíferos han asociado esta área a ciertas funciones de navegación espacial (Hagan, Salamone, Simpson, Iversen & Morris, 1988; Tsanov, 2017). Sin embargo, para corroborar en anfibios el papel de esta área en la navegación espacial serán necesarios más estudios futuros.

Comentarios finales

El conjunto de estudios sobre orientación y aprendizaje espacial realizados en nuestro laboratorio con el sapo terrestre *Rhinella arenarum* demuestra que estos animales son capaces de codificar variados tipos de información sensorial proveniente de distintas fuentes ambientales, y luego utilizarla diferencialmente según su necesidad o preferencia. Nuestros resultados sugieren además que estos animales tienen complejos comportamientos de navegación, compartidos en gran medida con otros grupos de vertebrados (en general, dentro de los tetrápodos terrestres). Los datos funcionales presentados sobre la cognición espacial en sapos sugieren la presencia de un mecanismo cerebral basado principalmente en la activación de regiones telencefálicas del Pallium Medial (la Formación Hipocampal de los anfibios). Podemos concluir que, aunque con algunos detalles, los mecanismos que subyacen a la cognición espacial en los vertebrados tetrápodos en términos generales han sido conservados a lo largo de la evolución.

Referencias

- Balero, M., Scardamaglia, R. C., Sotelo, M. I., Fernández, R. C., Rebores, J. C. & Muzio, R. N. (2017). Dinámica de uso del espacio en el sapo terrestre *Rhinella arenarum*. 1ra Reunión de Biología del Comportamiento del Cono Sur. Comporta 2017-VI JUCA. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA). Buenos Aires.
- Ball, G. F. & Gentner, T. Q. (1998). They're playing our song: gene expression and birdsong perception. *Neuron*, 21, 271-274.
- Bassani, T. B., Bonato, J. M., Machado, M. M., Cóppola-Segovia, V., Moura, E. L., Zanata, S. M. & Vital, M. A. (2018). Decrease in adult neurogenesis and neuroinflammation are involved in spatial memory impairment in the streptozotocin-induced model of sporadic Alzheimer's disease in rats. *Molecular Neurobiology*, 55(5), 4280-4296.
- Bingman, V. P. & Muzio, R. N. (2017). Reflections on the Structural-Functional Evolution of the Hippocampus: What is the Big Deal about a Dentate Gyrus? *Brain, Behavior and Evolution*, 90, 53-61.
- Bingman, V. P., Erichsen, J. T., Anderson, J. D., Good, M. A. & Pearce, J. M. (2006). Spared feature-structure discrimination but diminished salience of environmental geometry in hippocampal lesioned homing pigeons (*Columba livia*). *Behavioral Neuroscience*, 120, 835-841.
- Bingman, V. P., Rodríguez, F., & Salas, C. (2017). The hippocampus in nonmammalian vertebrates. En: J. Kaas. (ed). *Evolution of Nervous Systems*, pp 479-489. Oxford: Academic Press.
- Brattstrom, B. H. (1990). Maze learning in the firebellied toad, *Bombina orientalis*. *Journal of Herpetology*, 24(1), 44-47.
- Bye, C. M., Hong, N. S., Moore, K., Deibel, S. H. & McDonald, R. J. (2018). The effects of pool shape manipulations on rat spatial memory acquired in the Morris water maze. *Learning and Behavior*, 1-9. doi: 10.3758/s13420-018-0319-0

- Cheng, K. (1986). A purely geometric module in the rat's spatial representation. *Cognition*, 23, 149-178.
- Cheng, K. & Newcombe, N. S. (2005). Is there a geometric module for spatial orientation? Squaring theory and evidence. *Psychonomic Bulletin & Review*, 12, 1-23.
- Cheng, K., Huttenlocher, J. & Newcombe, N. S. (2013). 25 years on research on the use of geometry in spatial orientation: a current theoretical perspective. *Psychonomic Bulletin and Review*, 20, 1033-1054.
- Clayton, D. F. (1997). Role of gene regulation in song circuit development and song learning. *Journal of Neurobiology*, 33, 549-571.
- Daneri, M. F. & Muzio, R. N. (2013). El aprendizaje espacial y su relevancia en anfibios. *Revista Argentina de Ciencias del Comportamiento*, 5(3), 38-49.
- Daneri, M. F., Casanave, E. B. & Muzio, R. N. (2011). Control of spatial orientation in terrestrial toads (*Rhinella arenarum*). *Journal of Comparative Psychology*, 125(3), 296-307.
- Daneri, M. F., Casanave, E. B., & Muzio, R. N. (2015). Use of local visual landmarks for spatial orientation in toads (*Rhinella arenarum*): The role of distance to a goal. *Journal of Comparative Psychology*, 129(3), 247-255.
- Delcourt, J., Miller, N. Y., Couzin, I. D., & Garnier, S. (2018). Methods for the effective study of collective behavior in a radial arm maze. *Behavior Research Methods*, 50(4), 1673-1685. doi: 10.3758/s13428-018-1024-9
- Dicke, U. & Roth, G. (2009). Evolution of the Amphibian nervous system. In: J. H. Kaas. (Ed.). *Evolutionary Neuroscience*, Chapter 11, pp. 169-233, Elsevier. Academic Press.
- Ferguson, D. E. (1971). The sensory basis of orientation in amphibians. *Annual N.Y. Academy of Sciences*, 188, 30-36.
- Gallardo, J. M. (1974). *Anfibios de los alrededores de Buenos Aires*. Buenos Aires: Eudeba.
- Gallistel, C. R. (1990). *The organization of learning*. In: Cap. 6. The MIT Press, Cambridge, Massachusetts.
- González, A., López, J. M., Morona, R. & Moreno, N. (2017). The organization of the amphibian central nervous system. En J. Kaas (Ed.), *Evolution of the nervous systems*. 2nd Ed. Elsevier.
- Greeding, E. J. (1971). Comparative rates of learning in frogs (Ranidae) and toads (Bufonidae). *Caribbean Journal of Science*, 11(3-4), 203-208.
- Grobéty, M. C. & Schenk, F. (1992). Spatial learning in a three-dimensional maze. *Animal Behaviour*, 43, 1011-1020.
- Hafting, T., Fyhn, M., Molden, S., Moser, M. B. & Moser, E. I. (2005). Microstructure of a spatial map in the entorhinal cortex. *Nature*, 436(7052), 801-806.
- Hagan, J. J., Salamone, J. D., Simpson, J., Iversen, S. D. & Morris, R. G. M. (1988). Place navigation in rats is impaired by lesions of medial septum and diagonal band but not nucleus basalis magnocellularis. *Behavioural Brain Research*, 27(1), 9-20.
- Hayman, R., Verriotis, M. A., Jovalekic, A., Fenton, A. A. & Jeffery, K. J. (2011). Anisotropic encoding of three-dimensional space by place cells and grid cells. *Nature Neuroscience*, 14, 1182-1188.

- Holbrook, R. & Burt de Perera, T. (2009). Separate encoding of vertical and horizontal components of space during orientation in fish. *Animal Behaviour*, 78, 241-245.
- Holmes, C. A., Nardi, D., Newcombe, N. S. & Weisberg, S. M. (2015). Children's use of slope to guide navigation: Sex differences relate to spontaneous slope perception. *Spatial Cognition and Computation*, 15, 170-185.
- Ingle, D. & Sahagian, D. (1973). Solution of a spatial constancy problem by goldfish. *Physiological Psychology*, 1, 83-84.
- Kesner, R. P., Bolland, B. L. & Davis, M. (1993). Memory of spatial location, motor responses and objects: Triple dissociation among the hippocampus, caudate nucleus and extrastriate visual cortex. *Experimental Brain Research*, 93, 462-470.
- Kosaki, Y., Pearce, J. M. & McGregor, A. (2018). The response strategy and the place strategy in a plus#maze have different sensitivities to devaluation of expected outcome. *Hippocampus*, 28, 484-496.
- Laberge, F., Feldhoff, R. C., Feldhoff, P. W. & Houck, L. D. (2008). Courtship pheromone-induced c-Fos-like immunolabeling in the female salamander brain. *Neuroscience*, 151(2), 329-339.
- Leclerc, C., Duprat, A. M. & Moreau, M. (1999). Noggin upregulates Fos expression by a calcium#mediated pathway in amphibian embryos. *Development, Growth and Differentiation*, 41(2), 227-238.
- Lee, S. A., Sovrano, V. A. & Spelke, E. S. (2012). Navigation as a source of geometric knowledge: Young children's use of length, angle, distance, and direction in a reorientation task. *Cognition*, 123, 144-161.
- López, J. C., Broglio, C., Rodríguez, F., Thinus-Blanc, C. & Salas, C. (1999). Multiple spatial learning strategies in golfish (*Carassius auratus*). *Animal Cognition*, 2, 109#120.
- Mayer, U. & Bischof, H. J. (2012). Brain activation pattern depends on the strategy chosen by zebra finches to solve an orientation task. *Journal of Experimental Biology*, 215, 426-434.
- Mayer, U., Pecchia, T., Bingman, V. P., Flore, M. & Vallortigara, G. (2016). Hippocampus and medial striatum dissociation during goal navigation by geometry or features in the domestic chick: an immediate early gene study. *Hippocampus*, 26, 27-40.
- Moreno, N. & González, A. (2004). Localization and Connectivity of the Lateral Amygdala in Anuran Amphibians. *The Journal of Comparative Neurology*, 479, 130-148.
- Moser, E. I., Kropff, E. & Moser, M. B. (2008). Place cells, grid cells, and the brain's spatial representation system. *Annual Review of Neuroscience*, 31, 69-89. doi: 10.1146/annurev.neuro.31.061307.090723
- Muzio, R. N. (1999). Aprendizaje instrumental en anfibios. *Revista Latinoamericana de Psicología*, 31(1), 35-47.
- Muzio, R. N. (2013). Aprendizaje en anfibios, el eslabón perdido: Un modelo simple cerebral en el estudio de conductas complejas. *Cuadernos de Herpetología*, 27(2), 87-100.
- Muzio, R. N., Daneri, M. F. & Sotelo, M. I. (2017). Aprendizaje y Memoria Espacial en Anfibios. Consideraciones generales y aspectos evolutivos. En

- J. Nieto & R. Bernal-Gamboa (Eds.), En: *Estudios Contemporáneos en Cognición Comparada* (pp. 111-178). Ciudad de México:
- Nardi, D. & Bingman, V. P. (2009). Pigeon (*Columba livia*) encoding of a goal location: The relative importance of shape geometry and slope information. *Journal of Comparative Psychology*, 123, 204-216.
- Nardi, D., Funk, A. Y., Newcombe, N. S. & Shipley, T. F. (2009). Reorientation by slope cues in humans. *Cognitive Processing*, 10, 260-262.
- Nardi, D., Newcombe, N. S. & Shipley, T. F. (2011). The world is not flat. Can people reorient using slope? *Journal of Experimental Psychology: Learning, Memory, and Cognition*, 37(2), 354-367. doi: 10.1037/a0021614
- Nearby, T. J. (1988). Forebrain auditory pathways in ranid frogs. En: B. Fritzsche, M.J. Ryan, W. Wilczynski, T.E. Hetherington. & W. Walkowiak. (eds). *The Evolution of the Amphibian Auditory System*, pp. 233-252. New York: Wiley.
- Nieuwenhuys, R., Ten Donkelaar, H. J. & Nicholson, C. (1998). *The central nervous system of vertebrates*. Berlin: Springer-Verlag.
- Northcutt, R. G. (1981). Evolution of the telencephalon in nonmammals. *Annual Review of Neuroscience*, 4, 301#350.
- Northcutt, R. G. (1995). The forebrain of gnathostomes: In search of a morphotype. *Brain, Behavior and Evolution*, 46, 275-318.
- Northcutt, R. G. & Ronan, M. (1992). Afferent and efferent connections of the bullfrog medial pallium. *Brain, Behavior and Evolution*, 40, 1-16.
- Northcutt, R. G. & Kicliter, E. (1980). Organization of the amphibian telencephalon. In S.O. Ebbesson (Ed.), *Comparative neurology of the telencephalon*, pp. 203-255. Plenum: New York.
- Ocaña, F. M., Uceda, S., & Rodríguez, F. (2017). Dynamics of Goldfish subregional Hippocampal Pallium activity throughout spatial memory formation. *Brain, Behavior and Evolution*, 90, 154-170.
- O'Keefe, J. & Dostrovsky, J. (1971). The Hippocampus as a Spatial Map, Preliminary Evidence from Unit Activity in the Freely Moving Rat. *Brain Research*, 34, 171-175.
- O'Keefe, J. & Nadel, L. (1978). *The Hippocampus as a Cognitive map*. Clarendon Press: Oxford.
- Packard, M. G. & McGaugh, J. L. (1996). Inactivation of hippocampus or caudate nucleus with lidocaine differentially affects expression of place and response learning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 65, 65-72.
- Packard, M. G., Hirsh, R. & White, N. M. (1989). Differential effects of fornix and caudate nucleus lesions on two radial maze tasks: evidence for multiple memory systems. *Journal of Neuroscience*, 9, 1465-1472.
- Pearce, J. M., Good, M. A., Jones, P. M. & McGregor, A. (2004). Transfer of spatial behavior between different environments: Implications for theories of spatial learning and for the role of the hippocampus in spatial learning. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 30(2), 135-147.
- Pearce, J. M., Graham, M., Good, M. A., Jones, P. M. & McGregor, A. (2006). Potentiation, overshadowing, and blocking of spatial learning based on the shape of the environment. *Journal of Experimental Psychology: Animal Behavior Processes*, 32(3), 201-214.

- Puddington, M. M. & Muzio, R. N. (2016). Relación entre conducta y activación de áreas cerebrales. Empleo de la técnica de AgNOR en psicología comparada. *Interdisciplinaria*, 33(1), 1-13.
- Puddington, M. M., Daneri, M. F., Papini, M. R. & Muzio, R. N. (2016). Telencephalic Neural activation after passive avoidance learning in the terrestrial toad *Rhinella arenarum*. *Behavioural Brain Research*, 315, 75-82.
- Rescorla, R. A. & Wagner, A. R. (1972). A theory of pavlovian conditioning: Variations in the effectiveness of reinforcement and nonreinforcement. En: A. H. Black & W. F. Prokasy (Eds.). *Classical conditioning II: Current theory and research* (pp. 64-99). New York: Appleton-Century-Crofts.
- Roden, K., Endepols, H. & Walkowiak, W. (2005). Hodological characterization of the septum in anuran amphibians: I. Afferent connections. *Journal of Comparative Neurology*, 483, 415-436.
- Salas, C., Broglio, C. & Rodríguez, F. (2003). Evolution of forebrain and spatial cognition in vertebrates: Conservation across diversity. *Brain, Behavior and Evolution*, 62, 72#82.
- Shettleworth, S. J. (2010). Getting around: Spatial cognition (Chapter 8). In S. Shettleworth (Ed.), *Cognition, Evolution, and Behavior* (pp. 261-310). Oxford: Oxford University Press.
- Shimizu, T., Bowers, A. N., Budzynski, C. A., Kahn, M.C. & Bingman, V. P. (2004). What does a pigeon (*Columba livia*) brain look like during homing? Selective examination of ZENK expression. *Behavioral Neuroscience*, 118, 845-851.
- Sinsch, U. (1987). Orientation behavior of toads (*Bufo bufo*) displaced from the breeding site. *Journal of Comparative Physiology A*, 161, 715-727.
- Sinsch, U. (1990). Migration and orientation in anuran amphibians. *Ethology, Ecology and Evolution*, 2, 65-79.
- Sinsch, U. (2006). Orientation and navigation in Amphibia. *Marine and Freshwater Behavior and Physiology*, 39(1), 65-71.
- Sotelo, M. I. & Muzio, R. N. (2015). Aprendizaje Espacial y Geometría. Los Anfibios en la Evolución de los Sistemas Cognitivos Cerebrales. *Revista Argentina de Ciencias del Comportamiento*, 7(3), 64-78.
- Sotelo, M. I., Bingman, V. P. & Muzio, R. N. (2015). Goal orientation by geometric and feature cues: spatial learning in the terrestrial toad *Rhinella arenarum*. *Animal Cognition*, 18(1), 315-323.
- Sotelo, M. I., Bingman, V. P. & Muzio, R. N. (2017). Slope-based and geometric encoding of a goal location by the terrestrial toad (*Rhinella arenarum*). *Journal of Comparative Psychology*, 131(4), 362-369.
- Sotelo, M. I., Bingman, V. P. & Muzio, R. N. (Inédito). Transfer of spatial learning between geometrically different shaped environments in the terrestrial toad, *Rhinella arenarum*. Enviado para su publicación en *Animal Cognition*.
- Sotelo, M. I., Daneri, M. F., Bingman, V. P. & Muzio, R. N. (2016). Telencephalic neuronal activation associated with spatial memory in the terrestrial toad, *Rhinella arenarum*: Participation of the medial pallium in navigation by geometry. *Brain, Behavior and Evolution*, 88, 149-160.
- Spelke, E. S., Lee, S. A. & Izard, V. (2010). Beyond core knowledge: Natural geometry. *Cognitive Science*, 34, 863-884.

- Sutton, J. E. (2009). What is geometric information and how do animals use it? *Behavioural Processes*, 80, 339-343.
- Tommasi, L., Chiandetti, C., Pecchia, T., Sovrano, V. A. & Vallortigara, G. (2012). From natural geometry to spatial cognition. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36, 799-824.
- Tommasi, L., Gagliardo, A., Andrew, R. J. & Vallortigara, G. (2003). Separate processing mechanisms for encoding of geometric and landmark information in the avian hippocampus. *European Journal of Neuroscience*, 17, 1695-1702.
- Trere, D. (2000). AgNOR staining and quantification. *Micron*, 31(2), 127-131.
- Tsanov, M. (2017). Speed and Oscillations: Medial Septum Integration of Attention and Navigation. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 11, 67-81. doi: 10.3389/fnsys.2017.00067
- Twyman, A. D., Newcombe, N. S. & Gould, T. G. (2012). Malleability in the development of spatial reorientation. *Developmental Psychobiology*, 3, 243-255.
- Vargas, J. P., Bingman, V. P., Portavella, M. & López, J. C. (2006). Telencephalon and geometric space in goldfish. *European Journal of Neuroscience*, 24, 2870-2878.
- Vargas, J. P., López, J. C., Salas, C. & Thinus-Blanc, C. (2004). Encoding of geometrical and featural spatial information by goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Comparative Psychology*, 118, 206-216.
- Velázquez, F. N., Prucca, C. G., Etienne, O., D'Astolofo, D. S., Silvestre, D. C., Boussin, F. D. & Caputto, B. L. (2015). Brain development is impaired in c-Fos $-/-$ mice. *Oncotarget*, 6, 16883-16901.
- Wells, K. D. (1977). The social behavior of anuran amphibians. *Animal Behaviour*, 25, 666-693.
- Wilczynski, W. W. & Capranica, R. R. (1984). The auditory system of anuran amphibians. *Progress in Neurobiology*, 22, 1-38
- Wilczynski, W. W. & Endepols, H. (2007). Central Auditory Pathways in Anuran Amphibians: The Anatomical Basis of Hearing and Sound Communication. In: P.M Narins., A.S Feng, R.R Fay. & A.N Popper. (Eds.), *Hearing and Sound Communication in Amphibians* (pp. 221-249). New York: Springer.

Notas

- * Grupo de Aprendizaje y Cognición Comparada, Laboratorio de Biología del Comportamiento. Instituto de Biología y Medicina Experimental (IBYME-CONICET). Este manuscrito se realizó gracias a la financiación del subsidio UBACYT-P0068BA de la Universidad de Buenos Aires y del subsidio PICT 4300 del FONCYT-ANPCYT (Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica) Argentina, dirigidos por Rubén N. Muzio.