



Facultad de Estudios Superiores
IZTACALA

Effects of exposure to novel taste stimuli on taste aversive conditioning (TAC) in rats

Efectos de la exposición a estímulos gustativos novedosos sobre el condicionamiento aversivo a sabores (CAS) en ratas

Minerva S. Santillán-Rivera¹, Ana M. Gonzalez-Martin¹, Antonio López-Espinoza², Nicoletta Righini¹

¹ Instituto de Investigaciones en Comportamiento Alimentario y Nutrición (IICAN), Universidad de Guadalajara..

² Red Internacional de Investigación en Comportamiento Alimentario y Nutrición

Recibido: 2023-04-25

Revisado: 2023-06-09

Aceptado: 2023-08-31

Autor de correspondencia: minerva.santillan@cusur.udg.mx (M.S. Santillán-Rivera) y nicoletta.righini@cusur.udg.mx (N. Righini)

Financiamiento y Agradecimientos: Ninguno

Conflicto de intereses: Las y los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Resumen.

Los organismos son capaces de desarrollar conductas de aversión a sabores o alimentos por procesos de aprendizaje al rechazar un alimento o sabor que se relaciona con malestar físico, enfermedad o alguna condición desagradable. El condicionamiento aversivo a sabores (CAS) es un procedimiento que puede explicar este fenómeno. Se caracteriza por la asociación de un estímulo incondicionado (EI) y uno condicionado (EC). Algunos factores que influyen en este proceso son la familiaridad del EI y la intensidad del EC. A pesar de que el CAS ha sido ampliamente estudiado, se reporta que puede ser más difícil establecer una aversión a alimentos altamente palatables, aunque los resultados publicados son inconsistentes. Por lo tanto, el objetivo fue evaluar el CAS en ratas Wistar a través de la exposición a estímulos gustativos palatables novedosos (galletas con sabor fresa e higo en presentación sólida) y la utilización de LiCl como agente aversivo. El diseño experimental se dividió en seis fases e incluyó a 24 ratas asignadas a cuatro grupos, dos experimentales y dos control. Se encontró que el procedimiento de CAS generó una conducta de aversión, causando una nula ingesta de galletas durante la prueba de elección. Debido a los múltiples factores implicados en los procesos de aversión, estos resultados contribuyen a profundizar los conocimientos actuales sobre los procedimientos que

producen aversiones condicionadas, ya que estos pueden tener aplicaciones para el control de conductas alimentarias alteradas.

Palabras clave: conducta alimentaria, aprendizaje, condicionamiento, aversión, alimento novedoso

Abstract. Organisms are capable of developing taste or food aversion behaviors by learning processes and avoid a food or flavor when it is related to physical discomfort, illness or some unpleasant condition. Conditioned taste aversion (CTA) is a procedure that can explain this phenomenon. It is characterized by the association of an unconditioned stimulus (US) and a conditioned stimulus (CS). Some factors that influence this process are the familiarity of the US and the intensity of the CS. Although CTA has been extensively studied, it is reported that it may be more difficult to establish an aversion to highly palatable foods, even if the published findings are inconsistent. Therefore, the aim of this study was to evaluate CTA in Wistar rats through exposure to novel gustatory stimuli (strawberry and fig flavored cookies in solid presentation) and the use of LiCl as an aversive agent. The experimental design was divided into six phases and included 24 rats assigned to four groups, two experimental and two control. It was found that the CTA procedure generated aversive behavior, causing no cookie intake during the choice test. Due to the multiple factors involved in aversion processes, these results contribute to deepen the current knowledge about the procedures that produce conditioned aversions, as these may have applications for the control of altered eating behaviors.

Key words: feeding behavior, learning, conditioning, aversion, novel food

Introducción

El consumo de un alimento pareciera una conducta básica generada por el hambre; sin embargo, en este tipo de conductas se ve implícita una variedad de procesos y ajustes fisiológicos (información procedente de estados internos) y conductuales (aprendizaje y memoria), mismos que son de vital importancia para un equilibrio entre el cuerpo y las condiciones ambientales (Bures et al., 1998; Miranda, 2012). A su vez, la ingesta de alimentos con consecuencias fisiológicas desagradables puede generar aprendizajes que modifiquen la conducta de los organismos como el rechazo o la aversión (Justel & Ruetti, 2012).

El condicionamiento aversivo a sabores (CAS) es un procedimiento que puede explicar el fenómeno de las conductas alimentarias de rechazo (de la Torre et al., 2004; García et al., 1955; García & Koelling, 1966). Este procedimiento puede aportar información relevante acerca del por qué no ingerimos ciertos alimentos, además de que puede funcionar como entrenamiento

para evitar el consumo de alimentos que pongan en riesgo el estado del organismo (Manuelian et al., 2016; Ruiz et al., 2020). El CAS puede emplearse para el estudio de procesos como aprender y recordar debido a su pronta adquisición, su permanencia, así como su implementación a pesar de largas demoras que se presentan entre estímulos (de la Torre et al., 2004). En una situación experimental de laboratorio con modelos murinos, el ensayo más utilizado para el desarrollo del CAS consiste en la presentación de una sustancia química (estímulo incondicionado, EI) que produce un malestar físico (respuesta incondicionada, RI), que es asociada a una solución endulzada. Posterior a algunos ensayos, el alimento (ahora estímulo condicionado, EC) es rechazado por el sujeto (respuesta condicionada, RC), provocando una conducta de aversión al sabor o alimento como consecuencia de la asociación de los dos estímulos (Molero, 2007; Swank et al., 1995). Se ha demostrado que la corteza gustativa tiene un papel fundamental en los procesos de aprendizaje de sabores, palatabilidad y CAS (Flores et al., 2018).

Durante el desarrollo de conductas aversivas condicionadas, la familiaridad o la novedad de los estímulos es muy importante y puede generar dos efectos. Por un lado, los sujetos que están familiarizados con el alimento consumen más que los sujetos expuestos a un alimento nuevo, fenómeno denominado neofobia alimentaria (Aldalur et al., 2014; Dovey et al., 2008). Pero si después de consumir el alimento nuevo no se presentan consecuencias desagradables y el alimento se considera palatable, los sujetos incrementarán su ingesta en las exposiciones siguientes: a este fenómeno se le conoce como atenuación de la neofobia alimentaria. El efecto de la exposición a estímulos novedosos durante el CAS tiene como consecuencia una mayor probabilidad de adquirir conductas aversivas alimentarias y de mayor magnitud; además, estos estímulos son más resistentes a la extinción (de la Torre et al., 2004). Por lo que la detección de alimentos novedosos y una respuesta continua agradable funcionarían para acotar las consecuencias potenciales que ponen en riesgo la vida tras el consumo de un alimento desconocido (Jian-You et al., 2014; Reilly & Bornovalona, 2005).

En el CAS, un EI (sustancia química) utilizado con frecuencia por su efectividad en estudios conductuales con animales y en aplicaciones clínicas en humanos es el cloruro de litio (LiCl), que puede ser administrado de diferentes maneras (oralmente, en la comida, con inyecciones subcutáneas o intraperitonealmente) (Ballesteros et al., 2001; Bernstein & Borson, 1986; de Brugada et al., 2021; Parker et al., 1984; Ralph & Provenza, 1999; Riley & Freeman, 2004). Los síntomas que se presentan tras su administración son malestar gastrointestinal y náusea, observables en la reducción de la ingesta o a través del “test de reactividad gustativa” en el que se registran respuestas como un aumento de peristalsis, inmovilidad del sujeto, extensiones de la lengua, movimientos rítmicos de la boca, bostezos entre otras (Feurté et al., 2000; Parker, 2003). Entre sus ventajas se encuentra el tipo de administración, disponibilidad, seguridad y sus efectos rápidos, pero no duraderos dado que los síntomas se manifiestan tras cinco o diez minutos, disminuyen después de una o dos horas y desaparecen en el intervalo de cinco a diez horas (Bures et al., 1998). La vida media del Li en ratas Sprague-Dawley ha sido estimada ser de seis horas,

valores bajos comparados con la vida media en humanos (aproximadamente 29 horas) (Wood et al., 1986).

Los EC que se han utilizado con más frecuencia en investigaciones con modelos murinos son soluciones endulzadas (Ackroff et al., 1993; Anderson et al., 2006; Martínez-Moreno et al., 2018; Miranda et al., 2023; Misanin et al., 2002), aunque los sabores de las proteínas parecen ser más efectivos que los carbohidratos en el condicionamiento aversivo (Sclafani & Ackroff, 2020). Sin embargo, en otros modelos animales el estudio del CAS se ha extendido a diferentes alimentos en presentación sólida, entre los que se han incluido, principalmente debido a sus características organolépticas y aporte calórico o por su toxicidad, pasas, cacahuates, maíz molido, huevos de codorniz, gusanos blancos, harina, mezcla de avena y azúcar glas en ratas, hierba carmín en caballos, varias especies de gramíneas en ovejas y hojas de *Mascagnia rigida* en cabras (Barbosa et al., 2008; Gentle et al., 2006; Giane & Dumont, 2006; Pfister et al., 2002). A su vez, se ha destacado que los sabores más palatables, dulces y con alto contenido energético, son menos susceptibles para la adquisición de conductas alimentarias de aversión condicionada en comparación con sabores de baja palatabilidad (Haupt et al., 1990; Martínez Moreno et al., 2014), aunque en algunos casos los resultados publicados han sido inconsistentes (Sclafani & Ackroff, 2020).

Sin embargo, el uso de alimentos sólidos en el estudio de la neofobia alimentaria y el CAS es escaso. Además, el empleo de estímulos en presentación sólida es particularmente útil para el análisis de los mecanismos moleculares y bioquímicos del aprendizaje y la memoria en modelos murinos, sobre todo considerando que los roedores han evolucionado teniendo que lidiar con alimentos novedosos de este tipo en sus ambientes naturales (Swank & Sweatt, 2001). Un estudio reportó que en circunstancias de no-privación, exponiendo ratones a barritas de arándanos Nutri-Grain de Kellogg's durante 10 minutos, los sujetos consumieron alrededor de 200-300 mg, pero en las siguientes exposiciones duplicaron su ingesta, lo cual sugiere que la neofobia inicial se va atenuando. Por lo tanto, se demostró que una corta exposición fue suficiente para producir una memoria de dicho sabor. La neofobia alimentaria puede funcionar como

una medida conductual para los procesos de memoria para que un nuevo sabor se considere familiar (Swank & Sweatt, 2001).

Por otro lado, puede presentarse un fenómeno denominado generalización de estímulos, pero aún no está claro cuánto tiempo puede mantenerse la generalización resultante del CAS y tampoco se conoce cuáles son los factores que influyen en su duración. Se ha reportado que un condicionamiento moderado (concentración baja de LiCl, 0.15 M, 1 ml/100 g de peso corporal, a través de inyecciones intraperitoneales) induce una generalización que puede revertirse en 24 horas en comparación con un condicionamiento fuerte (concentración más alta de LiCl, 0.30 M), que puede estar presente de 24 horas hasta dos semanas después (Bures et al., 1998; Ramos et al., 2022).

A partir de lo anterior, surgieron las siguientes preguntas: ¿será posible generar conductas alimentarias aversivas a estímulos novedosos en presentación sólida?, ¿la aplicación del EI con altas dosis de LiCl funcionará ante alimentos palatables?, ¿características similares de los EC tendrán un impacto en futuras exposiciones? Dada la relevancia teórica del fenómeno y, si bien la mayor parte de las investigaciones en modelos murinos se realizan con sabores específicos y en soluciones (Flores et al., 2016; Kraemer & Roberts, 1984; Bouton & Michaud, 2022), la integración de diferentes EC en presentación sólida con características organolépticas similares como textura y forma, pero distintos en sabor y olor, generaría mayor evidencia respecto a la forma en la que se modifica una conducta alimentaria. Por tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el CAS en ratas Wistar a través de la exposición a estímulos gustativos novedosos, caracterizados por ser galletas con distintos sabores en presentación sólida.

Método

Sujetos

Se utilizaron 24 ratas (*Rattus norvegicus*) de la cepa Wistar, machos, con edad de cuatro meses al inicio del experimento y con pesos iniciales de 350 - 370 gramos. Todos los sujetos fueron experimentalmente ingenuos al inicio del experimento y se obtuvieron del

bioterio del Instituto de Investigaciones en Comportamiento Alimentario y Nutrición (IICAN), del Centro Universitario del Sur de la Universidad de Guadalajara. Los sujetos fueron asignados a cuatro grupos ($n=6$ en cada grupo), de los cuales dos fueron para CAS (1 y 2) y dos fueron considerados como controles (1C y 2C), ver Tabla 1.

Todos los procedimientos del presente estudio fueron realizados de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio. La temperatura promedio del bioterio fue de 20°C durante el día y 18°C durante la noche. El ciclo luz-oscuridad se controló por un temporizador, con un inicio de periodo de luz a las 7:00 hrs y finalizando a las 19:00 hrs.

Aparatos y materiales

Los sujetos fueron alojados de manera individual en cajas-habitación con medidas de 13 cm de altura por 27 cm de ancho y 38 cm de largo, con una reja metálica en la parte superior con dos espacios para acceso continuo a comederos y bebederos. El fondo de la caja estuvo cubierto por una alfombra de aserrín, que fue removida y sustituida cada tres días. Para el registro del consumo de alimento y peso corporal, se utilizó una balanza electrónica de precisión Pioneer™ marca OHAUS, con una precisión de 0.01 g. Como alimento estándar se proporcionaron croquetas *Rodent Laboratory Chow* de la marca Purina Rodent chow 5001, que contienen 23% de proteína cruda, 4.5% de grasa cruda, 6% de fibra cruda y 49.9% de extracto libre de nitrógeno, con una energía metabolizable de 3.04 kcal/g (Ruhlen et al., 2011). Para la manipulación de los sujetos se utilizaron guantes de látex y para la mayor efectividad al momento de la inyección intraperitoneal se adaptaron de manera individual sujetadores en forma de cono de plástico transparente de PVC.

Estímulos

Los estímulos condicionados (EC) gustativos fueron en dos tipos de galletas (marca comercial Bitz OXXO), con contenido calórico similar, misma textura, forma, marca y contenido nutricional (ver Tabla 1), siendo la única diferencia el sabor y olor, ya que estaban rellenas de higo (A) o fresa (B). Estos alimentos se seleccionaron

Tabla 1. Contenido nutricional de las galletas.

Energía	Grasas saturadas	Azúcares	Sodio	Vitamina B1
113.5 kcal	0.4 g	16.4 g	111.9 mg	72.8 mg

Nota: se muestra el contenido nutricional y energético de una porción de 32 g de galletas sabor higo y sabor fresa.

a partir de una prueba piloto con seis ratas Wistar experimentalmente ingenuas, en la que se presentaron al mismo tiempo cuatro galletas con sabores distintos (piña, manzana, higo y fresa) por 24 h durante tres días, concluyendo que los sabores fresa e higo fueron los más consumidos respecto a los demás. Asimismo, en la prueba piloto se determinó que el peso de las galletas no tuvo modificaciones por la humedad durante una permanencia de 24 h en el bioterio.

Como estímulo incondicionado (EI) se utilizó cloruro de litio (LiCl) en presentación granular de la marca Mallinckrodt AR®, administrado intraperitonealmente con jeringas de plástico desechables de la marca NIPRO, y agujas hipodérmicas con dimensiones 0.5 mm x 16 mm. La dosis utilizada fue de 3.0 mEq/kg (% p/p), diluido en agua purificada al 2.8% es decir, el volumen dependía del peso corporal del sujeto. Esta sustancia produce malestar gastrointestinal en los sujetos (RI) (Loy & Hall, 2002; Nachman & Ashe, 1973).

Procedimiento

Todos los registros de consumo de agua, alimento estándar, galletas y peso corporal se realizaron en el periodo del ciclo de iluminación diariamente iniciando a las 10:00 am. El consumo (en gramos) de alimento estándar se obtuvo pesándolo todas las mañanas a las 10:00 am (restando el peso final del peso inicial de 50 g ofrecidos el día anterior) y el consumo de las galletas con sabor A y B pesándolas antes y después de cada ensayo (restando el peso final del peso inicial, incluyendo migajas).

El diseño experimental se resume en la Tabla 2. El experimento fue segmentado en seis fases. Todos los grupos recibieron agua y alimento estándar *ad libitum* en las fases 1, 3 y 5; esto con el fin de medir el consumo alimentario antes y después de aplicar el CAS. Los grupos 1C y 2C fueron privados del alimento por 12 horas

antes de las fases 2 y 4 y en dichas fases fueron expuestos sólo a los estímulos gustativos A o B y al agua durante 24 horas. Para los grupos 1 y 2, se describen a continuación las fases 2 y 4 de condicionamiento y la fase 6 de prueba de elección. Se emplearon pruebas de estímulo único en las que el sujeto sólo dispone del estímulo gustativo que previamente ha sido asociado al malestar gastrointestinal.

Fase de condicionamiento: un día antes de cada fase de condicionamiento, los sujetos fueron privados de alimento durante 12 horas. Para iniciar el procedimiento de condicionamiento, el primer día de las fases 2 y 4, los sujetos tuvieron un tiempo de exposición de dos horas durante la mañana a los estímulos gustativos novedosos A (higo) y B (fresa). Al finalizar la exposición, se registró la cantidad consumida de galleta. Después, los sujetos fueron trasladados a una mesa de trabajo, se retiraron de sus cajas habitación y se colocaron en un inmovilizador para ser inyectados intraperitonealmente con LiCl. Posterior a las inyecciones, los sujetos se regresaron a sus cajas habitación y fueron expuestos nuevamente a los estímulos gustativos A o B (según el grupo asignado) durante 24 horas, al final de las cuales se registró el consumo. Este procedimiento se realizó durante tres sesiones, una sesión por día (ver Figura 1). Es importante mencionar que las presentaciones A-B y B-A de los alimentos se realizaron para descartar que la secuencia con que se ofrecieron las galletas pudiera tener un efecto diferencial sobre su consumo.

Fase 6 prueba de elección: todos los grupos estuvieron expuestos a los estímulos gustativos sabor A y B durante una sesión (un día). Al final de la prueba se registró el consumo en gramos de galleta.

Análisis de datos

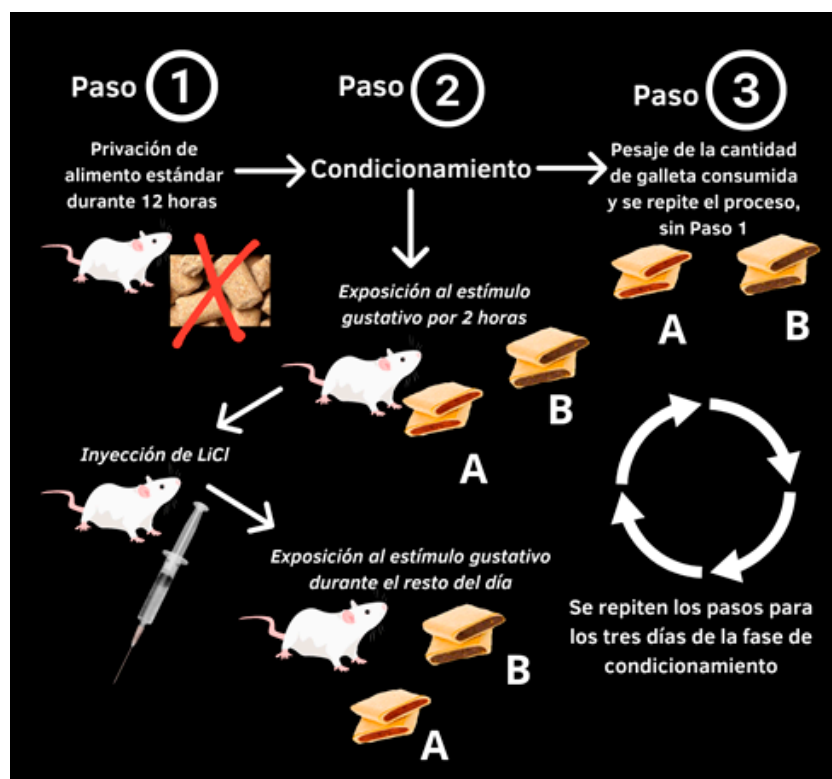
Antes de realizar los análisis estadísticos para determinar posibles diferencias en los consumos, se analizó la distribución de las variables de respuesta (consumo de alimento, ya sea estándar en las fases 1, 3 y 5 o palatable en las fases 2, 4 y 6) visualizando histogramas, gráficos cuantil-cuantil (QQplot) y con pruebas de Shapiro-Wilk. Se determinó que las variables cumplían con los supuestos de normalidad.

Tabla 2. Esquema del diseño experimental.

Grupo	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5	Fase 6 (prueba de elección)
1	LA	CAS + A	LA	CAS + B	LA	A/B
2	LA	CAS + B	LA	CAS + A	LA	A/B
1C	LA	A	LA	B	LA	A/B
2C	LA	B	LA	A	LA	A/B
Duración	10 días	3 días	10 días	3 días	10 días	1 día

Nota: grupo 1, experimental; grupo 2, experimental; grupo 1C, grupo control 1; grupo 2C, grupo control 2. LA: libre acceso a agua y alimento-chow estándar; CAS + A o B: condicionamiento más exposición a sabor A o B; A: exposición a galleta sabor A (fresa); B: exposición galleta sabor B (higo); A/B: exposición ambos alimentos A y B.

Figura 1. Procedimiento del CAS usado en las fases 2 y 4 para los grupos 1 y 2. El paso 1 representa la privación de alimento estándar durante 12 horas antes del condicionamiento; el paso 2 representa el proceso de condicionamiento; y el paso 3 representa el pesaje de las galletas consumidas durante un día. El paso 1 sólo se aplicó el primer día de las fases 2 y 4.



Primero se presentan los resultados de las fases 1, 3 y 5 de consumo de alimento estándar para todos los grupos. Después, el consumo de alimento palatable en las fases 2 y 4: primero de galletas con sabor A y B durante dos horas de exposición y posteriormente de

galletas sabor A o sabor B durante 24 horas. Por último, el consumo de alimento palatable (sabor A y B) en la fase 6 o prueba de elección.

Para analizar si hubo diferencias en el consumo de alimento estándar por parte de los sujetos de todos los

Tabla 3. Consumo de alimento estándar y galletas durante las diferentes fases del estudio

Grupo	Consumo (g)					
	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5	Fase 6
1	21.95 ± 2.21	-	22.40 ± 0.76	-	23.56 ± 0.91	-
2	23.15 ± 3.13	-	22.1 ± 1.91	-	24.33 ± 1.92	-
1C	21.83 ± 2.45	A: 17.33 ± 2.77	21.53 ± 2.17	B: 17.16 ± 2.55	22.05 ± 2.67	A: 9.16 ± 1.60 B: 7.16 ± 1.83
2C	21.96 ± 0.97	B: 17.88 ± 1.73	22.26 ± 0.96	A: 16.60 ± 1.40	21.41 ± 1.69	A: 9.0 ± 2.09 B: 8.83 ± 3.48

Nota: Medias (± desviación estándar) de la ingesta de alimento estándar en las fases 1, 3 y 5, y de galletas en las fases 2 y 4 (durante 24 horas por tres días) y en la fase 6 (prueba de elección) para los cuatro grupos. La letra A representa el alimento sabor fresa y la letra B representa el sabor higo; el guion (-) representa el consumo nulo debido al CAS.

Tabla 4. Resultados del Modelo Lineal Mixto en el que se evaluaron los efectos del grupo y de la fase sobre el consumo de alimento estándar.

Variable predictora	Estimación	Error estándar	Grados de libertad	Valor de t	p
Intercepto	21.383	0.698	695	30.609	0.000
Grupo 2C	0.077	0.917	20	0.084	0.933
Grupo 1	0.761	0.917	20	0.829	0.416
Grupo 2	1.3888	0.917	20	1.513	0.145
Fase	0.140	0.086	695	1.629	0.103

Nota: Las comparaciones de cada grupo son contra el Grupo 1C. El consumo de alimento analizado es durante las fases 1, 3, 5.

grupos durante las fases 1, 3 y 5, se utilizó un Modelo Lineal Mixto (MLM), con grupo y fase como variables predictoras (factores fijos) y la identidad de los sujetos como factor aleatorio. Para analizar el consumo de alimento de los sujetos de los grupos control (1C y 2C) en las fases 2 y 4 de condicionamiento durante 24 horas por tres días, se utilizó otro MLM, con grupo, fase y sabor como variables predictoras (factores fijos) y la identidad de los sujetos como factor aleatorio. Este tipo de modelos se utiliza para evitar problemas de pseudoreplicación temporal, es decir cuando se cuenta con medidas repetidas de los mismos sujetos en el tiempo (Crawley, 2007). Estos análisis se llevaron a cabo en el *software* estadístico R, versión 3.5.0 (R Core Team, 2018).

Se utilizaron pruebas de t de Student pareadas para comparar el consumo de alimento sabor A y B en

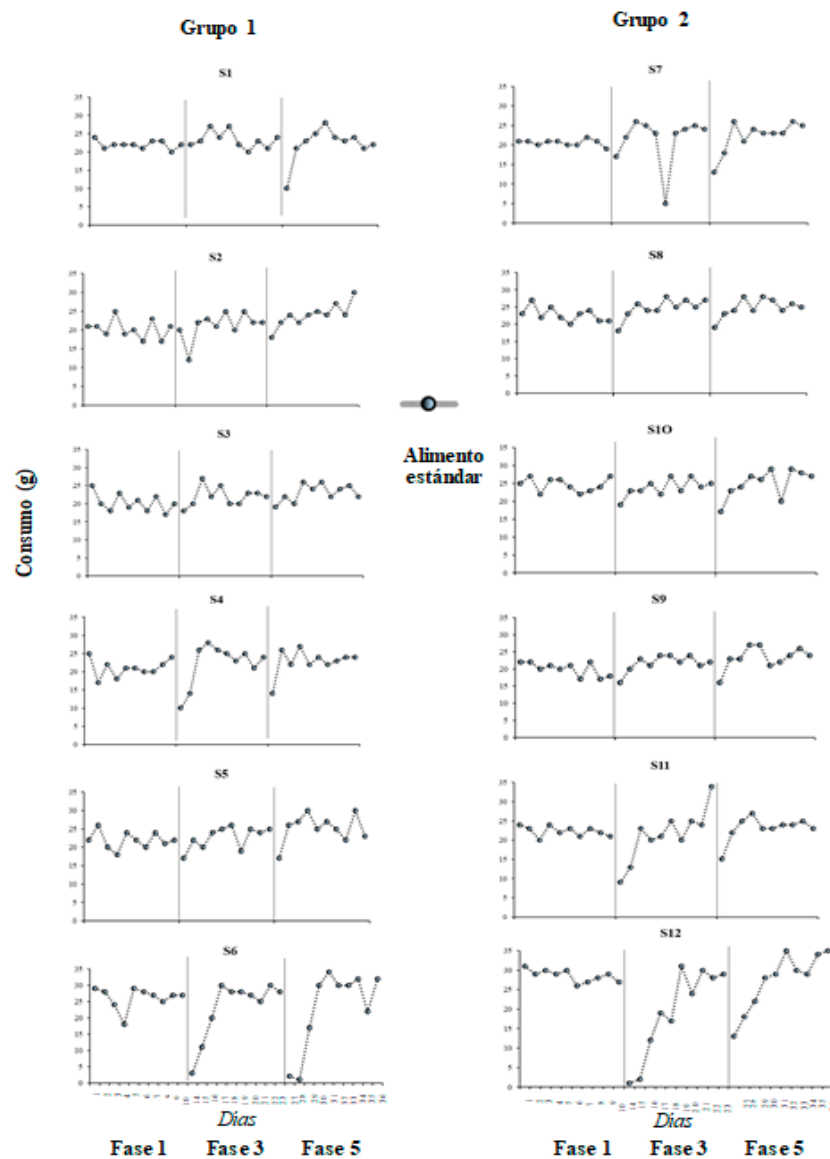
las dos horas de exposición en la fase 2 (en la fase 4 no se presentó consumo de alimento) y también en la fase 6. Para todos los análisis, el criterio de significatividad estadística fue de $p < 0.05$.

Resultados

Consumo en las fases 1, 3 y 5

En cuanto al alimento estándar, los sujetos de todos los grupos consumieron cantidades similares durante las fases 1, 3, 5 (Tabla 3). No hubo efectos significativos de la fase ni del grupo en la cantidad de alimento consumido (Tabla 4). En la Figura 2 se muestran los consumos diarios de los 12 sujetos de los grupos 1 y 2 durante dichas fases. Se observa que, en la fase 1, todos los sujetos tuvieron patrones de consumo similares independientemente de los grupos. En la fase 3 el consumo continuó con un promedio similar, sin embargo, en los sujetos S4, S6, S11 y S12 los primeros días de exposición el consumo disminuyó drásticamente (siendo casi nulo en S6 y S12), pero fue incrementando conforme avanzaban los días. Análogamente, en la fase 5 los consumos promedio se mantuvieron similares a las fases anteriores; sin embargo, al igual que en la fase 3, el consumo inicial fue bajo en los sujetos S6, S7 y S12 (siendo casi nulo en S6), aumentando y estabilizándose conforme pasaron los días. Estas fluctuaciones en los consumos iniciales y finales de las fases 3 y 5 no se observaron en los sujetos de los grupos 1C y 2C.

Figura 2. Consumos individuales en gramos de alimento estándar en las fases 1, 3 y 5. Se representan los individuos S1-S12 de los grupos 1 y 2.



Consumo en las fases 2 y 4

La Figura 3 muestra los consumos de los alimentos A y B durante las dos horas de exposición en los grupos 1 y 2 durante la fase 2. Se observa que ambos tipos de galletas fueron consumidos (ingesta necesaria para generar la conducta aversiva). Los sujetos del grupo 1 consumieron más cantidad de galletas con sabor A respecto al B de acuerdo a una prueba t de Student pareada, $t(5) = 7, p = 0.03$; al contrario, los sujetos del grupo 2 consumieron más cantidad de galletas con

sabor B respecto al A, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa, $t(5) = -4.18, p = 0.06$. Los consumos de las galletas se mantuvieron en un rango de 8-13 gramos durante las dos horas de exposición. En la segunda exposición de dos horas a las galletas (fase 4) no se presentaron consumos para ambos grupos.

En la Figura 4 se muestran las medias de consumo en gramos durante 24 hrs de los estímulos gustativos A y B de todos los grupos en las fases 2 y 4. Es posible

observar que los sujetos de los grupos 1 y 2 no presentaron consumos de galleta después de la inyección de LiCl durante los tres días de condicionamiento, independientemente del sabor. Por el contrario, los sujetos de los grupos 1C y 2C sí consumieron las galletas, aunque las cantidades ingeridas fueron similares y no se encontraron efectos del grupo, de la fase o del sabor en el consumo (Tabla 5).

Consumo en la fase 6

En la Figura 5, se observan las medias de consumo de los sabores A y B de los cuatro grupos en la fase 6 o prueba de elección. Durante la prueba ningún sujeto de los grupos 1 y 2 ingirió galletas, por lo que no se llevaron a cabo pruebas estadísticas para comparar sujetos experimentales y controles. Por otro lado, respecto a los grupos 1C y 2C, se observan un mayor consumo del sabor A para el grupo 1C y consumos similares de A y B para el grupo 2C; sin embargo, las diferencias no fueron significativas de acuerdo a la prueba t de Student pareada (1C: $t(5) = 2.01$, $p = 0.07$; 2C: $t(5) = 1.51$, $p = 0.16$).

Discusión

El objetivo del estudio fue evaluar el CAS a través de la exposición a estímulos gustativos novedosos con presentación sólida con características organolépticas

Tabla 5. Resultados del Modelo Lineal Mixto en el que se evaluaron los efectos del grupo, de la fase y del sabor sobre el consumo de alimento palatable (galletas) en las fases 2 y 4.

Variable predictora	Estimación	Error estándar	Grados de libertad	Valor de t	p
Intercepto	16.60	0.95	58	17.43	0.00
Grupo 2C	0.00	1.12	10	0.00	1.00
Fase 2	0.72	0.73	58	0.98	0.32
Sabor B	0.55	0.73	58	0.75	0.45

Nota: El grupo 2C se compara con el 1C; la fase 2 con la fase 4; el sabor B con el sabor A. Se analiza el consumo de alimento palatable durante 24 horas por tres días en cada fase. En los grupos experimentales 1 y 2 no se registró consumo, por lo cual no se consideraron en este análisis.

similares (forma, textura y contenido calórico). El análisis de los datos mostró los siguientes hallazgos: 1) el procedimiento de CAS generó una conducta de aversión a los estímulos gustativos novedosos, 2) la dosis empleada del EI generó una nula ingesta de alimento, subrayando la magnitud de la aversión, 3) las características organolépticas similares entre los estímulos gustativos expuestos (A y B) intervinieron en la ingesta de la segunda exposición (fase 4).

La adquisición de una conducta alimentaria aversiva depende de varios factores, como la exposición a un estímulo familiar o novedoso y la dosis administrada

Figura 3. Representación de la media y desviación estándar del consumo en gramos durante la exposición de dos horas de galletas sabor A y B en la fase 2 de condicionamiento (previo al CAS) para los grupos 1 y 2. El asterisco (*) indica una diferencia significativa en el consumo de galletas con sabores diferentes.

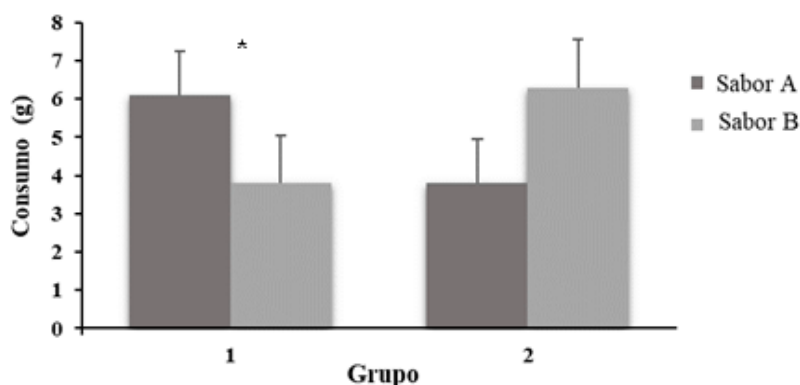


Figura 4. Representación de la media y desviación estándar del consumo en gramos del alimento palatable durante 24 horas por tres días, en las fases 2 y 4. Los símbolos de triángulo y cuadrado representan el consumo de los grupos controles (1C y 2C). El rombo y el círculo representan el nulo consumo de los grupos 1 y 2.

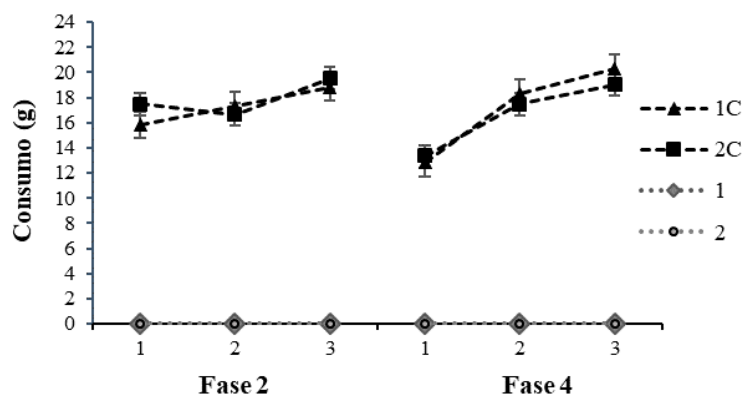
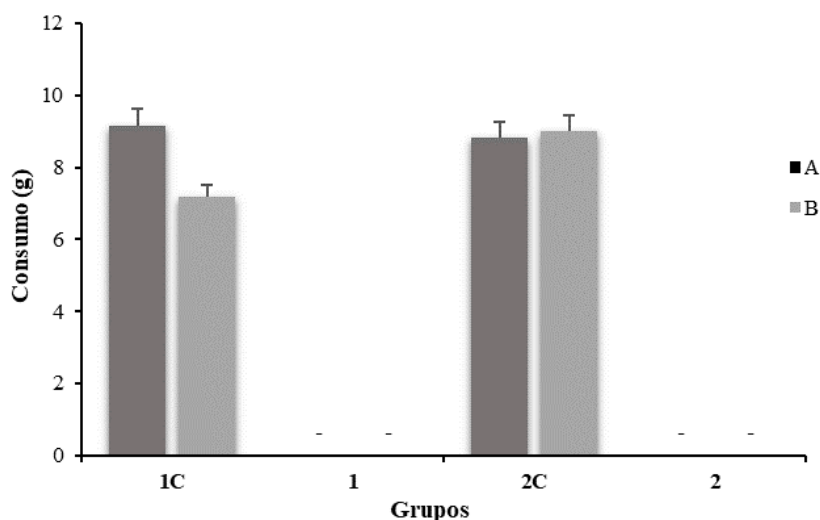


Figura 5. Representación de la media y desviación estándar del consumo en gramos en la fase 6 de todos los grupos. El color gris oscuro representa el sabor A y el color gris tenue el sabor B. Los guiones (-) muestran la nula ingesta de galletas sabor A y B en los grupos 1 y 2.



de LiCl (Reilly, & Trifunovic, 2001; Wiaderkiewicz & Reilly, 2023). La evidencia muestra que cuando se presentan alimentos novedosos sin consecuencias postingestivas negativas, los sujetos consumirán pequeñas cantidades del alimento hasta aumentar progresivamente el consumo; sin embargo, si posterior a la presentación de un alimento novedoso se presentan consecuencias postingestivas negativas, el alimento no será consumido en posteriores exposiciones

(Corey, 1978; Lin et al., 2017). Rebusky y Bedarf (1967) mostraron en su estudio en ratas el efecto de un alimento familiar y un alimento novedoso; el resultado fue que al ser asociado con un malestar fisiológico, los sujetos rechazaron el alimento novedoso, pero no al alimento familiar. Este resultado se relaciona con lo que se encontró en este estudio, debido a que se presentó una nula ingesta de galletas en las fases de condicionamiento y la fase de prueba de los grupos 1

y 2. Respecto a la dosis, se tomaron como referencia diversos estudios dado que se utilizó la dosis más alta (Loy & Hall, 2002; Martínez et al., 2014; Nachman & Ashe, 1973). Esta dosis fue de 3.0 mEq/kg, diluido en agua al 2.8%; esto implica mayor intensidad de consecuencias desagradables (RI) para los sujetos y mayor rechazo del alimento (disminución de la ingesta de alimento o nula ingesta).

Otros aspectos que influyen en el establecimiento de una conducta alimentaria aversiva son las características organolépticas de los alimentos, por ejemplo, los que son considerados alimentos palatables y con un alto porcentaje de azúcar. Massey y Galhoun (1977) reportaron que la palatabilidad es un factor importante para el desarrollo de una conducta de aversión condicionada. Houpt et al. (1990) observaron que es más difícil generar una conducta de aversión a alimentos palatables en comparación con otros tipos de alimento. Estos autores desarrollaron en caballos una conducta de aversión a diversos alimentos como pellets de alfalfa, maíz y alimento dulce, el cual contenía maíz, avena y soya. Demostraron que aún con el desarrollo de una conducta de aversión alimentaria, los sujetos consumieron mayor cantidad del alimento dulce en comparación con el resto. Los resultados del presente estudio muestran que, aún con la exposición a alimentos palatables, es posible generar una fuerte conducta de aversión con una dosis alta de LiCl a partir de su asociación con el alimento, dado que las ratas no ingirieron el alimento presentado. En ese sentido, las galletas utilizadas en el presente estudio son consideradas un alimento palatable por su alto contenido energético (51% azúcar), como se presenta en la Tabla 1 (Rogers et al., 1988; Rozin, 2002).

Otro aspecto relevante del presente estudio fue observar que los sujetos bajo CAS en la fase 4 no consumieron alimento durante la segunda exposición al estímulo (2 horas) aun cuando la galleta tenía un relleno con sabor distinto y los sujetos estuvieron en privación alimentaria. Esto apoya lo establecido en otros estudios del CAS y confirma que es posible generar una conducta alimentaria aversiva en un único ensayo a partir de la asociación de estímulos y sus consecuencias (de la Torre et al., 2004; Molero, 2007). En ese sentido, se puede resaltar la magnitud del CAS sobre el rechazo de alimentos, sumado que el

alimento presentado en la fase 2 tenía características similares al estímulo nuevo, aunque el sabor era distinto. Además, la conducta de aversión alimentaria se mantuvo por largo tiempo, ya que transcurrieron más de 20 días entre la fase de condicionamiento (fase 2) hasta el día de la prueba (fase 6).

Hay que resaltar que el alimento estándar y las galletas sabor A y B tenían ciertas características similares como forma, color y textura. Algunos sujetos, en los días posteriores a las fases de condicionamiento, presentaron una disminución de consumo del alimento estándar (ver Figura 2, sujetos S1, S4, S6, S11 y S12) y un aumento progresivo conforme pasaron los días de exposición. Este fenómeno puede ser explicado bajo los principios de generalización y discriminación del estímulo en el CAS. El estudio indica que probablemente, por sus características similares con las galletas, disminuyó también el consumo de alimento estándar. Estudios confirman que una asociación de un sabor novedoso con consecuencias gastrointestinales negativas se puede generalizar a otros sabores novedosos (Lima et al., 2019; Parker & Rebusky, 1982). Sin embargo, sería importante profundizar este tema realizando más estudios, ya que este fenómeno no se presentó en todos los sujetos y el alimento estándar no fue un alimento novedoso. Por otra parte, una limitación de este estudio es que no se registraron los comportamientos de los sujetos después de la administración de LiCl a través del test de reactividad y no se llevó a cabo un microanálisis de la conducta durante los episodios de alimentación, lo cual hubiera podido esclarecer posibles efectos conductuales secundarios del LiCl.

Aunque el fenómeno del CAS ha sido estudiado durante mucho tiempo y sigue siendo explorado en diferentes animales tanto vertebrados (e.g., roedores, perros, mapaches y murciélagos) como invertebrados (e.g., moscas de la fruta, grillos, caracoles y babosas) (Brown et al., 2023; Muñiz Moreno & Loy, 2023), en la actualidad se continúa abordando desde diferentes perspectivas que incluyen los efectos diferenciales de la sed y la saciedad en la adquisición, recuperación y extinción relacionados con el proceso de recordar (Miranda et al., 2023). Si bien el presente estudio se realizó desde una perspectiva conductual, el abordaje de este fenómeno es común desde un enfoque

fisiológico, para comprender los substratos y mecanismos neuronales implícitos, y aspectos inmunológicos relacionados con estímulos novedosos y familiares, o con adquisición de la memoria (Wiaderkiewicz & Reilly, 2023).

El rechazo hacia un alimento puede considerarse como un proceso multidimensional constituido por una estructura dinámica y variable. Las características propias del alimento, el tiempo y el orden en el que éste se presenta, las consecuencias postingestivas, las características histórico-personales de cada sujeto y hasta las características del ambiente son considerados factores reguladores importantes en la selección, aceptabilidad, ingesta, preferencia, y en especial en el desarrollo y adquisición de conductas alimentarias aversivas. En este sentido, debido a los múltiples factores implicados en el fenómeno de la aversión, resulta importante profundizar los conocimientos actuales sobre los procedimientos que generan aversiones condicionadas, ya que estos pueden resultar útiles para la prevención y el tratamiento de conductas alimentarias de riesgo o desadaptativas.

En conclusión, los resultados de este estudio confirman la generación de una conducta de aversión a estímulos gustativos novedosos palatables en presentación sólida, sugiriendo también la posibilidad de una generalización de la aversión debido a las características similares de los estímulos alimentarios utilizados. Estudios como este no solo contribuyen a la comprensión de los mecanismos de aprendizaje y memoria, sino también tienen aplicaciones prácticas para la psicología clínica y la salud humana.

Referencias

- Ackroff, K., Manza, L., & Sclafani, A. (1993). The rat's preference for sucrose, polycose and their mixtures. *Appetite*, 21(1), 69-80. <https://doi.org/10.1006/appe.1993.1037>
- Aldalur, E. M., Mateo, C. M., & Lasa, N. B. (2014). Neofobia y otros trastornos restrictivos alimentarios en la infancia y consumo de frutas y verduras: revisión. *Revista Española de Nutrición Comunitaria*, 20(4), 150-157. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ibc-139546>
- Anderson, M. J., Hinderliter, C. F., & Misanin, J. R. (2006). The effects of chronic water deprivation on metabolic rate and long-trace taste-aversion conditioning in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 85(3), 199-205. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2005.10.004>
- Ballesteros, M., Gallo, M., & Maldonado, A. (2001). Detección de aversiones gustativas inducidas por estímulos incondicionados débiles como la rotación. *Psicológica*, 22, 217-234. <https://goo.gl/GVCJfH>
- Barbosa, R. R., Silva, I. P. D., & Soto-Blanco, B. (2008). Development of conditioned taste aversion to *Mascagnia rigida* in goats. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 28(12), 571-574. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2008001200001>
- Bernstein, I. L. & Borson, S. (1986). Learned food aversion: A component of anorexia syndromes. *Psychological Review*, 94, 462-472. <https://doi.org/10.1037/0033-295X.93.4.462>
- Bouton, M. E., & Michaud, N. L. (2022). Partial reinforcement effects on acquisition and extinction of a conditioned taste aversion. *Learning & Behavior*, 50(3), 360-371. <https://doi.org/10.3758/s13420-022-00523-7>
- Bures, J., Bermúdez-Rattoni, F., and Yamamoto, T. (1998). *Conditioned Taste Aversion: Memory of a Special Kind* (Vol. 31). Oxford University Press.
- Brown, E., Worden, K., Li, Y., Masek, P., & Keene, A. C. (2023). Innate and conditioned taste processing in *Drosophila*. *Cold Spring Harbor Protocols*. <https://doi.org/10.1101/pdb.top107864>
- Corey, D. (1978). The determinants of exploration and neophobia. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2(4), 235-253. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(78\)90033-7](https://doi.org/10.1016/0149-7634(78)90033-7)
- Crawley, M. J. (2007). *The R book*. John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/9780470515075>
- de Brugada, I., González, F., Cándido, A., & Hall, G. (2021). Contextual control of the retardation of flavor aversion learning by preexposure to the unconditioned stimulus: Acquisition or retrieval deficit? *Behavioural Processes*, 188, 104394. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2021.104394>
- de la Torre, M. L., Agüero, A., & Escarabajal, M. D. (2004). Aprendizaje de aversión al sabor como paradigma de investigación: Concepto y procedimientos experimentales. *Seminario Médico*, 56(2), 53-64. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1232843>
- Dovey, T. M., Staples, P. A., Gibson, E. L., & Halford, J. C. (2008). Food neophobia and 'picky/fussy' eating in children: a review. *Appetite*, 50(2-3), 181-193. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2007.09.009>
- Feurté, S., Nicolaidis, S., & Berridge, K. C. (2000). Conditioned taste aversion in rats for a threonine-deficient diet: demonstration by the taste reactivity test. *Physiology & Behavior*, 68(3), 423-429. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(99\)00202-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(99)00202-4)
- Flores, V. L., Moran, A., Bernstein, M., & Katz, D. B. (2016). Pre-exposure to salty and sour taste enhances conditioned

- taste aversion to novel sucrose. *Learning & Memory*, 23(5), 221-228. <https://doi.org/10.1101/lm.040360.115>
- Flores, V. L., Parmet, T., Mukherjee, N., Nelson, S., Katz, D. B., & Levitan, D. (2018). The role of the gustatory cortex in incidental experience-evoked enhancement of later taste learning. *Learning & Memory*, 25(11), 587-600. <https://doi.org/10.1101/lm.048181.118>
- Garcia, J., Kimeldorf, D. J., & Koelling, R. A. (1955). Conditioned aversion to saccharin resulting from exposure to gamma radiation. *Science*, 122, 157-158. <https://doi.org/10.1126/science.122.3160.157>
- Garcia, J., & Koelling, R.A. (1966). Relation of cue to consequence in avoidance learning. *Psychonomic Science*, 4, 123-124. <https://doi.org/10.3758/BF03342209>
- Gentle, M., Massei, G., & Quay, R. (2006). Diversity of diet influences the persistence of conditioned taste aversion in rats. *Applied Animal Behaviour Science*, 97(2-4), 303-311. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2005.08.005>
- Ginane, C., & Dumont, B. (2006). Generalization of conditioned food aversions in grazing sheep and its implications for food categorization. *Behavioural Processes*, 73(2), 178-186. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2006.05.006>
- Haupt, K., A., Zahorik, D., M., & Swartzman-Andert, J., A. (1990). Taste aversion learning in horses. *Journal of Animal Science*, 68(8), 2340-2344. <https://doi.org/10.2527/1990.6882340x>
- Jian-You, L., Joe, A., & Steve, R. (2014). Conditioned taste aversion, drugs of abuse and palatability. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 45, 28-45. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.05.001>
- Justel, N., & Ruetti, E. M. (2012). Memoria del sabor. *Revista Argentina de Ciencias del Comportamiento*, 4(1), 31-43. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/103285>
- Kraemer, P. J., & Roberts, W. A. (1984). The influence of flavor preexposure and test interval on conditioned taste aversions in the rat. *Learning and Motivation*, 15(3), 259-278. [https://doi.org/10.1016/0023-9690\(84\)90022-5](https://doi.org/10.1016/0023-9690(84)90022-5)
- Lima, K. R., de Vargas, L. D. S., Ramborger, B., Roehrs, R., Sevenster, D., Izquierdo, I., ... & Mello-Carpes, P. B. (2019). Noradrenergic and dopaminergic involvement in novelty modulation of aversive memory generalization of adult rats. *Behavioural Brain Research*, 371, 111991. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.111991>
- Lin, J. Y., Arthurs, J., & Reilly, S. (2017). Conditioned taste aversions: From poisons to pain to drugs of abuse. *Psychonomic Bulletin & Review*, 24, 335-351. <https://doi.org/10.3758/s13423-016-1092-8>
- Loy, I., & Hall, G. (2002) Taste aversion after ingestion of lithium chloride: An associative Analysis. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 55, 365-380. <https://doi.org/10.1080/027249902440000>
- Manuelian, C. L., Albanell, E., Rovai, M., & Caja, G. (2016). How to create conditioned taste aversion for grazing ground covers in woody crops with small ruminants. *Journal of Visualized Experiments*, 30(110), 53887. <https://doi.org/10.3791/53887>
- Martínez Moreno, A. G., López-Espinoza, A., de León López, I., Solano Santos, L., & Hernández-Leonardo, F. (2014). Conditioned taste aversion diminishes sugar intake. *Food and Nutrition Sciences*, 5, 997-1004. <https://doi.org/10.4236/fns.2014.511110>
- Martínez-Moreno, A. G., López-Espinoza, A., Miguel Gómez, H. D., Guzmán Aburto, M. B., & del Muro Serur, L. Y. (2018). Efectos diferenciales del condicionamiento aversivo a sabores sobre la ingesta de sacarosa y estevia. *Revista Mexicana de Trastornos Alimentarios*, 9(1), 3-10. <http://doi.org/10.22201/fesi.20071523e.2018.1.447>
- Massey, O. T., & Calhoun, W., H. (1977). Stimulus generalization according to palatability in lithium-chloride-induced taste aversions. *Bulletin of the Psychonomic Society*, 10, 92-94. <https://doi.org/10.3758/BF03329290>
- Miranda, M. I. (2012). Taste and odor recognition memory: the emotional flavor of life. *Reviews in the Neurosciences*, 23(5-6), 481-499. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2012-0064>
- Miranda, M. I., Alcalá, A., Vera-Rivera, G., & Rangel-Hernández, J. A. (2023). Differential effects of thirst and satiety on conditioned taste aversion acquisition, retrieval, and memory extinction. *Physiology & Behavior*, 114143. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2023.114143>
- Misanin, J. R., Collins, M., Rushanan, S., Anderson, M. J., Goodhart, M., & Hinderliter, C. F. (2002). Aging facilitates long-trace taste-aversion conditioning in rats. *Physiology & Behavior*, 75(5), 759-764. [https://doi.org/10.1016/S0031-9384\(02\)00671-6](https://doi.org/10.1016/S0031-9384(02)00671-6)
- Molero, A. (2007). Taste aversion learning: characteristics, paradigm and brain mechanism. *Anales de Psicología*, 23(1), 57-64. <https://goo.gl/BZU1zR>
- Muñiz Moreno, J., & Loy, I. (2023). Taste aversion learning in the snail *Cornu aspersum*. *Animal Cognition*, 1-6. <https://doi.org/10.1007/s10071-023-01760-7>
- Nachman, M., & Ashe, J. H. (1973). Learned taste aversions in rats as a function of dosage, concentration, and route of administration of LiCl. *Physiology & Behavior*, 10(1), 73-78. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(73\)90089-9](https://doi.org/10.1016/0031-9384(73)90089-9)
- Parker, L. A. (2003). Taste avoidance and taste aversion: evidence for two different processes. *Animal Learning & Behavior*, 31(2), 165-172. <https://doi.org/10.3758/BF03195979>

- Parker, L. A., & Revusky, S. (1982). Generalized conditioned flavor aversions: Effects of toxicosis training with one flavor on the preference for different novel flavors. *Animal Learning & Behavior*, 10(4), 505-510. <https://doi.org/10.3758/BF03212291>
- Parker, L.A., Hills, K., & Jensen, K. (1984). Behavioral CRs elicited by a lithium- or an amphetamine-paired contextual test chamber. *Animal Learning & Behavior*, 12, 307-315. <http://dx.doi.org/10.3758/BF03199972>
- Pfister, J. A., Stegelmeier, B. L., Cheney, C. D., Ralphs, M. H., & Gardner, D. R. (2002). Conditioning taste aversions to locoweed (*Oxytropis sericea*) in horses. *Journal of Animal Science*, 80(1), 79-83. <https://doi.org/10.2527/2002.80179X>
- R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Ralphs, M. H., & Provenza, F. D. (1999). Conditioned food aversions: principles and practices, with special reference to social facilitation. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58(4), 813-820. <https://doi.org/10.1017/S002966519900110X>
- Ramos, R., Wu, CH., & Turrigiano, G. (2022). Strong Aversive Conditioning Triggers a Long-Lasting Generalized Aversion. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 16, 854315. <https://doi.org/10.3389/fncel.2022.854315>
- Reilly, S., & Bornovalona, M. A. (2005). Conditioned taste aversion and amygdala lesions in the rat: a critical review. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(7), 1067-88. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2005.03.025>
- Reilly, S., & Trifunovic, R. (2001). Lateral parabrachial nucleus lesions in the rat: neophobia and conditioned taste aversion. *Brain Research Bulletin*, 55(3), 359-366. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00517-2](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00517-2)
- Revusky, S. H., & Bedarf, E. W. (1967). Association of illness with prior ingestion of novel foods. *Science*, 155(3759), 219-220. <https://doi.org/10.1126/science.155.3759.219>
- Riley, A. L., & Freeman, K. B. (2004). Conditioned taste aversion. A database. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 77, 655-656. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2004.01.002>
- Rogers, P. J., Carlyle, J. A., Hill, A. J., & Blundell, J. E. (1988). Uncoupling sweet taste and calories: comparison of the effects of glucose and three intense sweeteners on hunger and food intake. *Physiology & Behavior*, 43(5), 547-552. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(88\)90207-7](https://doi.org/10.1016/0031-9384(88)90207-7)
- Rozin, P. (2002). Perspectivas psicobiológicas sobre las preferencias y aversiones alimentarias. En: J. Contreras (comp.), *Alimentación y Cultura* (pp. 85-109). Publicacions Universitat de Barcelona
- Ruhlen, R. L., Taylor, J. A., Mao, J., Kirkpatrick, J., Welshons, W. V., & Vom Saal, F. S. (2011). Choice of animal feed can alter fetal steroid levels and mask developmental effects of endocrine disrupting chemicals. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 2(1), 36-48. <https://doi.org/10.1017/S2040174410000711>
- Ruiz, P., Crossa, C., Valdenegro, J., & Verdes, J. M. (2020). La aversión condicionada con cloruro de litio en ovinos para evitar el consumo de hojas de olivo. *Revista Argentina de Ciencias del Comportamiento*, 12(1), 72-80. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1852-42062020000100072&script=sci_abstract&tlng=en
- Sclafani, A., & Ackroff, K. (2020). Formation of flavor aversions and preferences. En B. Fritzsche & W. Meyerhof (Eds), *The Senses: A Comprehensive Reference* (Second ed., pp. 333-352). Elsevier.
- Swank, M., Schafe, G., & Bernstein, I. (1995). c-Fos induction in response to taste stimuli previously paired with amphetamine or LiCl during taste aversion learning. *Brain Research*, 673(2), 251-261. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)01421-d](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)01421-d)
- Swank, M. W., & Sweatt, J. D. (2001). Increased histone acetyltransferase and lysine acetyltransferase activity and biphasic activation of the ERK/RSK cascade in insular cortex during novel taste learning. *The Journal of Neuroscience*, 21(10), 3383-3391. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-10-03383.2001>
- Wiaderkiewicz, J., & Reilly, S. (2023). Expression of c-Fos following voluntary ingestion of a novel or familiar taste in rats. *Brain Research*, 1799, 148177. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2022.148177>
- Wood, A. J., Goodwin, G. M., De Souza, R., & Green, A. R. (1986). The pharmacokinetic profile of lithium in rat and mouse; an important factor in psychopharmacological investigation of the drug. *Neuropharmacology*, 25(11), 1285-1288. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(86\)90149-8](https://doi.org/10.1016/0028-3908(86)90149-8)