



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS
INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR

**“Codificación de la intensidad de la sacarosa y la toma de decisiones en las
cortezas insular y orbitofrontal de la rata”**

Tesis

**que para optar por el grado de
Doctora en Ciencias**

Presenta:

Lic. Esmeralda G. Fonseca de la Cruz

Tutor principal:

Dr. Ranier Gutiérrez Mendoza – CINVESTAV-Zacatenco

Comité tutor:

Dr. Rudolf Marinus Buijs – Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

Dr. Luis Alonso Lemus Sandoval – Instituto de Fisiología Celular, UNAM

Ciudad Universitaria, CD. MX. Enero 2019.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente:

Dr. Ismael Jiménez Estrada

Secretario:

Dr. Luis Alonso Lemus Sandoval

Vocal:

Dr. Francisco Sotres Bayón

Vocal:

Dr. Hugo Merchant Nancy

Vocal:

Dra. Marisol Orozco Ibarra

AGRADECIMIENTOS

Gracias al departamento de Farmacología del CINVESTAV porque en sus preciadas instalaciones se obtuvieron los datos aquí presentados. Gracias a la UNAM, mi *alma máter*, por las oportunidades brindadas las cuales han repercutido en mi desarrollo académico y personal. Agradezco al posgrado de Ciencias Biomédicas por las oportunidades educativas ofertadas que promueven el desarrollo de nuevos investigadores. Asimismo, se agradecen los financiamientos que permitieron la realización de este proyecto: Beca de doctorado CONACyT (CVU: 505720/Becario: 289976), Becas CONACyT Fronteras de la Ciencia 63, Problemas Nacionales 464 y Productos Medix 3247.

Gracias al Dr. Ranier Gutiérrez Mendoza por todo el tiempo invertido en mi formación, por siempre estar tan motivado y por ser tan curioso, por siempre querer saber. Me llevo mucho de estas vivencias y espero tenerlas siempre presentes.

Gracias a los doctores Luis Lemus, Rudolf Buijs y Víctor de Lafuente por compartir sus conocimientos, y por siempre tener un sabio y práctico consejo que compartirme.

Gracias al laboratorio de Neurobiología del Apetito que me ha brindado grandes enseñanzas e increíbles compañeros. Gracias por todo, Álvaro, Miguel, Sono, Prado, Kalyan, Benji, Alam, Jessica, Aketzali, Claudia, Jorge, Silvia, Francisco, Blanca y Mónica. Gracias a Mario Gil Moreno por la construcción de los arreglos de multielectrodos, a Laura Dayana Buendía y Fabiola Olvera Hernández por su invaluable trabajo en el cuidado de los animales, y a Francisco Zepeda y Sono Matsumoto por su ayuda con el entrenamiento de los animales que han participado en este proyecto.

Gracias a mis padres, Cynthia y Jesús, por su comprensión y apoyo en este camino de mi formación como investigadora. Gracias a Álvaro por acompañarme durante este trayecto de todas las formas en que se puede estar.

ÍNDICE

1. Resumen.....	1
2. Glosario.....	2
3. Introducción.....	3
3.1. Sistema gustativo periférico.....	4
3.2. Sistema gustativo central.....	6
3.3. La Corteza insular (CI).....	8
3.3.1. La corteza insular en el procesamiento gustativo.....	9
3.4. La Corteza orbitofrontal (COF).....	12
3.4.1. La corteza orbitofrontal en el procesamiento gustativo.....	12
4. Codificación de variables de decisión en la corteza insular y orbitofrontal.....	13
5. Planteamiento del problema.....	16
6. Objetivos.....	17
6.1. Objetivo general	17
6.2. Objetivos particulares.....	17
7. Hipótesis.....	18
7.1. Hipótesis general.....	18
8. Método.....	18
8.1. Sujetos.....	18
8.2. Materiales.....	19
8.2.1. Soluciones.....	19
8.2.2. Equipo conductual.....	19
8.3. Procedimiento.....	20
8.3.1. Tarea de discriminación de intensidades de sacarosa.....	20
8.3.2. Sesiones de generalización.....	21
8.4. Cirugía.....	23
8.5. Histología.....	24
8.6. Electrofisiología.....	24
9. Análisis de datos.....	25
9.1. Perfiles de modulación.....	25
9.1.1. Respuestas evocadas por el Estímulo-D.....	25
9.1.2. Respuestas fásicas.....	26
9.1.3. Respuestas tónicas decrecientes o crecientes.....	26
9.1.4. Respuestas coherentes con el lengüeteo decrecientes o crecientes...	27
9.1.5. Respuestas no-moduladas y coherentes-no-evocadas.....	28
9.1.6. Neuronas selectivas a la intensidad.....	28
9.1.7. Decodificador poblacional de la intensidad de la sacarosa.....	29
9.2. Perfil de codificación.....	33
9.2.1. Neuronas sensoriales.....	33
9.2.2. Neuronas de decisión.....	34
9.2.3. Neuronas selectivas a la dirección.....	36
9.2.4. Neuronas que codifican la omisión de la recompensa.....	37
9.2.5. Codificación poblacional de la omisión de la recompensa.....	38
9.2.6. Sobrelape entre los perfiles de codificación poblacional.....	38
9.2.7. Sobrelape entre los perfiles de codificación y los de modulación.....	39

10. Resultados.....	39
10.1. Conducta.....	39
10.2. Electrofisiología.....	43
10.3. Perfiles de modulación de los ensayos de discriminación (estímulo-D).....	43
10.4. Neuronas selectivas a la intensidad.....	48
10.5. Respuestas a la sacarosa dependientes de concentración.....	54
10.6. Neuronas de decisión.....	56
10.7. Neuronas selectivas a la dirección.....	59
10.8. Neuronas responsivas a la consecuencia.....	61
10.9. Integración y solapamiento entre perfiles de codificación.....	63
10.10. Solapamiento entre perfiles de modulación y de codificación.....	65
11. Discusión.....	65
12. Conclusión.....	77
13. Referencias.....	77
14. Tablas de estadísticos.....	84

1. RESUMEN

La intensidad/concentración de la sacarosa es uno de los atributos que contribuye al sobreconsumo de alimento altamente calórico. A pesar de esto, no se ha elucidado cómo la intensidad de la sacarosa es codificada y cómo esta información es utilizada por neuronas de las cortezas gustativas, primaria y secundaria, para realizar la toma de decisiones perceptuales. Para abordar esta problemática entrenamos ratas en una tarea de discriminación de intensidades de sacarosa. Encontramos que la sacarosa evoca una respuesta extendida en neuronas registradas en la Corteza Insular posterior (Clp), anterior (Cla) y Orbitofrontal (COF). Un grupo pequeño de neuronas selectivas contuvo la mayor cantidad de información acerca de la intensidad de la sacarosa, indicando que el sistema gustativo usa un código compacto y distribuido para codificar la intensidad del sabor dulce. Dicha información se encontró contenida en la tasa de disparo y en el patrón temporal de disparo “*spike-timing*” de las neuronas. Las neuronas de la Clp, Cla y COF también respondieron a la dirección del movimiento (responder al puerto izquierdo o derecho). No obstante, las neuronas de la COF tuvieron una respuesta más robusta. Algunas neuronas de la Cla y COF codificaron la decisión de los sujetos, mientras que las neuronas de las tres regiones codificaron la omisión del reforzador. En resumen, las tres regiones corticales proveyeron una representación neural de la intensidad de la sacarosa percibida y toda la información relacionada con la tarea conductual, la cual subyace a la toma de decisiones perceptual.

1. SUMMARY

Sucrose's sweet intensity/concentration is one attribute contributing to the overconsumption of high-energy palatable foods. However, it is not known how sucrose intensity is encoded and used to make perceptual decisions by neurons in taste cortices. To address these issues, we trained rats in a sucrose intensity discrimination task. We found that sucrose evoked a widespread response in neurons recorded in posterior (pIC), anterior (aIC) Insula, and Orbitofrontal cortex (OFC). Only a few selective-neurons conveyed the most information about sucrose intensity, indicating that the taste system used a compact and distributed code for intensity. Sucrose intensity was encoded in both firing-rates and spike-timing. The pIC, aIC, and OFC neurons tracked movement direction, with OFC neurons providing the most robust response. aIC and OFC neurons encoded the subject's choices, whereas the three regions tracked reward omission. Overall, these areas provide a neural representation of perceived sucrose intensity, and of task-related information underlying perceptual decision-making.

2. GLOSARIO

BG: Botón gustativo.

Cla: Corteza insular anterior.

Clp: Corteza insular posterior.

COF: Corteza orbitofrontal.

CRG: Célula receptora gustativa.

NPB: Núcleo parabraquial.

NTSr: Núcleo del tracto solitario porción rostral.

ROC: Característica operativa del receptor.

ROC_{abc}: Área bajo la curva ROC.

SNC: Sistema nervioso central.

VPMpc: Núcleo talámico ventroposteromedial división parvocelular.

3. INTRODUCCIÓN

El sentido del gusto nos remonta a la conducta de ingesta de alimento. Cuando colocamos un alimento en la boca, debemos tomar la decisión de ingerirlo o no. La cualidad gustativa es una característica clave que nos indica la presencia de sustancias potencialmente dañinas o de nutrientes, ayudándonos a tomar esta decisión (Breslin, 2013). Por ejemplo, de manera innata, rechazamos alimentos amargos y ácidos ya que podrían contener alcaloides (o toxinas) o estar en estado de putrefacción; por otra parte, aceptamos soluciones dulces, saladas o con sabor umami, ya que señalan la presencia de carbohidratos, minerales o proteínas, respectivamente (Yoshida and Ninomiya, 2010). De manera similar, la cantidad de alimento ingerido puede verse afectada por la concentración de una misma cualidad gustativa: tendemos a disminuir nuestro consumo entre más amargo es el alimento y aumentarlo cuando es más dulce (Hashimoto and Spector, 2014). Aunque el consumo puede verse afectado por otras variables como las buenas o malas experiencias post-ingestionales asociadas con el sabor del alimento, el olor, la textura, la temperatura, el estado interoceptivo de hambre/saciedad, el número de comensales, entre otras (Gutierrez and Simon, 2011).

La cualidad, intensidad (concentración) y el valor hedónico (palatabilidad) de un estímulo sávido son percibidos gracias a la comunicación eléctrica, neuroquímica y hormonal de estructuras que van desde la periferia, en la cavidad oral, hasta el Sistema Nervioso Central (SNC).

3.1. Sistema gustativo periférico

El ingreso de un alimento a la boca produce la estimulación química de las microvellosidades de la porción apical de los Botones Gustativos (BG). Alrededor de 5000 BG se encuentran distribuidos en la lengua, el paladar, la laringe y la faringe. En la lengua, los BG se encuentran embebidos en las papilas fungiformes, circunvalas y foliadas (las papilas filiformes no contienen BG por lo que no serán discutidas). Cada BG está conformado por 50-100 Células Receptoras Gustativas (CRG) (Chaudhari and Roper, 2010; Yoshida and Ninomiya, 2010). A *grosso modo* existen tres tipos de CRG con receptores a moléculas de las 5 cualidades gustativas clásicamente descritas: salado, dulce, umami, amargo y ácido. Las CRG de tipo I expresan un canal de sodio epitelial sensible a amilorida cuya expresión es necesaria para la percepción del sabor salado (Spector et al., 1996). Las CRG tipo II expresan receptores acoplados a proteínas G que responden de manera diferencial al sabor dulce (heterodímero T1R2-T1R3), al sabor umami (heterodímero T1R1-T1R3) (Nelson et al., 2002) y al sabor amargo (T2Rs) (Adler et al., 2000; Yoshida et al., 2009). El receptor PKD2L1 de las CRG tipo III es el responsable de la detección del sabor ácido (Huang et al., 2006). Además de estas 5 cualidades gustativas, la lengua puede percibir otros compuestos; por ejemplo, los ácidos grasos de cadena larga son detectados por proteínas membranales CD36; reducir su expresión atenúa la preferencia por el ácido linoléico en ratas obesas (Chen et al., 2013). Incluso, en roedores se ha descubierto un sistema de detección de agua, específicamente las células responden al lavado de los iones de bicarbonato presentes en la saliva (Zocchi et al., 2017). A pesar de la variedad de receptores que responden selectivamente a alguna de las cualidades gustativas, las CRG de todas las cualidades

gustativas se encuentran mezcladas en un mismo BG, los cuales están distribuidos en toda la lengua, por lo que cualquier cualidad (dulce, salado, ácido, umami y amargo) puede ser detectada a lo largo de la misma (Gilbertson et al., 2001).

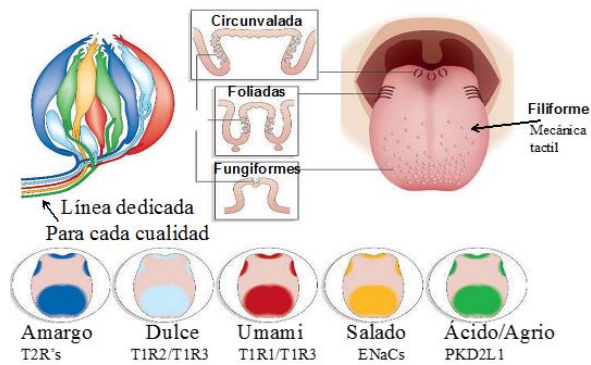


Figura 1. Las cualidades gustativas pueden ser detectadas en cualquier porción de la lengua. (Modificado de Chandrashekar et al., 2006). Los tipos papilas gustativas (circunvalada, foliada y fungiforme) se encuentran distribuidas en la lengua de manera segregada. Inmersas en las papilas se encuentran los BG, órganos conformados por CRG. Existen diferentes tipos de CRG que pueden responder de manera selectiva a una cualidad gustativa. En el BG coexisten diferentes tipos de CRG, de forma que una misma cualidad gustativa puede ser detectada en cualquier porción de la lengua.

A pesar de que cada cualidad gustativa tiene un receptor específico asociado, el receptor en sí mismo no es el responsable de que podamos detectar un sabor u otro (Chandrashekar et al., 2006; Yarmolinsky et al., 2009). De hecho, en ratones se ha demostrado que la expresión de T2R (detecta sabor amargo) en células que responden a sabores dulce, promueve el consumo de soluciones amargas (como si fuera dulce); mientras la expresión del receptor de lo dulce en las CRG que detectan sabores amargos, promueve el rechazo de soluciones dulces (Mueller et al., 2005). Este experimento sugiere que el sabor de una solución amarga o dulce es resultado de la activación de una CRG específica y no del receptor *per se* (Mueller et al., 2005). Asimismo, se han encontrado algunas fibras aferentes que responden de manera selectiva a una cualidad gustativa (Chaudhari and Roper, 2010). Dichos hallazgos sugieren que el procesamiento de la información acerca de las cualidades gustativas se da de forma segregada,

hipótesis conocida en inglés como “labelled line model” (Chandrashekar et al., 2006), (ver Figura 1). No obstante, a nivel central una misma neurona puede responder a diferentes cualidades gustativas gracias a la inervación de diferentes fibras (Chandrashekar et al., 2006; Chaudhari and Roper, 2010; Smith et al., 2000). Estos hallazgos sugieren que la información acerca de la cualidad gustativa en el SNC parece estar codificada de manera distribuida a través de ensamblajes neuronales, apoyando el modelo conocido en inglés como “across fiber pattern” (Smith et al., 2000). Sin embargo, de manera reciente y como veremos más adelante, se han localizado grupos neuronales segregados que responden de manera selectiva a algunas de las cualidades gustativas (Chen et al., 2011; Wang et al., 2018).

3.2. Sistema gustativo central

La información gustativa llega al SNC a través de diferentes ramas de los pares craneales VII (facial), IX (glossofaríngeo) y X (vagoneumogástrico). Las ramas chorda tympani y gran petrosal superior del nervio facial inervan la porción anterior de la lengua y el paladar, respectivamente; la rama lingual-tonsilar del glossofaríngeo inerva las porciones posterior y lateral de la lengua; mientras la rama laringeal superior del nervio vago inerva a las CRG ubicadas en la laringe, faringe y epiglotis (Chaudhari and Roper, 2010). Dichas fibras establecen sinapsis con neuronas de la porción rostral del Núcleo del Tracto Solitario (NTSr). El NTS es un centro sensorial primordial ya que recibe información respiratoria, cardíaca, visceral, orotáctil y gustativa (Bradley, 2006; Cavanaugh et al., 2015; Giza et al., 1992; Han et al., 2018; King, 2007). Este núcleo tiene tres principales eferentes que contribuyen a la conducta consumatoria, el procesamiento metabólico del

alimento y el procesamiento gustativo-hedónico. La primera eferente involucra a neuronas en la subdivisión ventral del NTSr que envían eferencias a neuronas pre-motoras de la Formación Reticular Intermedia las cuales a su vez se comunican con motoneuronas del núcleo del hipogloso, participando en el control del lengüeteo rítmico en roedores (Travers et al., 2000). Esto último explica el por qué ratas descerebradas (sin conexiones con el prosencéfalo) pueden tener reflejos de rechazo o aceptación a los alimentos y mostrar reacciones orofaciales apetitivas o aversivas (Grill and Norgren, 1978a), incluso pueden modular estas respuestas en función de su estado de saciedad (Grill and Norgren, 1978b). El NTS también envía fibras descendentes al Núcleo Motor Dorsal del Nervio Vago, activando las eferentes vagales involucradas en la digestión, absorción y metabolismo de nutrientes (Teff, 2008).

El primer relevo de información gustativa del NTS difiere entre primates y roedores. En primates, las neuronas sensibles al gusto del NTSr envían sus axones directamente a la división parvocelular del núcleo talámico Ventral Posteromedial (VPMpc) (Rolls, 2004; Rolls et al., 1989). En roedores, la información hace escala en el Núcleo Parabraquial (NPB), el cual envía eferencias al hipotálamo lateral, sustancia innominata, el núcleo del lecho de la estria terminal, la amígdala basolateral y al VPMpc (Norgren, 1976, 1974). Estas estructuras están involucradas en la ingesta de alimento y la formación de memoria gustativa. Las fibras gustativas del VPMpc envían sus axones a la corteza gustativa primaria, también conocida como Corteza Insular (CI). La CI proyecta recíprocamente al NPB, a la corteza primaria somatosensorial y a la Corteza Orbitofrontal (COF). La parte

caudolateral de esta última también se conoce como corteza gustativa secundaria (Rolls et al., 1990, 1989) (Fig. 2).

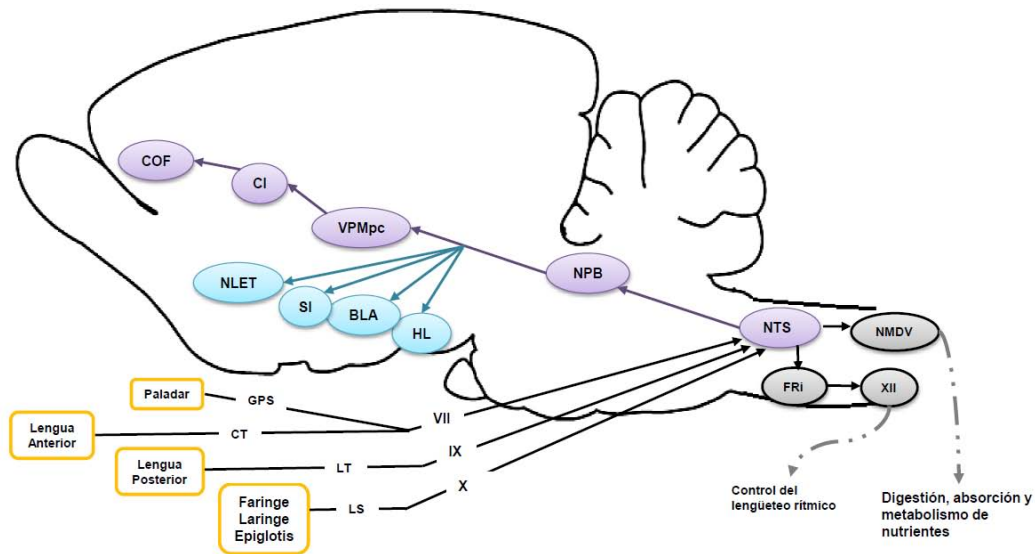


Figura 2. Procesamiento gustativo de la periferia hacia el SNC. El procesamiento gustativo sigue dos vías: la vía tálamocortical (morado) y la vía del prosencéfalo ventral (azul). La información llega al NTS a través de los pares craneales enviando esta información a la vía gustativa y a núcleos que controlan la conducta consumatoria (masticación y deglución) y que promueven el metabolismo de los alimentos. VII, Nervio facial; IX, Nervio glossofaríngeo; X, Nervio vagoneumogástrico; XII, Nervio hipogloso; BLA, Amígdala Basolateral; CI, Corteza Insular; COF, Corteza Orbitofrontal; CT, Chorda Tympani; FRI, Formación Reticular Intermedia; GPS, Gran Petrosal Superior; HL, Hipotálamo Lateral; LS, Laringeal Superior; LT, Lingual Tonsilar; NLET, Núcleo del Lecho de la Estria Terminal; NMDV, Núcleo Motor Dorsal del Nervio Vago; NPB, Núcleo Parabraquial; NTS, Núcleo del Tracto Solitario; SI, Sustancia Innominata; VPMpc, división parvocelular del núcleo talámico Ventroposteromedial.

3.4. La Corteza Insular (CI)

La CI es la primera estructura cortical que recibe información gustativa. Se encuentra ventral a la corteza somatosensorial y dorsal al surco renal. Desplazándonos en un plano dorsoventral la CI puede subdividirse en granular, disgranular y agranular, de acuerdo con su citoarquitectura. Las capas corticales se encuentran mayormente preservadas en las dos primeras, mientras que la subdivisión agranular carece de la capa IV y sus capas

V y VI se encuentran fusionadas (Kobayashi, 2011). La división disgranular recibe de manera más prominente información gustativa del VPMpc (Allen et al., 1991), constituyendo la vía gustativa tálamocortical (Pfaffmann et al., 1977); asimismo, recibe información visceral, anticipatoria y relacionada con la recompensa desde la corteza somatosensorial SII, los núcleos de la amígdala, el HL y la CPFm (Allen et al., 1991; Kobayashi, 2011; Shi and Cassell, 1998), constituyendo la vía del prosencéfalo ventral (Pfaffmann et al., 1977). Ambas vías interaccionan en la CI gracias a las interconexiones de las subdivisiones (Shi and Cassell, 1998), permitiendo la integración de la información y contribuyendo a la formación de la percepción del gusto.

3.4.1. La corteza insular en el procesamiento gustativo

El papel de la CI en la detección de cualidades gustativas ha sido ampliamente estudiado. Existen neuronas insulares que responden a estímulos representativos de las cinco cualidades gustativas clásicas, tanto en roedores (MacDonald et al., 2012; Ogawa et al., 1990; Stapleton et al., 2006) como en primates no humanos (Yamamoto et al., 1980). Se sabe que lesionar la CI de la rata deteriora su sensibilidad para detectar sal (agua vs sal) y discriminar sales (cloruro de sodio vs. cloruro de potasio): requiere concentraciones mayores de la sal para que el sujeto pueda identificarla correctamente (Blonde et al., 2015). Además, ratas con lesión en CI tardan más en aprender una tarea de discriminación en comparación con un grupo SHAM (Blonde et al., 2015).

La CI no sólo detecta diferentes cualidades gustativas, también identifica diferentes concentraciones de una misma cualidad gustativa. Al igual que en estructuras del tallo cerebral (Roussin et al., 2012; Wu et al., 2015), estas neuronas codifican la intensidad a través del aumento o disminución de su tasa de disparo en función de la concentración, tanto en ratas (MacDonald et al., 2012; Stapleton et al., 2006) como en monos (Scott et al., 1991). Se ha sugerido que esta codificación podría encontrarse alterada en sujetos obesos. De hecho, se ha reportado que ratas obesas presentan una mayor actividad en CI ante la presentación de sacarosa 0.5 M en comparación con ratas delgadas (Zhang et al., 2013).

Un hallazgo reciente en ratones ha sugerido que las neuronas que responden a las cualidades gustativas dulce y amargo se encuentran espacialmente segregadas en dos *hotspots* (Chen et al., 2011) (ver Figura 3). Específicamente, se demostró que los grupos neuronales que responden a amargo y dulce se encuentran ubicados de manera diferencial en la porción posterior y anterior de la CI, respectivamente (Chen et al., 2011; Wang et al., 2018). Lo anterior concuerda con hallazgos electrofisiológicos en monos que refieren un mayor número de neuronas que responden a un estímulo gustativo dulce en la porción anterior en comparación con la posterior de la CI (Yamamoto et al., 1989). Además, se sabe que dos estímulos sápidos con un valor hedónico distinto, a pesar de tener la misma cualidad gustativa, se encuentran representados de manera diferencial en la CI de la rata (Accolla et al., 2007). Otros experimentos con ratones han demostrado que la fotoestimulación del *hotspot* de lo dulce promueve conductas apetitivas, mientras la del amargo promueve conductas de aversión (Peng et al., 2015). Asimismo, se sabe

que el establecimiento de la memoria aversiva gustativa ocurre en la Clp de la rata (Escobar and Bermúdez-Rattoni, 2000). Por otra parte, experimentos de ganancia y pérdida de función en ratones han demostrado que el *hotspot* dulce es suficiente y necesario para el reconocimiento del sabor dulce (Wang et al., 2018). Incluso, se ha descrito una separación topográfica similar en la CI anterior del mono, aunque en un eje anatómico diferente: dorsal-apetitivo y ventral-aversivo (Jezzini et al., 2012). Sin embargo, si bien en mono se ha podido replicar los resultados de efectos diferenciales tras la estimulación de uno u otro *hotspot* (Jezzini et al., 2012), en la CI de la rata no se ha encontrado una segregación espacial de estos grupos neuronales (Fletcher et al., 2017). De hecho, en la Clp de la rata se ha identificado un *hotspot* hedónico (con neuronas que responden a sabores dulces) (Castro and Berridge, 2017).

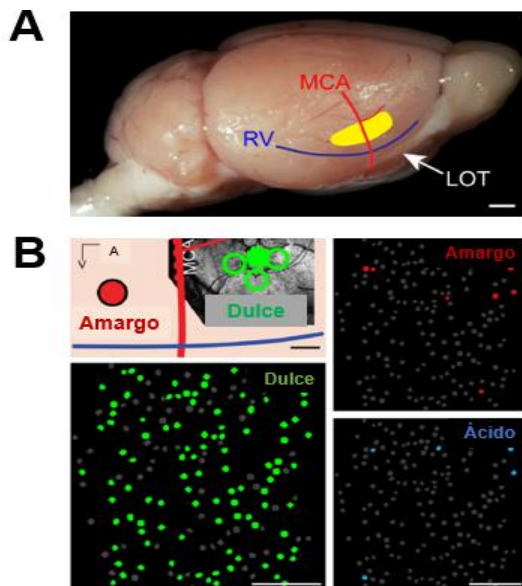


Figura 3. La corteza insular contiene hotspots segregados que responden preferencialmente a una cualidad gustativa. A. Fotografía en campo claro de una vista sagital de cerebro de ratón. La arteria cerebral media (MCA, en rojo) y la vena rinal (RV, en azul) fungen como puntos de referencias para identificar la localización de los hotspots. LOT, Tubérculo Lateral Olfatorio. **B.** Esquema que muestra la localización de los hotspots: el de lo dulce y lo amargo se encuentran anterior y posterior a la MCA (línea vertical roja), respectivamente; y dorsal a la vena rinal (línea horizontal azul). En los recuadros negros se muestran las células no responsivas (gris) y las responsivas a dulce (verde), amargo (rojo) y ácido (azul), dentro del hotspot de lo dulce. A, Anterior; V, Ventral. Modificado de Chen et al., 2011.

3.5. La Corteza Orbitofrontal (COF)

La COF es la región de la Corteza Prefrontal localizada de manera dorsal a la CI y que recibe proyecciones directas de la porción gustativa de la misma; dado la conexión anatómica y funcional entre COF y CI, se le conoce como corteza gustativa secundaria (Allen et al., 1991; Rolls et al., 1989; Shi and Cassell, 1998).

3.5.1. La corteza orbitofrontal en el procesamiento gustativo

En COF se han descrito neuronas que responden a diversas cualidades gustativas (Rolls et al., 1990; Thorpe et al., 1983). Asimismo, en la COF de monos, se han identificado neuronas selectivas a glucosa que aumentan su tasa de disparo en función de la concentración de la misma (Rolls et al., 1990, 1989; Thorpe et al., 1983). Se sabe que algunas de estas neuronas dejan de responder al sabor de un alimento cuando este mismo alimento fue dado hasta que el sujeto estuviera saciado, pero responden nuevamente si se entrega otro sabor diferente, siendo este el sustrato neuronal del fenómeno conocido como saciedad sensorial específica (Rolls Edmund T. et al., 2006; Rolls, 2004; Rolls et al., 1989). En roedores, se ha encontrado la ubicación de un *hotspot* en la COF anterior y rostromedial, cuya activación a través de fármaco opioides y orexinérgicos, respectivamente, promueven el aumento del valor hedónico de la sacarosa (Castro and Berridge, 2017).

4. Codificación de variables de decisión en la corteza insular y orbitofrontal

La CI además de ser la primera corteza en recibir información gustativa, es una región cortical que recibe información multisensorial de manera diferencial en sus subdivisiones citoarquitectónicas, la cual es integrada gracias a sus interconexiones (Allen et al., 1991; Kobayashi, 2011). Por otra parte, la COF cuenta con proyecciones bidireccionales con estructuras implicadas en la ingesta y el procesamiento de la recompensa, como el HL. También envía eferencias a la amígdala, al núcleo caudado, a la porción core del NAc y al ATV, así como proyecciones indirectas de NAcSh a través de la corteza prefrontal infralímbica (Ongür and Price, 2000; Price, 2007; Rolls, 2004). Además, COF recibe información de otras modalidades sensoriales: somatosensorial, auditiva, visual y olfativa (Cavada et al., 2000). Tanto para CI como para COF se ha sugerido un papel multimodal dada la recepción de aferencias, envío de eferencias y proyecciones bidireccionales con diversas estructuras involucradas en la regulación de la ingesta de alimento, estado interoceptivo del sujeto, navegación espacial, recompensa, entre otros procesos (Allen et al., 1991; Cavada et al., 2000, 2000; Kobayashi, 2011; Rolls, 2004; Shi and Cassell, 1998).

La Clp integra señales interoceptivas de hambre con información gustativa (de Araujo et al., 2006). Incluso, se ha descrito que las neuronas de la Clp de rata responden a estímulos visuales asociados con comida, sólo si los sujetos se encuentran en un estado motivado de hambre, pero no cuando están saciados (Livneh et al., 2017). Además, en ratas se ha demostrado que las neuronas de la Clp responden de manera diferencial ante estímulos que predicen diferentes consecuencias (Gardner and Fontanini, 2014).

Incluso, la inactivación de la Clp afecta la habilidad del sujeto de ajustar su respuesta basado en el valor actual de la consecuencia, sin afectar el aprendizaje ni la ejecución de la respuesta instrumental (Parkes et al., 2017, 2015). En conjunto, estos experimentos demuestran que la Clp está involucrada en el procesamiento de estímulos exteroceptivos, motivacionalmente relevantes, que permiten la predicción de consecuencias.

Además, la lesión de la Clp de la rata afecta el aprendizaje en una tarea de navegación espacial y el establecimiento de una memoria en un protocolo de Condicionamiento de Aversión al Sabor (CAS) (Escobar and Bermúdez-Rattoni, 2000; Nerad et al., 1996). Asimismo, el establecimiento del CAS en ratas produce cambios plásticos en la Clp (Accolla et al., 2007). En conjunto estos datos demuestran el papel funcional de la Clp en la formación de la memoria gustativa aversiva.

Por otra parte, la Cla de ratones ha sido principalmente asociada con conductas apetitivas (Peng et al., 2015; Wang et al., 2018). Se sabe que, en ratones, la estimulación optogenética de la Cla es recompensante ya que produce preferencia de lugar (Peng et al., 2015). Asimismo, se ha vinculado con la toma de decisiones riesgosas y con adicción, tanto en ratas (Ishii et al., 2015, 2012; Mizoguchi et al., 2015) como en humanos (Preuschoff et al., 2008). Su inactivación disminuye la preferencia por la elección de una opción riesgosa en una tarea de apuesta (Ishii et al., 2015, 2012). Además, la Cla de rata codifica la omisión del reforzador y codifica la probabilidad de entrega de una recompensa (Jo and Jung, 2016). Por otra parte, se ha demostrado que la lesión de la

Cla no afecta la adquisición en una tarea de aprendizaje espacial ni la adquisición del CAS (Nerad et al., 1996).

A diferencia de la CI, la participación de la COF en la codificación de variables de decisión ha sido estudiada con mayor ahínco, aunque no necesariamente se ha llegado a un consenso en cuanto a su papel. Principalmente, la COF se ha involucrado con el procesamiento de la recompensa: su omisión (Feierstein et al., 2006; Jo and Jung, 2016), expectativa de su entrega (Tremblay and Schultz, 1999), la probabilidad de entrega (Jo and Jung, 2016), el valor subjetivo (Conen and Padoa-Schioppa, 2015), direccionalidad de un movimiento y elección (Feierstein et al., 2006; Hirokawa et al., 2017; MacDonald et al., 2009; Nogueira et al., 2017; Ramírez-Lugo et al., 2016). Además, utilizando registros simultáneos en la CI y la COF, se ha encontrado que las neuronas de estas estructuras disparan de manera oscilatoria y en fase con el lengüeteo en una tarea conductual guiada por estímulos discriminativos gustativos, sugiriendo que grandes porciones del sistema gustativo pueden sincronizar sus potenciales de acción usando la conducta rítmica de lengüeteo como un “reloj interno” para transferir información gustativa entre distintas regiones cerebrales (Gutierrez et al., 2010; Gutierrez and Simon, 2011).

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La intensidad del sabor dulce es un atributo sensorial que los animales pueden usar para predecir la cantidad de energía inmediata presente en los alimentos (Avena et al., 2008; Spector and Smith, 1984; Veldhuizen et al., 2017). La representación neural de la intensidad/concentración del sabor dulce se ha caracterizado por incrementos monotónicos en la tasa de disparo a lo largo del sistema gustativo: desde la periferia hasta la corteza gustativa primaria (Barretto et al., 2015; Rolls et al., 1990; Roussin et al., 2012; Scott et al., 1991; Thorpe et al., 1983; Villavicencio et al., 2018; Wu et al., 2015). Usualmente, estos experimentos se han llevado a cabo en animales que reciben de manera pasiva el estímulo sávido (Katz et al., 2002), o en animales cuya única decisión es si consumir o no la solución (Stapleton et al., 2006; Villavicencio et al., 2018). Sin embargo, la intensidad percibida de un estímulo sávido sólo puede medirse a través del reporte conductual que un sujeto emite de forma activa, lo cual involucra de forma necesaria un proceso de toma de decisión. Debido a la escasez de este tipo de tareas en roedores, los correlatos neuronales del percepto de la intensidad del sabor dulce en las cortezas gustativas primaria y secundaria se desconocen. Por otra parte, existe un gran número de reportes que atribuyen una participación importante de la COF en la codificación de variables de decisión, como lo puede ser la elección y la detección de una recompensa (Feierstein et al., 2006; Rolls, 2004; Schuck et al., 2018); mientras que la participación de CI en la codificación de este tipo de variables ha sido someramente abordada. La implementación de una tarea que nos permita obtener el reporte subjetivo de qué tan dulce le pareció al sujeto una solución mientras se registra la actividad unitaria sería provechoso para esclarecer estas incógnitas.

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general:

Estudiar el correlato neuronal de la representación de la intensidad/concentración de la sacarosa en la Clp, Cla y COF de la rata; así como determinar su participación en la codificación de variables de decisión.

6.2. Objetivos particulares:

- Estandarización de una tarea de discriminación y de generalización de intensidades de sacarosa.
- Registrar la actividad unitaria en la Clp, Cla o COF mientras los animales ejecutan una tarea de discriminación o generalización.
- Determinar los perfiles de modulación en las tres cortezas y su participación en la codificación de la intensidad de la sacarosa.
- Evaluar la participación de las tres cortezas en la codificación de variables de decisión como la elección, la direccionalidad y la detección de la omisión del reforzador.

7. HIPÓTESIS:

7.1. Hipótesis general:

La intensidad de la sacarosa y las variables de decisión que guían la conducta del sujeto en una tarea de discriminación de intensidad y su respectiva tarea de generalización, serán representadas de forma distribuida en las tres regiones corticales registradas Clp, Cla y COF.

8. MÉTODO

8.1. Sujetos

Se usaron 28 ratas macho de la cepa Sprague-Dawley, con un peso aproximado de 300-320 g al inicio del experimento. Los sujetos fueron alojados individualmente en una caja hogar y almacenados en un cuarto con temperatura controlada (22 ± 1 °C) y con un ciclo de luz-oscuridad 12:12-h (encendido de luces a las 0700 h y apagado a las 1900 h). Todos los experimentos fueron aprobados por el comité institucional del CINVESTAV para el cuidado y uso de animales (CICUAL 0034-13). Con la finalidad de mantener a los sujetos motivados durante los procedimientos conductuales (ver sección 8.3.1 y 8.3.2), se les privó de agua durante 23 horas. El acceso a alimento (PicoLab® Rodent Diet 20, St. Louis, MO, USA) fue *ad libitum* a lo largo de todos los procedimientos conductuales. Todos los experimentos se llevaron a cabo en el periodo de luz, entre 1400 y 1900 horas.

8.2. Materiales

8.2.1. Soluciones

Los estímulos gustativos fueron sacarosa grado reactivo (Sigma-Aldrich, Ciudad de México, México) disuelta en agua destilada para obtener las siguientes concentraciones: 3, 4.75, 7.5, 11.75 y 18 m/v%. Las soluciones fueron preparadas cada tercer día, mantenidas en refrigeración y utilizadas a temperatura ambiente.

8.2.2. Equipo conductual

Se usaron cuatro cajas de condicionamiento operante (Med Associates Inc, VT, USA) de dimensiones internas 30.5 x 24.1 x 21.0 cm. El panel frontal se encontraba equipado con tres puertos (uno central y dos laterales) equipados con sensores de fotoceldas (Med Associates Inc, VT, USA) para el registro de los lengüeteos. Cada puerto contaba con uno (para puertos laterales) o un haz de seis agujas de jeringa achatadas (calibre 20G) las cuales se encontraban insertas y pegadas a un sipper de acero inoxidable. Cada aguja fue conectada a una válvula solenoide (Parker, Ohio, USA) a través de una manguera de silicón. El volumen de la gota se calibró antes de iniciar la sesión y se mantuvo usando un sistema de presión de aire constante que estaba conectado de manera individual (Pérez et al 2013) (ver Figura 4). En el panel posterior se encontraba un amplificador de ruido blanco conectado a una bocina, la cual se mantenía encendida a lo largo de la sesión. Las cajas operantes se encontraban dentro de un cubículo atenuador de sonido que contaba con un sistema de ventilación. Los eventos

experimentales fueron controlados y registrados por una computadora a través de una interfaz de la marca Med Associates Inc, VT, USA.

8.3. Procedimiento

8.3.1. Tarea de discriminación de intensidades de sacarosa

Los sujetos fueron entrenados en una tarea de discriminación, en la cual se les enseñó a emitir una respuesta diferencial (derecha o izquierda) dependiendo del estímulo gustativo que hubiese recibido: una concentración baja (3 m/v%) o alta (18 m/v%) de sacarosa. La tarea estaba compuesta por cuatro épocas o periodos: Regreso, Estímulo, Respuesta y Consecuencia. El esquema de un ensayo se muestra en la Figura 5A. Un ensayo iniciaba cuando el sujeto se desplazaba de cualquiera de los puertos laterales hacia el puerto central; este periodo fue denominado Regreso. Una vez en el puerto central, los sujetos debían emitir un número variable de lengüeteos en seco (entre dos o tres) para recibir una gota de 10 μ L de sacarosa al 3 o al 18%. A esta pista gustativa le denominaremos Estímulo-D. Los sujetos podrían emitir lengüeteos adicionales en seco después de la entrega del Estímulo-D. Dichos lengüeteos adicionales suelen ser una medida de palatabilidad de las respuestas oromotoras producidas por la entrega de la sacarosa (Perez et al., 2013). El intervalo de tiempo transcurrido entre la entrega del Estímulo-D al último lengüeteo en el puerto central fue denominado periodo de Estímulo. Subsecuentemente, los sujetos debían desplazarse del puerto central al puerto lateral asociado con sacarosa Baja o Alta (periodo de Respuesta) y emitir un lengüeteo en seco. Si la respuesta era correcta, los siguientes tres lengüeteos eran recompensados con tres gotas de agua, mientras las respuestas incorrectas tenían como consecuencia el

apagado de las luces y los lengüeteos emitidos eran secos. El periodo de Consecuencia comprendía los lengüeteos dados en el puerto lateral. El criterio de aprendizaje fue establecido como el $\geq 80\%$ de respuestas correctas durante cuatro sesiones consecutivas.

8.3.2. Sesiones de generalización

Una vez alcanzado el criterio de aprendizaje se introdujeron las sesiones de generalización. Estas sesiones estaban compuestas de 80% de ensayos de discriminación y 20% de ensayos de generalización. En dichos ensayos se entrega una gota de 0, 3, 4.75, 7.5, 11.75 o 18% sacarosa y el sujeto debía reportar si la concentración era percibida como “Baja” o “Alta”. Independientemente del puerto lateral al que respondiera, el sujeto no recibía recompensa. Por lo demás, los ensayos de generalización eran idénticos a los de discriminación: estaban compuestos por los mismos periodos (Fig. 5C). Ambos tipos de sesiones fueron intercaladas de manera que a una sesión de generalización le precediera al menos una sesión de discriminación donde el sujeto tuviera $\geq 80\%$ respuestas correctas.

Dada la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre grupos registrados en las tres diferentes regiones cerebrales, los datos conductuales fueron concatenados y tratados como provenientes de un mismo grupo. Para las sesiones de discriminación, se obtuvo el porcentaje de respuestas correctas. Para determinar si la ejecución se veía afectada por la implantación del electrodo, el promedio de las cinco sesiones antes y

después de la cirugía fueron comparadas usando una prueba t de Student pareada. Para las sesiones de generalización, se obtuvo el porcentaje de respuestas al puerto asociado con la concentración alta de sacarosa y una función sigmoide fue ajustada a estos datos. De manera similar, el efecto de la cirugía (ver sección 8.4) sobre la sensibilidad para identificar las diferentes concentraciones de sacarosa fue evaluado comparando la ejecución promedio de estas sesiones antes y después de la cirugía mediante una t de Student pareada. Los tiempos de lengüeteo para cada una de las concentraciones durante las sesiones de generalización fueron concatenadas y comparadas mediante un ANOVA de una vía y un *post hoc* Dunnett confirmó las diferencias en comparación con la concentración Baja 3%. Asimismo, los tiempos transcurridos durante los desplazamientos a la izquierda o derecha en los periodos de Regreso y Respuesta, así como el tiempo de lengüeteo en el puerto lateral durante los ensayos recompensados y los no recompensados fueron concatenados y comparados usando una t de Student no pareada.

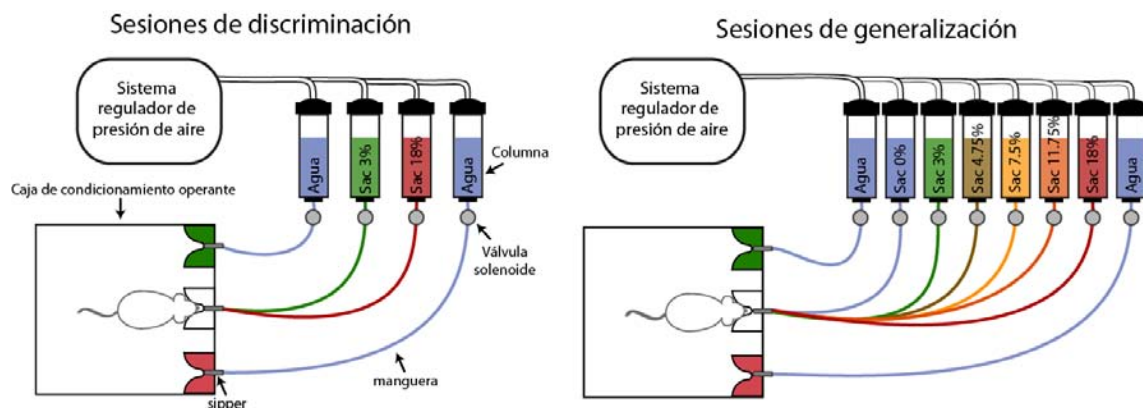


Figura 4. Configuración del sistema para entrega de soluciones. Las soluciones se entregan a través de un sipper o tubo de acero inoxidable el cual está conectado a una manguera de silicón; dicha manguera conecta el sipper con una válvula solenoide y esta última con una columna donde se encuentra la solución. El volumen dispensado es controlado por un sistema de regulación de la presión del aire que va conectado a las columnas y por el tiempo de apertura de las válvulas solenoides.

8.4. Cirugía

Una vez que los animales alcanzaron el criterio de aprendizaje y al menos tres sesiones de generalización fueron introducidas, se procedió a implantar un microarreglo de 16 electrodos de tungsteno (35 μm de diámetro) dispuestos en 4x4 (1 mm^2). El arreglo fue implantado en la Corteza Insular posterior (Cip, n=11), Insular anterior (Cla, n=8) y la Orbitofrontal (COF, n=9). Los sujetos fueron anestesiados con ketamina (70 mg/kg, i.p.) y xilacina (20 mg/kg, i.p.); posteriormente, fueron colocados en un aparato estereotáxico donde se les realizó una línea medial sagital con bisturí con la finalidad de exponer el cráneo y permitir la colocación de dos tornillos de soporte. Un tercer tornillo soldado a un cable de plata que fungía como tierra fue colocado a la altura del cerebelo (Gutierrez et al., 2010). Se realizó una craneotomía en el hemisferio izquierdo para implantar el arreglo de electrodos en uno de los siguientes sitios: Cip (AP: +1.0 a +1.4 mm, ML: +5.2 mm a partir de bregma, DV: -4.4 a -4.7 mm ventral a duramadre), Cla (AP: +1.6 a +2.3 mm, ML: +5.2 mm desde bregma, DV: -4.6 a -4.7 mm ventral a duramadre) o COF (AP: +3.5 mm, ML: +3.2 mm desde bregma; DV: -4.4 mm ventral a duramadre). Finalmente, se elaboró un casco con acrílico dental que se encontraba anclado a los tornillos de soporte. Los sujetos recibieron enrofloxacina (0.4ml/kg, i.p) y ketoprofeno (45mg/kg, i.p) durante los primeros tres días posteriores a la cirugía y se esperó una semana antes de iniciar los registros para que estuvieran recuperados.

8.5. Histología

Al completar los experimentos, los sujetos fueron anestesiados con una sobredosis de pentobarbital sódico (150 mg/kg, i.p) y fueron perfundidos transcárdicamente con PBS (1x) seguido de paraformaldehído al 4%. Los cerebros fueron removidos, almacenados durante un día en paraformaldehído al 4% y posteriormente en una solución de sacarosa/PBS 30 v/v%. Los cerebros fueron seccionados coronalmente en cortes de 40 μ m; estos cortes fueron teñidos con violeta de cresilo para permitir la visualización del trayecto de los electrodos.

8.6. Electrofisiología

La actividad neuronal fue registrada usando un sistema procesador de adquisición de multicanales (Plexon, Dallas, TX) en interfaz con una caja de condicionamiento operante que también permitió el registro de eventos conductuales de manera simultánea. Las señales de voltaje extracelular fueron amplificadas (x1) y estabilizadas por un headstage análogo (Plexon HST/16o25-GEN2- 18P-2GP-G1), posteriormente amplificado (x1000) y muestreado a 40 kHz. Se aplicó un filtro pasa banda de 154 Hz a 8.8 kHz a las señales crudas y fueron digitalizadas con una resolución de 12 bits. Sólo neuronas unitarias con potenciales de acción con una razón señal-ruido $\geq 3:1$ fueron analizadas (Gutierrez et al., 2010). Los potenciales de acción fueron detectados y separados en línea usando una ventana umbral tiempo-voltaje y un algoritmo de plantillas de tres componentes principales. Un grupo o clúster de ondas eran asignadas a la unidad (neurona) si cumplía con dos criterios: 1) Los intervalos entre espigas eran mayores que el periodo refractario

de 1 ms, y 2) formaba una nube de puntos elipsoide compuesta de proyecciones 3-D de los tres principales componentes. Las espigas fueron agrupadas usando el software Offline Sorter (Plexon, Dallas, TX) (Gutierrez et al., 2010). Sólo las espigas que pasaron estos filtros fueron analizadas.

9. Análisis de datos

El análisis de datos fue elaborado usando Matlab (The MathWorks Inc., Natick, MA) y Graphpad Prism (La Jolla, CA, USA). A menos que se indique lo contrario, se utilizó la media, el error estándar y un nivel α de 0.05. Los valores de algunos estadísticos vienen escritos en la sección de Resultados (sección 10); sin embargo, para mayor fluidez en la lectura del texto, la mayoría vienen descritos en la tabla de estadísticos (sección 14).

9.1. Perfiles de modulación

9.1.1. Respuestas evocadas por el Estímulo-D

En el periodo de Estímulo fueron identificadas cinco tipos de respuestas evocadas por la pista: Fásica, Tónica-Creciente, Tónica-Decreciente, Coherente con el lengüeteo Creciente o Decreciente (Fig. 8). Asimismo, se determinó el inicio y el fin de cada una de estas modulaciones significativas. Las proporciones de respuestas evocadas por la pista entre regiones fueron comparadas usando una prueba chi-cuadrada. Sólo los ensayos correctos fueron analizados. Cada respuesta evocada por la pista cumplió con un criterio que se explicará a continuación:

9.1.2. Respuestas fásicas

Se determinó como línea base la tasa de disparo de todos los ensayos durante los 0.3 s previos a la entrega del estímulo. Esta línea base se usó para detectar los siguientes tipos de respuestas evocadas por el estímulo. La línea base fue comparada contra la tasa de disparo de todos los ensayos a lo largo de los 0.6 s subsecuentes a la entrega del estímulo usando una prueba de rangos de Wilcoxon. Posteriormente, se usó una prueba de sumas acumuladas para identificar el inicio de las modulaciones (Gutierrez et al., 2006). Este análisis identifica el inicio y el fin de las modulaciones al detectar en cual bin de tiempo la tasa de disparo disminuyó o incrementó de manera significativa en comparación con la línea base. La respuesta neuronal era considerada fásica si una modulación excitatoria que inició en los primeros 0.1 s después de la entrega del Estímulo-D y la duración de esta modulación era mayor o igual a 0.02 s y menor o igual a 0.2 s.

9.1.3. Respuestas tónicas decrecientes o crecientes

Se utilizó un análisis de “mejor ventana”, el cual consistía en calcular la tasa de disparo de ventanas de diferentes tamaños (de 0.05 a 0.6 s en pasos de 0.05 s) y centradas en diferentes tiempos (de 0.05 a 0.5 s, en pasos de 0.05 s) que abarcaban sólo el intervalo de 0 a 0.6 s después de la entrega del Estímulo-D. Por lo tanto, cada ventana se estimaba como centro \pm (tamaño/2). La tasa de disparo en cada ventana fue comparada contra la línea base usando una prueba de suma de rangos de Wilcoxon. Entre todas las ventanas estadísticamente significativas se elegía aquella con la mayor diferencia en la tasa de

disparo con respecto a la línea base. Una modulación se consideraba tónica si la modulación era mayor o igual a 0.2s. Las modulaciones positivas se denominaban Crecientes, mientras las negativas como Decrecientes.

9.1.4. Respuestas coherentes con el lengüeteo decrecientes o crecientes

La actividad oscilatoria entre espigas y el lengüeteo rítmico (en un ancho de banda de 4 a 12 Hz) fue identificado usando un análisis espectral multi-taper (Jarvis and Mitra, 2001), segmentando en pedazos (*chunks*) el Histograma de Tiempo Periestímulo (PSTH, por sus siglas en inglés) alineado al primer lengüeteo en el puerto central (ver Gutierrez et al., 2010 para más detalles). Los intervalos de confianza y el umbral de significancia se determinaron usando un método de Jackknife (Jarvis and Mitra, 2001). Una neurona se clasificó como Coherente con el lengüeteo sólo si el intervalo de confianza inferior se encontraba por encima del umbral de significancia. Se utilizó el análisis de “mejor ventana” para el inicio y el fin de la respuesta evocada por el Estímulo-D. Si la tasa de disparo de la mejor ventana era mayor que la línea base se consideraba una respuesta coherente con lengüeteo Creciente, en caso contrario se denominaba Decreciente.

Asimismo, se calculó el valor de coherencia entre los lengüeteos y las espigas de estas neuronas en cada una de las cortezas registradas. Las diferencias entre estructuras se corroboraron mediante un ANOVA de una vía y un *post hoc* de Bonferroni confirmó cuáles estructuras eran significativamente diferentes. Finalmente, con la finalidad de determinar la importancia de la coherencia en la detección de estímulos gustativos, se

calculó la coherencia durante tres periodos de la tarea: pre-Estímulo, Estímulo y Consecuencia. Para calcular la coherencia de los dos primeros periodos sólo se incluyeron los lengüeteos que ocurrieron antes y después de la entrega de la sacarosa, respectivamente; para el último periodo, se incluyeron los lengüeteos laterales reforzados. Los valores de coherencia entre periodos se compararon usando un ANOVA de una vía y un *post hoc* de Bonferroni confirmó entre cuáles periodos se encontraban las diferencias.

9.1.5. Respuestas No moduladas y Coherentes no evocadas

Las respuestas neuronales que no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre la línea base y el periodo de Estímulo se les designó como No moduladas. Las neuronas coherentes con el lengüeteo que no tuvieron una modulación significativa se les denominó Coherentes no evocadas. En conjunto ambos grupos conformaron el grupo de neuronas No evocadas.

9.1.6. Neuronas selectivas a la intensidad

En el intervalo de tiempo de modulación significativa (“mejor ventana”) se calculó la tasa de disparo para los ensayos en los que se entregó sacarosa al 3% y 18%. Dichas tasas de disparo fueron comparadas usando una prueba de rangos de Wilcoxon. Las neuronas para las cuales se encontró algún intervalo con diferencias significativas se denominaron “Selectivas”, mientras las restantes fueron denominadas “No-selectivas”. Se usó una

prueba chi-cuadrada para determinar si hubo diferencias en la proporción de neuronas Selectivas en comparación con las No-selectivas intra y entre estructuras.

Finalmente, se determinó el impacto que las diferencias en el lengüeteo pudieran tener sobre la respuesta neuronal diferencial de estas neuronas en esta “mejor ventana.” De tal forma, se identificó a las neuronas selectivas a la intensidad en cuya ventana de modulación significativa hubiese diferencias en la tasa de lengüeteo y qué proporción de la “mejor ventana” cubrían dichas diferencias. Para esto primero se usó un análisis de Característica Operativa del Receptor (ROC, por sus siglas en inglés), el cual determinó qué tan diferentes fueron las distribuciones de las tasas de lengüeteo de los ensayos de “Baja” y “Alta” usando los primeros 0.6 s del periodo de Estímulo en bins de 0.1 s. El área bajo la curva ROC (ROC_{abc}) y sus intervalos de confianza fueron calculados para cada uno de los bins. Si el intervalo de confianza inferior de un bin específico se encontraba por encima de 0.5, entonces se le consideró como significativo. Sólo las neuronas selectivas con tasas de lengüeteo significativamente diferentes dentro de la “mejor ventana” fueron consideradas para calcular la proporción de la “mejor ventana” con diferencias en las tasas de lengüeteo.

9.1.7. Decodificador poblacional de la intensidad de la sacarosa

Para determinar si las neuronas selectivas a la intensidad contenían más información acerca de la intensidad de la sacarosa en comparación con las No-selectivas, se utilizó un decodificador de la población neuronal (Matlab toolbox versión 1.0 de The Neural

Decoding Toolbox, www.readout.info) (Meyers, 2013). Primero se computó un vector que contenía la etiqueta de la concentración de sacarosa dada (Baja o Alta) en cada ensayo y una matriz $m \times n$ que contenía el número de espigas que ocurrieron en cada ensayo (m) durante cada bin de tiempo de 20 ms (n). Esta matriz abarcaba las espigas ocurridas desde la entrega del Estímulo-D a los subsecuentes 0.6 s. Posteriormente, la matriz de la tasa de disparo fue normalizado a puntaje Z, y el conjunto de datos se dividieron un número de veces k . Subsecuentemente, $k-1$ conjuntos de datos se usaron para entrenar al clasificador. Se promedió la tasa de disparo de los ensayos “Baja” o “Alta”, generando un vector plantilla para “Baja” y otro para “Alta”, donde cada fila representaba la tasa de disparo en un bin de tiempo. El conjunto de datos restante se utilizó para probar el clasificador. El clasificador arrojaba como resultado un vector donde cada fila representaba el porcentaje de veces que predijo acertadamente (porcentaje de decodificación correcta) si el estímulo entregado fue sacarosa “Baja” o “Alta” durante cada bin de tiempo. Para mejorar el desempeño del clasificador este procedimiento se repitió k veces usando un conjunto de datos diferente cada vez, de manera que todos los k conjuntos se utilizaron como conjunto de prueba. El promedio de los resultados de estas k pruebas fue reportado como el porcentaje de decodificación correcta. Este desempeño se calculó para las poblaciones No-evocadas, “Todas”, No-selectivas, Selectivas. Se usó un ANOVA de una vía para determinar si hubo diferencias significativas, y un *post hoc* de Bonferroni confirmó diferencias específicas entre las poblaciones. Asimismo, para determinar si el tiempo de ocurrencia de las espigas contenía información acerca de la intensidad de sacarosa recibida, se mantuvo la tasa de disparo original de cada ensayo, pero se barajearon los tiempos en que cada espiga

ocurrió. Una *t* de Student pareada se empleó para determinar si ocurría un cambio significativo tras cambiar los tiempos de ocurrencia de las espigas.

Por otra parte, es importante considerar que el barajeo de los tiempos de las espigas puede alterar la covariación entre la actividad de pares de neuronas registradas simultáneamente; dicha covariación se le denomina correlación de ruido (r_{sc}), y se ha reportado que puede afectar la codificación de información. Por lo tanto, se determinó el impacto que puede tener el remover la correlación de ruido sobre la exactitud de decodificación de la intensidad de sacarosa. Para eso se identificaron los pares de neuronas registradas de manera simultánea obtenidas de diferentes canales (Cohen and Kohn, 2011) y se normalizó la tasa de disparo de cada neurona (A o B) de acuerdo con el tipo de ensayo (Baja o Alta), conforme con la siguiente ecuación:

$$\frac{TR_{ken} - \langle TR_{en} \rangle}{\sigma_{en}}$$

donde TR es la tasa de disparo, *k* indica el número de ensayo, *e* se refiere al estímulo evaluado (“Baja” o “Alta”), y *n* es la neurona evaluada (Neurona A o Neurona B). La tasa de disparo normalizada para los ensayos de “Baja” y “Alta” son concatenados, generando un sólo vector; lo mismo se hizo para la Neurona B. A partir de estos vectores se obtiene r_{sc} ; si r_{sc} fue significativo (Fig. 13A, panel superior), entonces se realizó una prueba de permutación en la cual la posición de los ensayos de la Neurona A y B se barajearon de manera independiente con la finalidad de eliminar la correlación de ruido (Fig. 13A, panel inferior). El procedimiento fue repetido 10, 000 veces. Un valor de *p* corregido se obtuvo

usando la siguiente fórmula: $p = (k+1) / (n+1)$, donde k es el número de veces en el que la p obtenida de los ensayos barajados fue menor que la obtenida de los ensayos no barajados, y n es el número de repeticiones del procedimiento. Si el valor de p corregido también fue significativo, entonces a ese par de neuronas se le consideró significativamente correlacionadas. Esto se realizó para diferentes ventanas de tiempo desde 0.1 hasta 0.6 s después de la entrega del Estímulo-D, en pasos de 0.1 s. Dado que los valores de correlación de ruido fueron similares para las diferentes ventanas de tiempo (Figura 13B), decidimos utilizar la ventana de 0.6 s para el siguiente análisis ya que ofrecía tasas de disparo entre ensayos más estables. Subsecuentemente, se barajaron las posiciones de los ensayos de aquellas neuronas que hubiesen estado correlacionadas con al menos una neurona; estas matrices con ensayos barajados (más las matrices de los ensayos no barajados de las neuronas no correlacionadas de las poblaciones No-evocada, Todas, No-selectiva, y Selectivas) fueron proporcionadas al clasificador. La diferencia en la exactitud de decodificación del clasificador antes y después de eliminar la correlación de ruido entre pares de neuronas fue evaluada mediante una t de Student no pareada.

Con la finalidad de explorar la contribución de cada población de neuronas moduladas, se llevó a cabo un análisis de inclusión y otro de exclusión, en los cuales se incluía o se excluía sólo un grupo neuronal a la vez (Villavicencio et al., 2018). Para estos análisis, dos poblaciones más fueron añadidas: Todas-tónicas (Tónicas-Decrecientes + Tónicas-Crecientes) y Todas-coherentes (Coherentes-Decrecientes + Coherentes-Crecientes). El porcentaje de decodificación correcta para las neuronas No-evocadas, “Todas”, Fásicas,

Tónicas-Decrecientes, Tónicas-Crecientes, Coherentes-Decrecientes, Coherentes-Crecientes, Todas-Tónicas y Todas-Coherentes fueron computadas para el análisis de inclusión. Se utilizó un ANOVA de una vía para detectar diferencias entre los grupos y un *post hoc* de Dunnett para comparar cada grupo neuronal (exceptuando al Fásico) con el grupo de neuronas No-evocadas. Los primeros 0.2 s del desempeño del clasificador usando la información de las neuronas Fásicas se compararon contra las neuronas “No-evocadas”. Por otra parte, para el análisis de exclusión no se incluyó al grupo de “No-evocadas”, y el porcentaje de exactitud obtenido por “Toda” la población fue usado como grupo control en el *post hoc* de Dunnett. Asimismo, la población “Fásica” fue comparada con la población “Todas” mediante una prueba t de Student no pareada.

9.2. Perfil de codificación

9.2.1. Neuronas sensoriales

En la población de neuronas selectivas a la intensidad registradas durante las sesiones de generalización, se buscó la “Mejor ventana” donde hubiera una respuesta monotónica creciente o decreciente durante los primeros 0.6 s después de la entrega del Estímulo-G. Para esto, se calcularon las tasas de disparo para cada una de las concentraciones (0, 3, 4.75, 7.5, 11.75 y 18%) usando diferentes centros y tamaños de ventana. Para cada ventana se obtuvo el coeficiente de correlación de Pearson a partir de las tasas de disparo por concentración y las concentraciones entregadas. Se identificó la ventana con la correlación significativa más alta y a esta se le realizó una prueba de permutación en la cual las etiquetas de las intensidades fueron barajeadas y se volvió a calcular el valor de *p*-permutado. Este procedimiento se repitió 10,000 veces. Un valor de *p* corregido se

obtuvo a partir de: $p = (k+1) / (n+1)$, donde k es el número de veces que el valor del p -permutado fue menor que el valor del p original, y n es el número de veces que se repitió el procedimiento. El coeficiente de correlación fue obtenido para cada neurona que resultó tener una ventana significativa y fue promediado para cada población: con actividad creciente o decreciente en función de la concentración. La actividad de cada población fue normalizada a la respuesta neuronal obtenida tras la entrega de sacarosa al 3%.

9.2.2. Neuronas de decisión

Se identificaron “mejores ventanas de decisión” donde la tasa de disparo clasificara los ensayos como Sacarosa “Baja” o “Alta” con la mayor exactitud, siguiendo la respuesta conductual emitida por el sujeto. Una aproximación similar ha sido utilizada para explorar el sistema somatosensorial en primates no humanos (de Lafuente and Romo, 2005). El análisis se restringió a neuronas registradas durante las sesiones de generalización durante dos intervalos: (1) De 0 a 0.6 s a partir de la entrega del Estímulo, y (2) de 0.4 s antes a 0.8 s después del último lengüeteo en el puerto central, abarcando parte de los periodos de Estímulo y Respuesta. Estos intervalos fueron seleccionados para explorar si las neuronas codificaban la decisión del sujeto antes de abandonar el puerto central (periodo de Estímulo) y/o durante el periodo de Respuesta. Primero se obtuvieron matrices de tasas de disparos usando un tamaño de ventana fijo de 0.2 s y centros de ventana que incrementaran en pasos de 0.1 s. Dichas matrices ($m \times n$) se obtuvieron para los ensayos de “Baja” (0, 3, 4.75%) y “Alta” (7.5, 11.75, 18%), donde m representa a cada ensayo y n cada bin (0.2 s) de tiempo para el intervalo de ventana. Un análisis de

ROC fue usado para obtener el índice de ROC (área bajo la curva ROC, ROC_{abc}) y sus intervalos de confianza, de acuerdo con los métodos descritos por de Lafuente and Romo (2005). Una neurona discriminaba significativamente entre ensayos “Baja” y “Alta” si el intervalo de confianza inferior de al menos 5 bins consecutivos eran mayores a 0.5; si dicho criterio era cumplido, entonces se procedía a obtener la “mejor ventana” donde una tasa de disparo dada clasificara un ensayo como perteneciente a la categoría “Baja” o “Alta” con la mayor exactitud. Para alcanzar este objetivo, la matriz de la tasa de disparo de las diferentes ventanas se comparaba contra diferentes tasas de disparo que abarcaran desde la mínima hasta la máxima actividad encontrada en la matriz. Aquellas neuronas con mayor actividad durante los ensayos de “Alta” fueron denominadas “Preferentes-Alta”; los ensayos “Alta” en los cuales la tasa de disparo era mayor que la tasa de disparo criterio fueron considerados “Aciertos Alta”, mientras que los ensayos “Baja” con tasa de disparo menor al criterio se les consideró “Aciertos Baja”. En el caso de las neuronas “Preferentes-Baja”, los aciertos “Baja” y “Alta” fueron considerados como ensayos en los cuales la tasa de disparo se encontraba por arriba o por debajo del criterio, respectivamente. Ambos tipos de aciertos eran sumados y divididos entre el número total de ensayos y convertidos a porcentaje de respuestas correctas:

$$\% \text{ Respuestas correctas de la neurona} = \frac{\text{Aciertos Baja} + \text{Aciertos Alta}}{\text{Número de ensayos}} \times 100$$

Si la ejecución neurométrica era mayor o igual al 70% de respuestas correctas, entonces se le consideraba una neurona de Elección. Este criterio fue seleccionado dado a que corresponde a la ejecución conductual lograda por los sujetos durante las sesiones de generalización (Fig. 16A). El porcentaje de respuestas correctas de todas las neuronas fue promediado y a estos datos se les ajustó una función sigmoïdal para obtener la curva

neurométrica. Finalmente, la media y el intervalo de confianza de las pendientes de las curvas psicométricas y neurométricas fueron obtenidas. Se consideró que la similitud de las curvas psicométrica y neurométrica era significativa si los intervalos de confianza de sus pendientes se sobrelapaban.

9.2.3. Neuronas selectivas a la dirección

Durante las sesiones los sujetos debían dirigirse del puerto central al lateral (periodo de Respuesta) y del lateral al central (periodo de Regreso) para emitir una respuesta e iniciar un nuevo ensayo (Fig. 5A). Una neurona de Dirección tendría mayor actividad cuando el sujeto se desplazase en una dirección (izquierda) durante ambos periodos de movimiento, mientras que al moverse en la dirección contraria la neurona estaría menos activa o no activa en comparación con una línea base. Un análisis ROC (Green and Swets, 1966) fue usado para detectar respuestas diferenciales durante los ensayos en que el sujeto fue a la izquierda y derecha, de 0 a 0.7 s al inicio del periodo de Respuesta y el de Regreso. Entonces, el área bajo la curva ROC (ROC_{abc}) fue obtenida y escalada calculando un índice de preferencia: $P_{index} = 2(ROC - 0.5)$ (Feierstein et al., 2006), el cual provee un valor entre -1 (Preferente-Izquierda) y 1 (Preferente-Derecha), donde 0 indica ausencia de preferencia. Si la neurona tenía preferencia por algún lado, se llevaba a cabo una prueba de permutación donde las etiquetas izquierda/derecha fueron barajeadas utilizando muestreo sin reemplazo. Este procedimiento se repitió 10,000 veces. Un valor de p corregida se obtuvo usando la siguiente fórmula: $p = (k+1) / (n+1)$, donde k es el número de veces que el valor ROC_{abc} permutado fue mayor que el valor ROC_{abc} original, y n es el número de repeticiones. Si el valor de p era significativo, el

mismo análisis era llevado a cabo en el periodo de Regreso. Todos los ensayos fueron incluidos en este análisis, dado que para las neuronas de Dirección no importa si el ensayo fue correcto o no, sino la dirección del movimiento. La actividad poblacional fue normalizada usando como línea base la actividad ocurrida 0.3 s antes de la salida del puerto central y lateral para los periodos de Respuesta y Regreso, respectivamente. Una prueba chi cuadrada se usó para determinar diferencias en la proporción de neuronas preferentes a la Dirección Derecha o Izquierda.

9.2.4. Neuronas que codifican la omisión de la recompensa

Las neuronas moduladas por la omisión de la recompensa (agua) fueron identificadas usando el mismo análisis ROC descrito en la sección de Neuronas selectivas a la Dirección (sección 9.2.3), con la excepción de que el análisis fue restringido al periodo de Consecuencia: de 0 a 0.6s a partir del segundo lengüeteo en el puerto lateral. La tasa de disparo de los ensayos recompensados (ensayos de discriminación correctos) y no recompensados (ensayos de discriminación incorrectos y de generalización) fueron obtenidos para calcular el ROC_{abc} . La población que mostró una tasa de disparo mayor para los ensayos omitidos fue denominada “Activa” (P_{index} positivo), mientras que aquella con tasa de disparo menor en este tipo de ensayos fue designada “Inactiva” (P_{index} negativo). Además, la tasa de disparo para cada tipo de ensayo (recompensado/no recompensado) fue calculado y graficado con la finalidad de permitir la visualización de posibles diferencias oromotoras. La actividad poblacional fue normalizada a puntaje Z usando la tasa de disparo durante el periodo pre-Estímulo (-0.3 a 0 s) como línea base.

9.2.5. Codificación poblacional de la omisión de la recompensa

La exactitud para predecir la presencia o ausencia de la recompensa fue evaluada al proveer al clasificador neuronal (ver sección 9.1.7) con las espigas y los lengüeteos ocurridos entre -0.2 a 0.6 s alrededor del segundo lengüeteo lateral. Un análisis de ROC fue utilizado para detectar intervalos donde, al usar la tasa de lengüeteo y de disparo, la ejecución del clasificador fuera significativamente diferente: el intervalo de confianza inferior era mayor a 0.5 durante cinco bins (0.2 s) consecutivos.

9.2.6. Sobrelape entre los perfiles de codificación poblacional

Dado que los perfiles de codificación de las neuronas fueron identificados en diferentes periodos de la tarea era posible que una neurona codificara más de una variable. Por lo tanto, se evaluó la existencia de sobrelape significativo entre perfiles de codificación (Villavicencio et al., 2018). De tal forma, se elaboró una matriz de contingencia que contuviera el número de neuronas que sólo codificaran la variable A, sólo la B, A y B, no A y no B. Esto se realizó para todos los posibles pares de combinación de variables. Una prueba exacta de Fisher fue aplicada a las matrices para detectar sobrelapes significativos. Para garantizar que los datos fueran obtenidos de una misma distribución en el análisis sólo se incluyeron las neuronas registradas en las sesiones de generalización.

9.2.7. Sobrelape entre los perfiles de codificación y los de modulación

Asimismo, se buscó identificar si algún subconjunto del perfil de modulación codificaba de manera preferencial alguna variable. Se realizó el mismo análisis descrito en Sobrelape entre los perfiles de codificación poblacional (sección 9.2.6).

10. RESULTADOS

10.1. Conducta

Veintiocho ratas fueron entrenadas en una tarea de discriminación de intensidad de sacarosa. La estructura de un ensayo se muestra en la Figura 5A. Los sujetos entrenados iniciaban un ensayo al visitar el puerto central (periodo Regreso). La emisión de dos a tres lengüeteos en seco en el puerto central provocaba la entrega de una gota de 10 μ L de sacarosa al 3 (Baja) o 18 (Alta)% (designada como Estímulo-D; periodo Estímulo). Posteriormente, el sujeto debía desplazarse a uno de los puertos laterales (periodo Respuesta): el derecho si la sacarosa era “Baja” y el izquierdo si era “Alta”. Dicha condición fue contrabalanceada entre sujetos. El primer lengüeteo en el puerto lateral era seco. Tras una respuesta correcta, los siguientes tres lengüeteos eran reforzados con una gota de 10 μ L de agua cada uno; las respuestas incorrectas no fueron reforzadas. Los lengüeteos emitidos en el puerto lateral abarcaban el periodo de Consecuencia. Los sujetos alcanzaron el criterio de aprendizaje (≥ 80 % respuestas correctas) en aproximadamente 25 sesiones y, posteriormente, ingresaron a sesiones de generalización (Fig. 5C). Dicha sesión consistió en un 80% de ensayos de discriminación y el restante de ensayos de generalización, donde los sujetos clasificaban la sacarosa al 0, 3, 4.75, 7.5, 11.75, o 18% (Estímulo-G), como “Baja” o “Alta”. En este tipo de ensayos

no se entregó reforzador (Omisión de la recompensa) para evitar la imposición de un umbral arbitrario de Bajo/Alto que pudiera promover un sesgo en el reporte perceptual del dulzor de la sacarosa. En los ensayos de generalización el porcentaje de respuestas a “Alta” incrementó en función de la concentración (Fig. 5B), lo cual demuestra que los sujetos usan la intensidad de la sacarosa para resolver la tarea. La implantación del arreglo de electrodos no afectó la ejecución de la tarea de discriminación (t pareada, antes vs. después de la cirugía; $t_{(27)} = 0.95$, n.s.; Fig. 5B), ni los juicios perceptuales basados en la intensidad de la sacarosa ($t_{(7)} = 1.43$, n.s; Fig. 5D). En conjunto estos datos demuestran que las ratas, usando estimulación sensorial con solamente una gota de 10 μL , pueden tomar decisiones perceptuales con gran exactitud basándose en la concentración de sacarosa percibida.

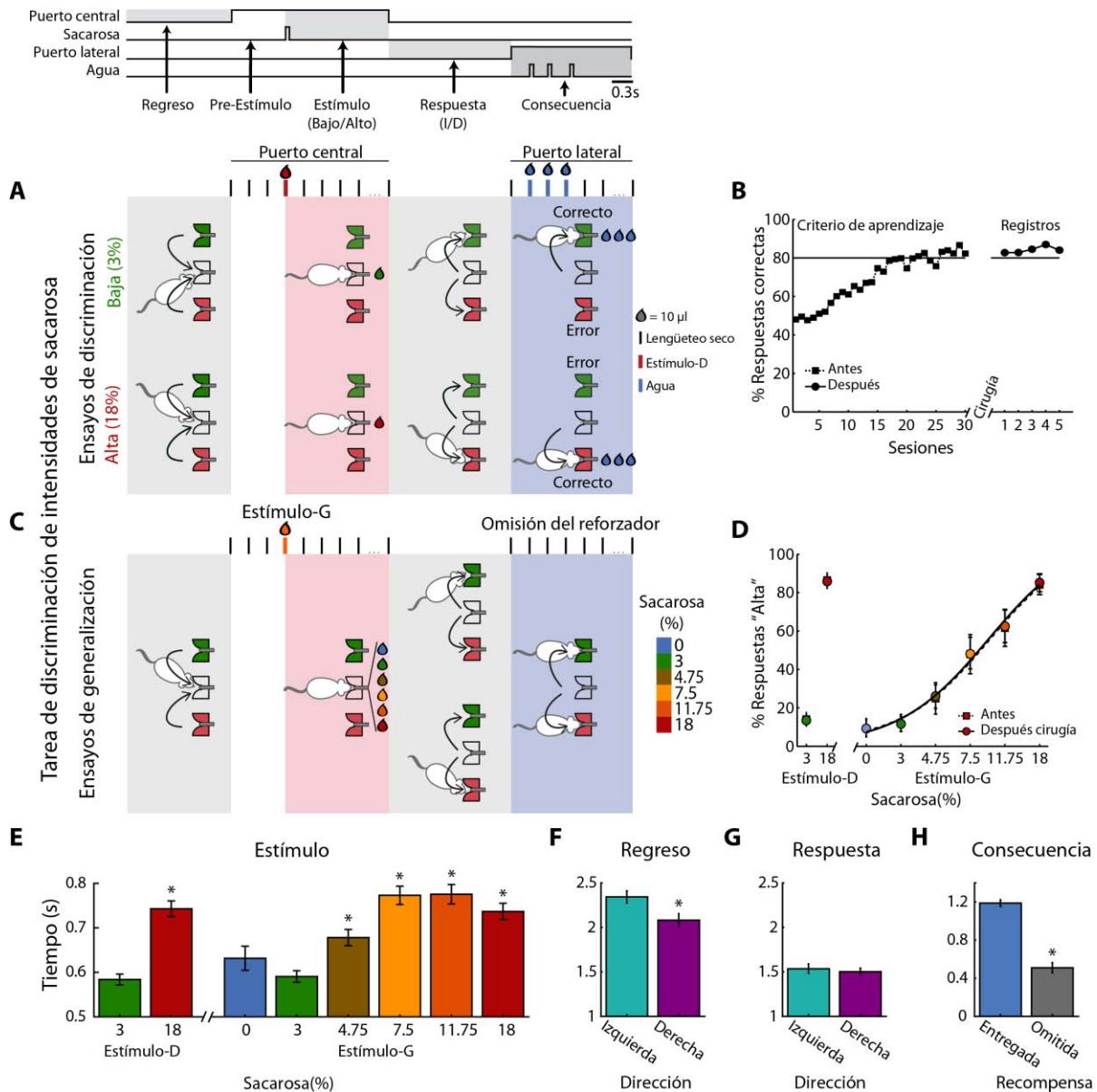


Figura 5. Reporte conductual de la intensidad de la sacarosa en una tarea de discriminación. A. Estructura de un ensayo de discriminación. El sujeto inicia el ensayo al desplazarse al puerto central (periodo de Regreso) y debe emitir de dos a tres lengüeteos en seco (periodo pre-Estímulo) para recibir el Estímulo-D: una gota de 10 μ L de sacarosa al 3% (Baja) o al 18% (Alta). Los lengüeteos emitidos desde la entrega de la pista hasta la salida del puerto central comprenden el periodo de Estímulo. Subsecuentemente, el sujeto se desplaza del puerto central al lateral (periodo de Respuesta) y emite un lengüeteo en seco en este último. Si la respuesta fue correcta, el sujeto recibirá 3 gotas de agua. El tiempo de lengüeteo en el puerto lateral comprende el periodo de Consecuencia. **B.** Ejecución en la tarea de discriminación antes (cuadrados) y después (círculos) de la implantación de los electrodos. **C.** Estructura de un ensayo de generalización. Las acotaciones son las mismas que en **A**, con la excepción de que se entrega una pista denominada Estímulo-G (0, 3, 4.75, 7.5, 11.75 o 18%) y que ninguna respuesta es reforzada. **D.** Porcentaje de respuestas al puerto asociado con la concentración de sacarosa "Alta" (18%), antes (cuadrados) y después (círculos) de la cirugía. **E.** Tiempo que tardan los sujetos en detener el lengüeteo en el puerto central tras la entrega de los Estímulos-D y -G. **F-G.** Tiempos de desplazamiento hacia los puertos durante los periodos de Regreso y de Respuesta, respectivamente. **H.** Latencia en detener el lengüeteo tras la entrega u omisión de la recompensa.

Medidas conductuales de palatabilidad (Perez et al., 2013; Spector et al., 1998), revelaron que la latencia para dejar de lengüetear después de la entrega del Estímulo-D “Alto” (18%) era mayor (0.74 ± 0.02 s) que para el “Bajo” (3%) (0.58 ± 0.01 s; $p < 0.0001$). Resultados similares fueron obtenidos en las sesiones de generalización: los sujetos mostraron mayores latencias para dejar de lengüetear cuando recibieron Estímulos-G \geq 4.75% en comparación con el Estímulo-D “Bajo” (ANOVA de 1 vía: $F_{(7,1360)} = 17.10$; $p < 0.0001$; *post hoc* de Dunnett; Fig. 5E). Sin embargo, la latencia para dejar de lengüetear cuando se entregaron las concentraciones de 7.5, 11.75 y 18% no fueron estadísticamente diferentes entre sí: el incremento en la latencia no aumentó en función de la concentración (Fig. 5E).

En el periodo de Regreso (movimientos del puerto lateral al central), los movimientos hacia la derecha fueron más rápidos que los dados hacia la izquierda ($t_{(892)} = 2.65$, <0.01 ; Fig. 5F). En cambio, no se detectaron diferencias significativas en movimientos hacia la izquierda o derecha durante el periodo de Respuesta ($t_{(892)} = 0.49$, n.s; Fig. 5G) y, por tanto, estos movimientos fueron independientes de la concentración de sacarosa. Por otra parte, los sujetos se desplazaron significativamente más rápido en el periodo de Respuesta en comparación con el de Regreso, quizás como resultado de una mayor motivación por ir a cobrar la recompensa. Finalmente, en el periodo de Consecuencia, los sujetos detectaron rápidamente la omisión de la recompensa (ensayos de generalización y ensayos de discriminación con respuestas incorrectas): lengüetearon durante más tiempo cuando el agua era entregada que cuando era omitida ($t_{(892)} = 10.66$, <0.0001 ; Fig. 5H).

10.2. Electrofisiología

Un total de 1348, 1169 y 1010 unidades fueron registradas, de las cuales 480, 403 y 337, fueron registradas durante sesiones de generalización en la Clp, Cla y COF, respectivamente (Fig. 6A). La ubicación de los sitios de implantación puede ser vista en la Figura 6B.

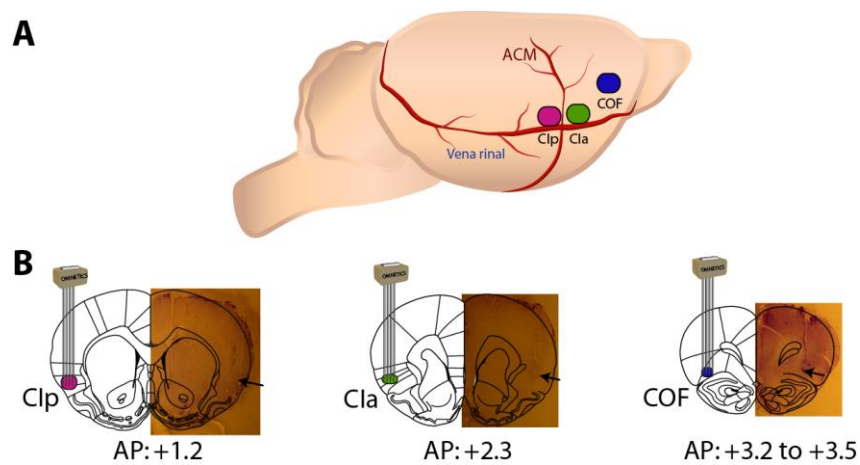


Figura 6. Sitios de los registros extracelulares. **A.** Esquema de una vista sagital del cerebro señalando la ubicación de la Corteza Orbitofrontal (azul), y de las porciones anterior (verde) y posterior (rosa) de la Corteza Insular. Estas últimas dos estarían separadas por la arteria cerebral media (ACM) y se encontrarían dorsal con respecto a la vena rinal. **B.** Secciones coronales teñidas con la técnica de Nissl muestran el tracto del arreglo de 16 electrodos (4x4, 1 mm²). La flecha señala dónde llegaron las puntas de los electrodos.

10.3. Perfiles de modulación de los ensayos de discriminación (Estímulo-D)

El patrón de activación temporal de las respuestas neuronales en la Clp, Cla, y COF fue clasificado de acuerdo con la presencia de una respuesta evocada (Evocada o No-evocada) y el perfil de modulación (Fásica, Tónica o Coherente; ver Tabla 1). La mayoría de las neuronas registradas tuvieron una respuesta evocada estadísticamente significativa: 90.6% (1221/1348), 97.4% (1139/1169) y 92.8% (937/1010) para Clp, Cla y COF, respectivamente. Mientras las neuronas No-evocadas conformaron un 9.4%

(127/1348), 2.6% (30/1169) y 7.2% (73/1010), de la población de la Clp, Cla y COF, respectivamente. Las respuestas evocadas fueron posteriormente clasificadas de acuerdo con cinco perfiles característicos de modulación: Fásico, Tónico-decreciente (Dec), Tónico-creciente (Crec), Coherente-decreciente (Coh-dec) y Coherente-creciente (Coh-Crec) (Tabla 1).

Tabla 1. Neuronas Evocadas y No-evocadas

Estructura	Respuestas evocadas por el Estímulo-D					No-evocadas	
	Fásica	Tón-dec	Tón-crec	Coh-dec	Coh-crec	No-Mod	Coh Non-evo
Clp (n=1348)	75 (5.6)	217 (16.1)	193 (14.3)	414(30.7)	322 (23.9)	53(3.9)	74(5.5)
Cla (n=1169)	67 (5.7)	202 (17.3)	192 (16.4)	317 (27.2)	361 (30.9)*	7(0.6)*	23(2)*
COF (n=1010)	27 (2.7)*#	386 (38.2)*#	265 (26.2)*#	169 (16.7)*#	90 (8.9)*#	62(6.1)*#	11(1.1)*

Número de neuronas responsivas al Estímulo-D (%). Letras en negritas indican diferencias significativas en comparación con Clp (*) o Cla (#). Nivel de alfa 0.05.

La Figura 7 muestra las gráficas tipo ráster y su correspondiente PSTH (alineados a la entrega del Estímulo-D) de ejemplos representativos de neuronas con Respuesta-evocada.

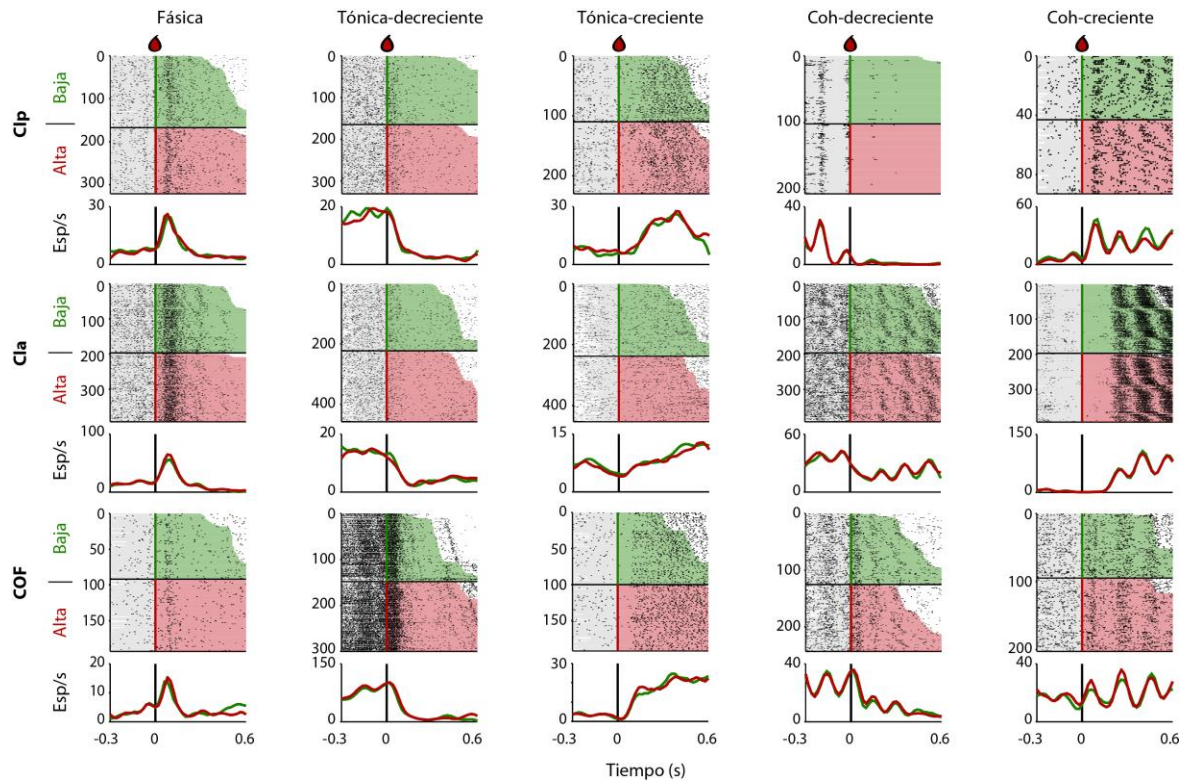


Figura 7. Ejemplos representativos de neuronas responsivas no selectivas de la Clp, Cla y COF. Gráficas tipo ráster de neuronas que muestran respuestas fásicas, tónicas-decrecientes, tónicas-crecientes, coherentes-decrecientes o coherentes-crecientes, de izquierda a derecha. Cada marca negra representa un potencial de acción ocurrido alrededor de -0.3 hasta +0.6 s a partir de la entrega del Estímulo-D. Los tiempos de lengüeteos emitidos antes del Estímulo-D están indicados con sombreado gris. El sombreado verde y rojo indican los lengüeteos emitidos tras la entrega de sacarosa “Baja” y “Alta”, respectivamente. Debajo de cada gráfica tipo ráster se muestra su PSTH: la tasa de disparo de esa neurona durante los ensayos “Baja” (verde) y “Alta” (rojo).

De acuerdo con estudios previos (de Araujo et al., 2006; Gutierrez et al., 2010), se encontró que la Clp (60.3%) y Cla (59.5%) tuvieron una mayor proporción de respuestas oscilatorias inducidas por el lengüeteo (decrecientes o crecientes) en comparación con la COF (27.6%) (Tabla 2; Fig. 8).

Tabla 2. Respuestas evocadas: No-selectivas e Intensidad-selectivas

Estructura	Respuestas evocadas por el Estímulo-D											
	Fásica		Tón-dec		Tón-crec		Coh-dec		Coh-crec		Total	
	No sel	Int sel	No sel	Int sel	No sel	Int sel	No sel	Int sel	No sel	Int sel	No sel	Int sel
Clp (n=1348)	55 (4.1)	20 (1.5)	198 (14.7)	19 (1.4)	171 (12.7)	22 (1.6)	325 (24)	89 (6.6)	272 (20.2)	50 (3.7)	1021 (75.7)	200 (14.8)
Cla (n=1169)	55 (4.7)	12 (1)	183 (15.7)	19 (1.6)	155 (13.3)	37 (3.2)*	254 (21.6)	63 (5.4)	283 (24.2)	78 (6.7)*	930 (79.6)	209 (17.9)
COF (n=1010)	21 (2.1)#	6 (0.6)*	336 (33.3)#	50 (5)#	204 (20.2)#	61 (6)#	124 (12.3)#	45 (4.5)*	65 (6.4)#	25 (2.5)#	750 (74.2)	187 (18.5)*

Número de neuronas No selectivas e Intensidad-selectivas (%). Los números en negritas indican diferencias significativas Clp (*) o Cla (#). Nivel de alfa en 0.05.

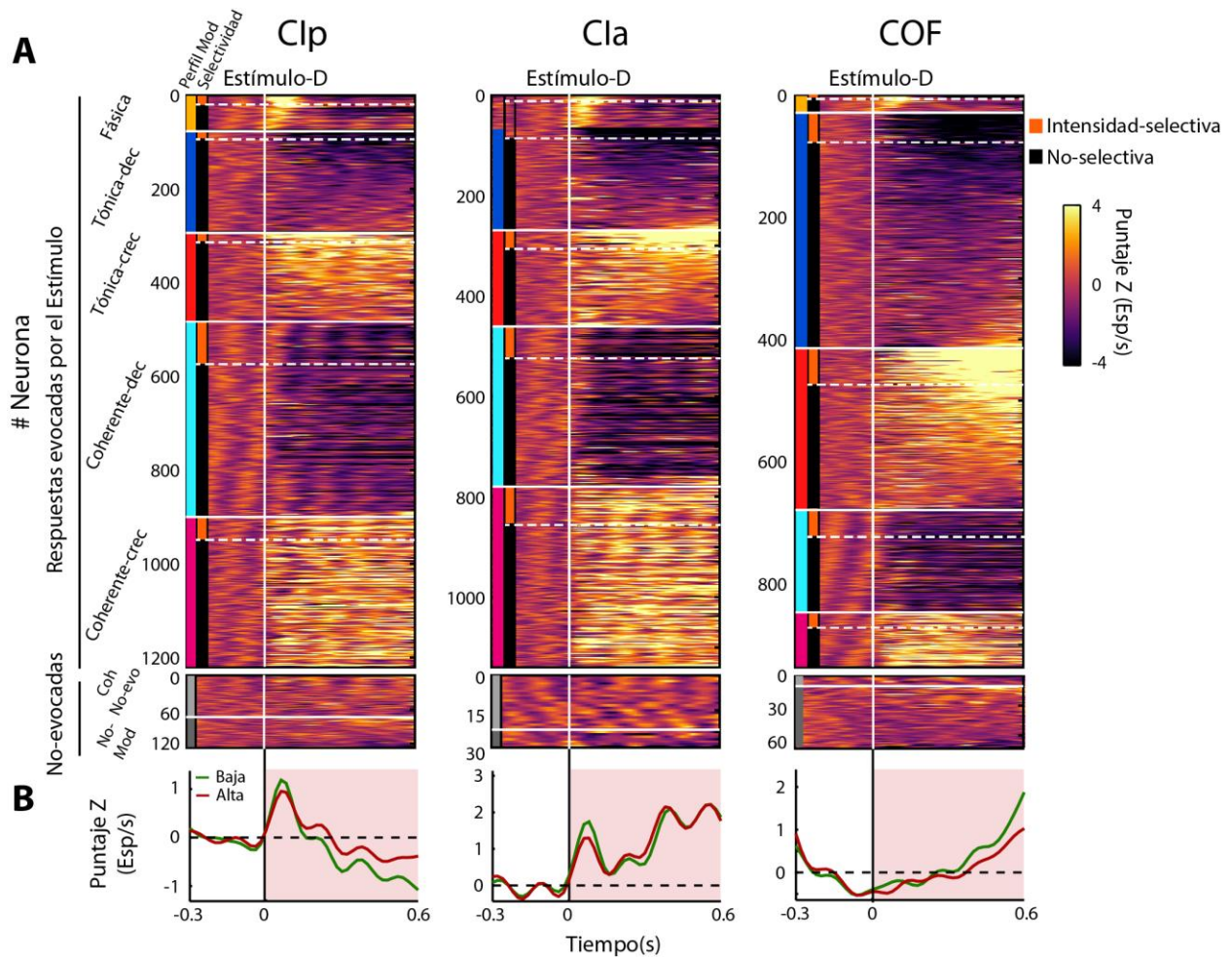


Figura 8. Perfiles de modulación de todas las neuronas registradas en la Clp (n = 1348), Cla (n = 1169), y COF (n= 1010) tras la entrega de una gota de 10 μ L de sacarosa. A. Panel superior: Histograma periestímulo en código de color de los cinco tipos de respuestas evocadas encontradas en la Clp, Cla, y COF. Los tipos de respuestas están agrupadas y organizadas de la siguiente manera: Fásica (línea vertical amarilla en el borde izquierdo), Tónica-decreciente (azul), Tónica-creciente (rojo), Coherente-decreciente (cyan) y Coherente-creciente (magenta). Cada fila representa la tasa de disparo normalizada de una neurona alineada a la entrega del Estímulo-D. Panel inferior: PSTH en código de color para las neuronas con respuestas Coherentes no evocadas (gris claro) y no moduladas (gris oscuro). **B.** Actividad poblacional promediada durante los ensayos “Baja” (verde) y “Alta” (rojo).

De hecho, se encontró que la coherencia entre espigas y lengüeteos en la COF (0.24 ± 0.005) era significativamente menor que en la Clp (0.26 ± 0.003) y la Cla (0.26 ± 0.003) ($F_{(2, 1672)} = 3.77$; $p = 0.02$) (Fig. 9A). Por lo tanto, la Clp y la Cla no sólo tuvieron una mayor proporción de neuronas coherentes con el lengüeteo que la COF, sino que

también las neuronas de la CI estaban mejor sincronizadas con el lengüeteo rítmico. Además, en las tres regiones se encontró que el nivel de coherencia era significativamente mayor en el periodo de Estímulo en comparación con los periodos de pre-Estímulo y Consecuencia (ANOVA de 1 vía, $p < 0.0001$), lo cual sugiere que la coherencia entre espigas y lengüeteo refleja más que respuestas oromotoras.

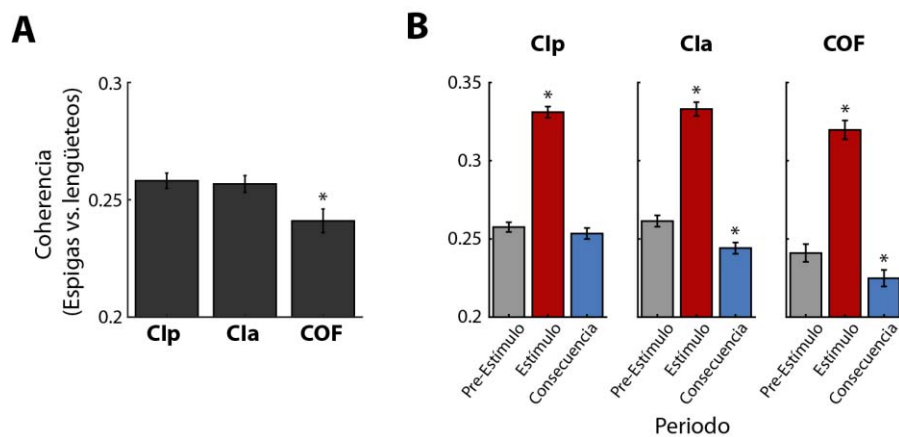


Figura 9. La coherencia entre lengüeteos y espigas es mayor tras la entrega del Estímulo-D, pero no tras la entrega de la recompensa. A. Valores de coherencia entre los lengüeteos y las espigas de cada una de las regiones. *, diferencias significativas en comparación con la Clp y Cla. **B.** Coherencia entre las espigas y los lengüeteos ocurridos durante los periodos pre-Estímulo (gris), Estímulo (rojo) y Consecuencia (azul). *, diferencias significativas en comparación con el periodo pre-Estímulo.

Asimismo, en las tres regiones se encontró que tanto las neuronas Coherentes-decrescentes como las Coherentes-crecientes contienen más información acerca de la intensidad de sacarosa entregada en comparación con el grupo de neuronas No-evocadas (Tabla 3). De hecho, el juntar ambas poblaciones produce un aumento en la ejecución del clasificador, el cual se acerca a la generada por la población “Todas”. Por el contrario, si estas poblaciones (Coh-dec, Coh-crec, “Todas-Coh”) son removidas, la ejecución del decodificador disminuye de manera significativa en comparación con

“Todas” (Table 4). En conjunto, los datos sugieren que las neuronas Coherentes son necesarias y suficientes para decodificar la información de la intensidad de la sacarosa.

Tabla 3. % de Exactitud para decodificar la intensidad de la sacarosa al incluir una sola población

Estructura	No evocadas	Todas	Fásicas	Tón-dec	Tón-crec	Coh-dec	Coh-crec	Tónicas	Coherentes
Clp	52.7 ± 0.6	67.6 ± 1.3	60.2 ± 1.7	53.1 ± 0.5	53.5 ± 0.6	62.0 ± 1.2	61.6 ± 0.8	54.3 ± 0.6	66.6 ± 1.2
Cla	50.4 ± 0.3	65.7 ± 0.9	54.7 ± 1.1	52.1 ± 0.4	55.4 ± 0.4	60.0 ± 0.7	62.1 ± 0.8	55.1 ± 0.5	65.6 ± 0.9
COF	54.8 ± 0.5	71.0 ± 1.6	56.6 ± 1.4	55.3 ± 0.6	61.1 ± 1.1	62.7 ± 1.1	65.9 ± 1.5	60.8 ± 1.0	69.3 ± 1.6

% Exactitud de decodificación (media ± EEM). Los números en negritas indican diferencias significativas con respecto a las No evocadas.

Tabla 4. Análisis de exclusión: Decodificación de la intensidad de sacarosa al excluir sólo un grupo de la población total

Estructura	Todas	Fásica	Tón-dec	Tón-crec	Coh-dec	Coh-crec	Tónicas	Coherentes
Clp	67.8 ± 1.3	58.5 ± 1.7	68.1 ± 1.3	68.5 ± 1.3	63.4 ± 0.9	64.0 ± 1.2	68.5 ± 1.2	58.0 ± 0.7
Cla	65.9 ± 0.8	63.4 ± 2.0	66.3 ± 0.9	65.1 ± 0.9	62.7 ± 0.7	61.2 ± 0.7	66.1 ± 0.9	55.8 ± 0.5
COF	71.2 ± 1.7	63.1 ± 3.0	72.6 ± 1.7	68.8 ± 1.5	67.6 ± 1.5	66.9 ± 1.3	70.5 ± 1.6	62.1 ± 1.1

% Exactitud de decodificación (media ± EEM). Los números en negritas indican diferencias significativas con respecto a Toda la población. Nótese que los valores del grupo “Todas” no son idénticos a la tabla 3, debido a la selección aleatoria de los conjuntos de entrenamiento y de prueba del decodificador poblacional.

10.4. Neuronas selectivas a la intensidad

Los tipos de modulaciones fueron a su vez subdivididos en No-selectivos y Selectivos. La Figura 7 muestra las gráficas tipo ráster y su correspondiente PSTH (alineados a la entrega del Estímulo-D) de ejemplos representativos de neuronas con Respuesta-evocada que fueron No-selectivas; mientras en la Figura 10 se muestran ejemplos de neuronas Intensidad-selectiva de cada una de las tres regiones corticales. Dichas neuronas Intensidad-selectiva fueron detectadas para cada uno de los tipos de respuesta evocada en las tres regiones corticales, aunque en proporciones diferentes: menor proporción de neuronas Fásicas y Tónicas (crecientes y decrecientes) Selectivas en

ambas porciones de la CI en comparación con la COF, y mayor proporción de neuronas coherentes (crecientes y decrecientes) Selectivas en la CI en comparación con la COF (Fig. 12A; Tabla 2).

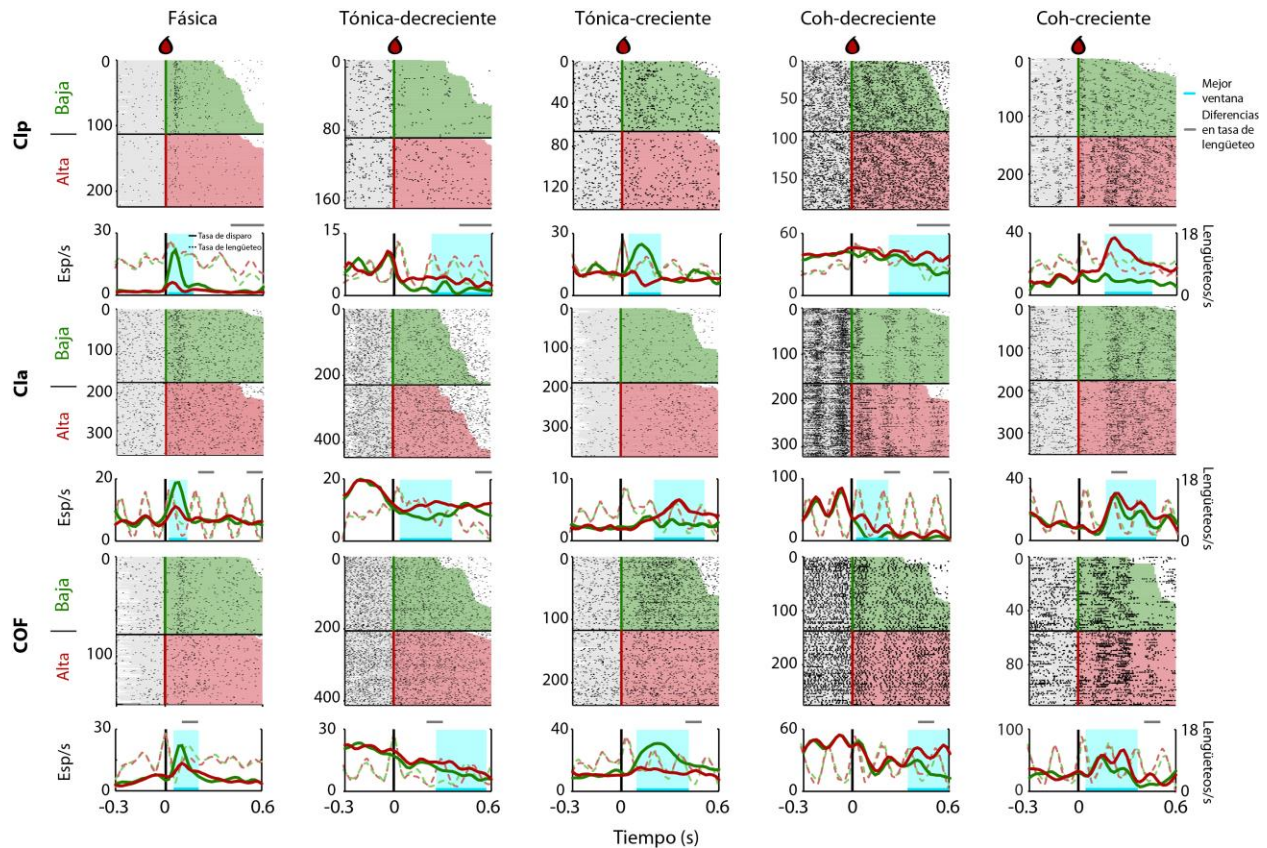


Figura 10. Ejemplos representativos de neuronas responsivas Intensidad-selectiva de la Clp, Cla y COF. Gráficas tipo ráster de neuronas Selectivas a la intensidad que muestran respuestas fásicas, tónicas-decrecientes, tónicas-crecientes, coherentes-decrecientes o coherentes-crecientes, de izquierda a derecha. Cada marca negra representa un potencial de acción ocurrido alrededor de -0.3 hasta +0.6 s a partir de la entrega del Estímulo-D. Los tiempos de lengüeteos emitidos antes del Estímulo-D están indicados con sombreado gris. El sombreado verde y rojo indican los lengüeteos emitidos tras la entrega de sacarosa “Baja” y “Alta”, respectivamente. Debajo de cada gráfica tipo ráster se muestra su tasa de disparo (línea continua) y la tasa de lengüeteo del sujeto (línea discontinua) durante los ensayos “Baja” (verde) y “Alta” (rojo).

Se cuantificó el impacto que tuvo la diferencia en el lengüeteo sobre las respuestas neuronales diferenciales/selectivas. Entre las neuronas Intensidad-selectiva se encontró que un 45.1% tuvo una “mejor ventana” de selectividad sin diferencias en el lengüeteo (Fig. 11). En el restante 54.9% la diferencia en la tasa de lengüeteo cubría sólo ~31.4%

de la “mejor ventana” (Fig. 11). De tal forma, es poco probable que la representación de la intensidad de la sacarosa se deba a diferencias en los patrones de lengüeteo.

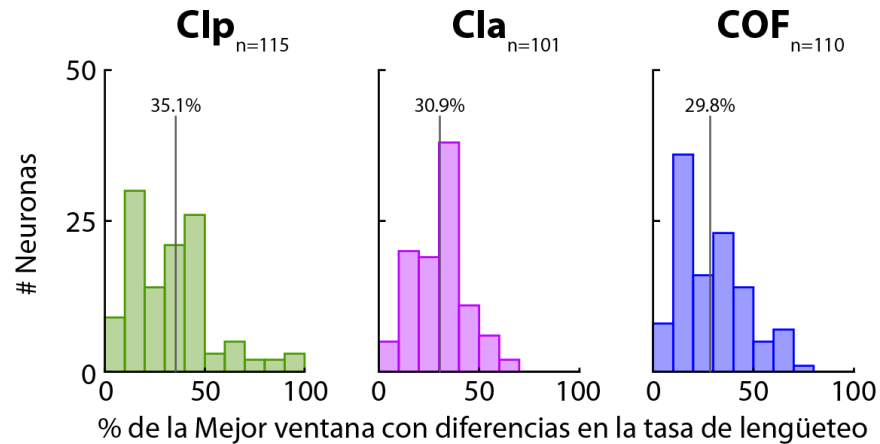


Figura 11. Porcentaje de solapamiento de las diferencias en la tasa de lengüeteo durante la Mejor ventana. Porcentaje de tiempo en el cual la mejor ventana contuvo diferencias en la tasa de lengüeteo. Sólo incluye neuronas en cuyas mejores ventanas se detectaron diferencias en el lengüeteo. La línea vertical indica la media del porcentaje de solapamiento.

Se usó un decodificador lineal para estimar la exactitud con la que cada población neuronal (No-evocadas, Todas, No-selectivas, Selectivas) clasificaba cada ensayo como “Bajo” o “Alto” (Meyers, 2013). La contribución de las respuestas No-evocadas estaba alrededor del azar (50%). Mientras que las demás poblaciones ejecutaban significativamente mejor que la población antes mencionada (Fig. 12B). A pesar de lo esperado, las neuronas No-selectivas ejecutaron por encima del azar, sugiriendo la existencia de pequeñas e inconsistentes diferencias en la tasa de disparo, a lo largo de los ensayos, que no arrojan diferencias significativas a nivel de unidad neuronal; sin embargo, a nivel poblacional dichas disimilitudes contienen suficiente información para decodificar la identidad del estímulo entregado. Otra opción es que la información provista por las neuronas No-selectivas esté contenida en el tiempo de ocurrencia de las

espigas (*spike timing*) (DiLorenzo and Victor, 2013). De hecho, al cambiar la posición (tiempos) de las espigas, preservando la tasa de disparo, se encontró que la ejecución del clasificador disminuía de manera significativa (Fig. 12B). Por otra parte, el algoritmo de decodificación ejecutó significativamente mejor al usar la información de las neuronas Selectivas. Es importante enfatizar que este grupo conformaba sólo el ~18% del total de la población registrada. De tal forma, las diferencias entre la población de No-evocadas y el resto de las poblaciones no se debe simplemente a diferencias en el tamaño de estas. Dado que los patrones de respuestas del clasificador para cada una de las poblaciones fueron encontrados en las tres regiones registradas, se sugiere la existencia de una representación neuronal de la concentración de sacarosa a lo largo de las mismas. Finalmente, la remoción de la información contenida en el *spike timing* en las neuronas Selectivas, produce una caída en la ejecución del clasificador. En conjunto, los resultados demuestran que la información acerca de la concentración de la sacarosa está contenida tanto en la tasa de disparo como en el *spike timing* de las poblaciones con respuestas evocadas.

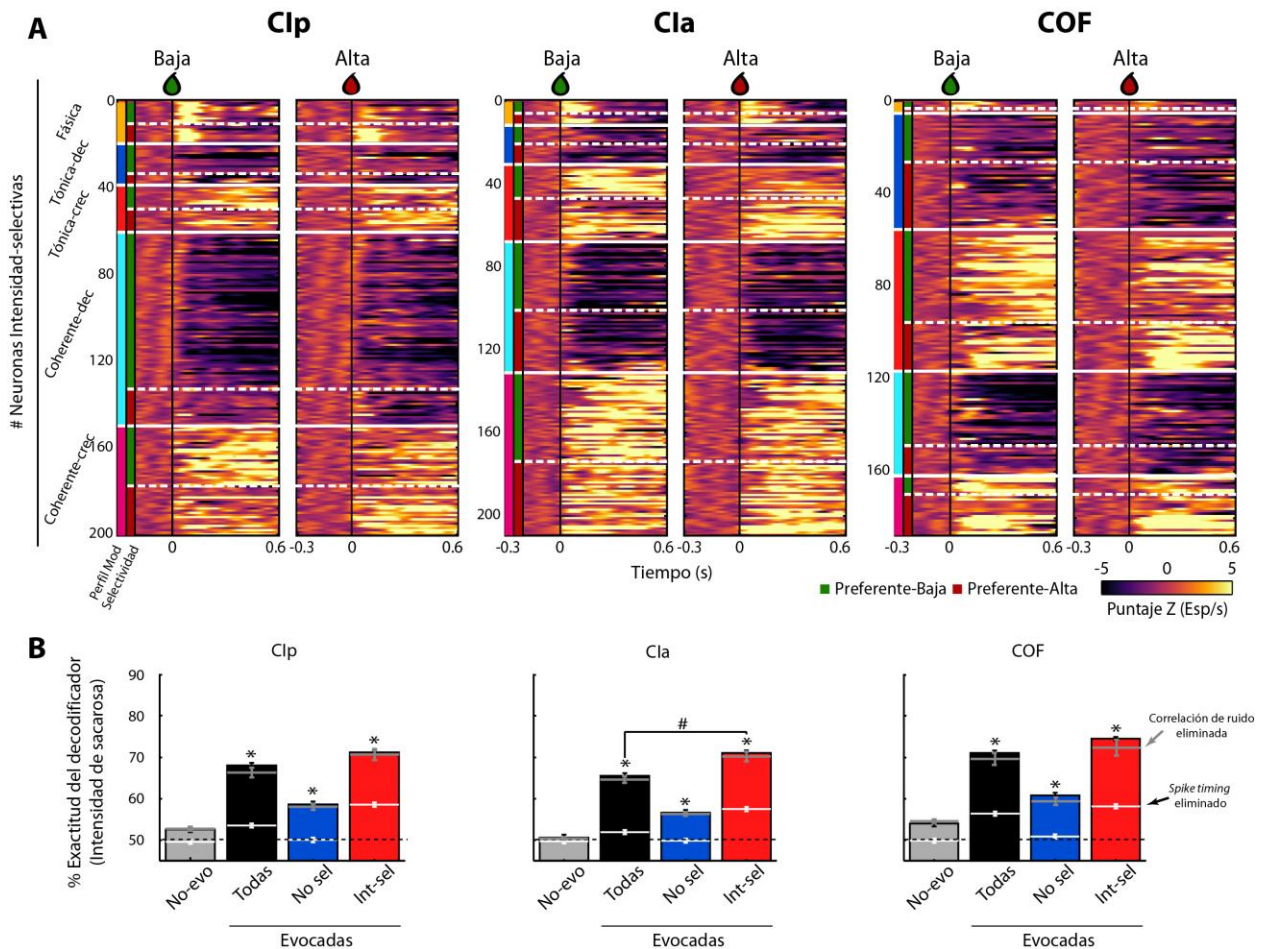


Figura 12. Una subpoblación pequeña de neuronas selectivas decodifica mejor la intensidad de la sacarosa en comparación con otras clases neuronales. **A.** Panel superior: Histograma periestimulo en código de color de los cinco tipos de respuestas evocadas agrupadas de acuerdo con su tipo de modulación y selectividad a la intensidad: Preferentes-Baja (verde) y Preferentes-Alta (roja). Las acotaciones son las mismas que en la Figura 8. **B.** Ejecución del decodificador usando la información contenida en las neuronas No-evocadas (gris), Todas (negro), No selectivas (azul) e Intensidad-selectivas (rojas). La línea punteada negra indica el azar. Las líneas blancas y grises indican la ejecución tras eliminar la información contenida en el *spike timing* y la correlación de ruido, respectivamente. *, diferencias significativas en comparación con las neuronas no evocadas. #, diferencias significativas en comparación con Todas.

Ha sido reportado que los conteos de espigas entre pares de neuronas registradas simultáneamente pueden covariar a lo largo de una misma sesión, un fenómeno denominado como correlación de ruido. Se ha reportado que estas covariaciones pueden afectar estados atencionales, conductuales y el estado general de la red (Averbeck et

al., 2006; Averbeck and Lee, 2006; Carnevale et al., 2013; Cohen and Kohn, 2011; Zohary et al., 1994). Por esta razón, determinamos el impacto de la remoción de la correlación de ruido sobre la exactitud de decodificar la intensidad de la sacarosa. Se determinó que eliminar la correlación de ruido (Fig. 13) no afectó de manera significativa la ejecución del clasificador en ninguna de las poblaciones neuronales ni en alguna de las regiones registradas (Fig. 12B).

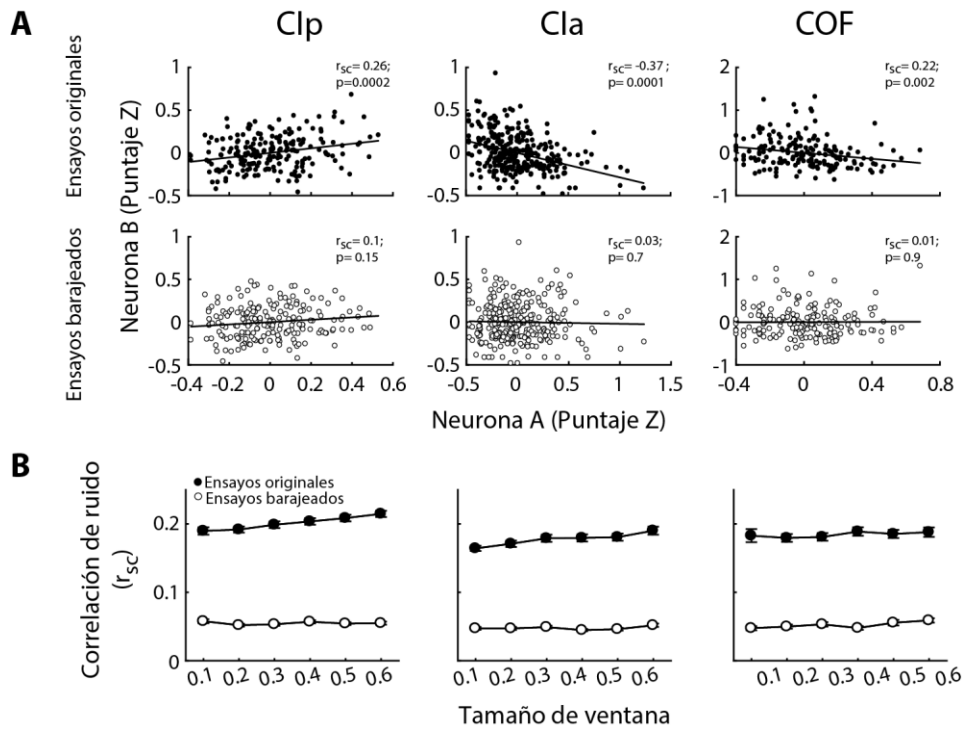


Figura 13. La correlación de ruido es eliminada tras cambiar la posición de los ensayos. A. Neuronas con correlación de ruido antes (círculos negros) y después (círculos blancos) de cambiar la posición de los ensayos. **B.** Correlación de ruido promedio empleando diferentes tamaños de ventana a partir de la entrega del Estímulo-D. Las acotaciones son las mismas que en el panel A.

10.5. Respuestas a la sacarosa dependientes de concentración

Similar a las sesiones de discriminación, en generalización se encontró que $94.1 \pm 1.3\%$ de las neuronas presentaban respuestas evocadas y que de estas el $83.3 \pm 1.5\%$ fueron No-selectivas y el $16.7 \pm 1.5\%$ fueron Selectivas. De la población de neuronas Selectivas, el porcentaje que codificaba la concentración de sacarosa de manera lineal (positiva o negativamente) fue 28.8% (19/66), 36.1% (26/72) y 32.3% (20/62) en la Clp, Cla y COF, respectivamente. La Figura 14A y 14B muestran gráficas tipo ráster y PSTH de tres ejemplos representativos cuyas respuestas varían en función de la concentración. La actividad poblacional de las neuronas que correlacionan positiva o negativamente con la concentración fue similar a lo largo de las tres regiones (Fig. 14C).

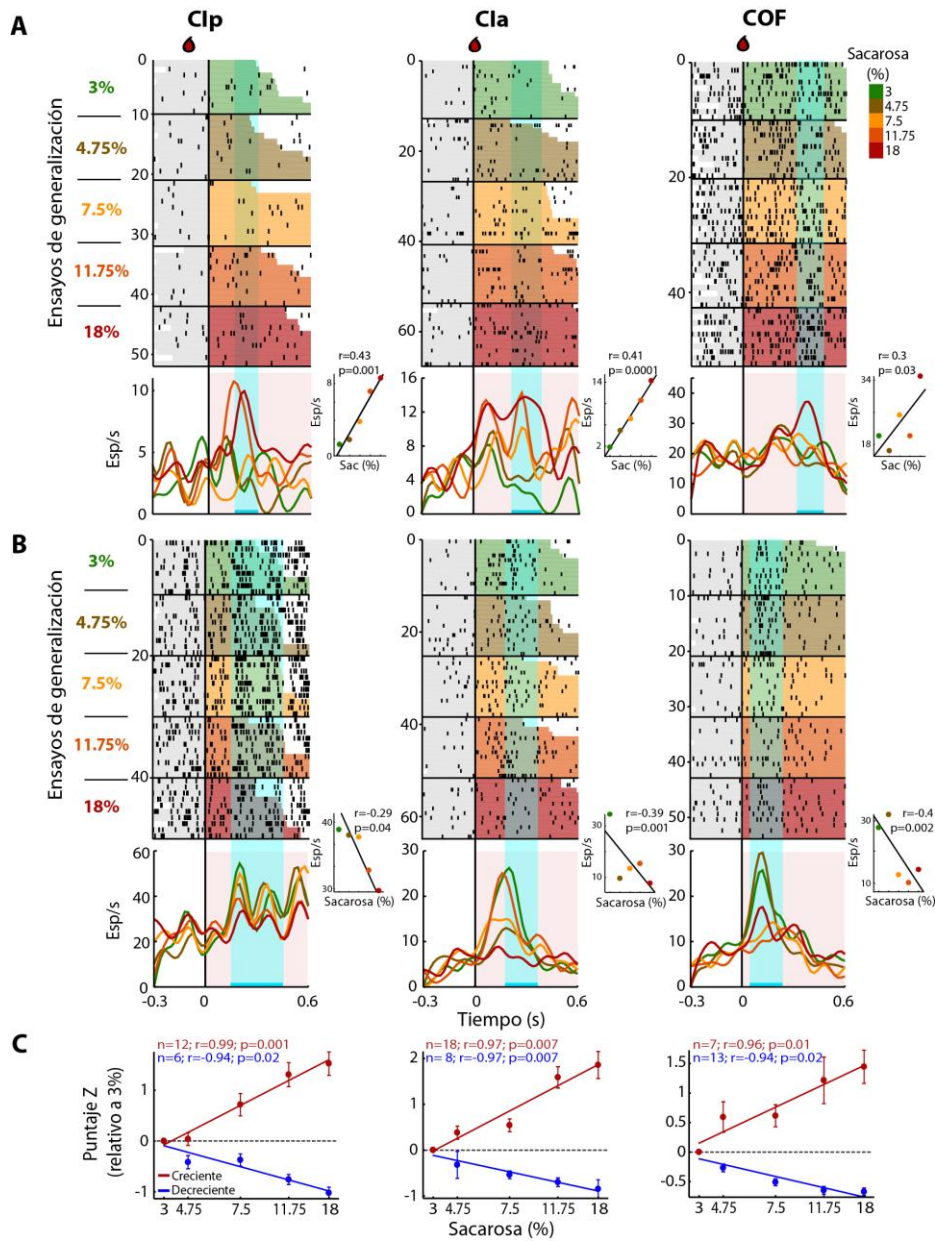


Figura 14. Codificación monotónica de la concentración de sacarosa. **A.** Gráfica tipo ráster y su respectivo PSTH de neuronas que aumentan su tasa de disparo en función de la concentración. Las respuestas están alineadas a la entrega del Estímulo-G (3, 4, 7.5, 11.75 y 18%). El sombreado gris indica el tiempo de lengüeteo previo a la entrega de la pista. El sombreado en código de color representa el tiempo de lengüeteo tras la entrega del Estímulo-G. El código de color se encuentra detallado en el borde superior derecho. Del lado derecho de cada PSTH se muestra la tasa de disparo promedio ocurrida durante la mejor ventana (rectángulo color cyan) para cada concentración y su ajuste lineal. **B.** Ejemplos de neuronas que disminuyen su tasa de disparo en función de la concentración. Las acotaciones son las mismas que en A. **C.** Actividad neuronal normalizada para la población que aumenta (roja) y disminuye (azul) su tasa de disparo en función de la concentración.

10.6. Neuronas de decisión

Respuestas relacionadas con la elección fueron encontradas en los periodos de Respuesta en la Cla y COF. Dado que sólo dos neuronas de Elección fueron detectadas en la Clp (Fig. 16B), no se tienen conclusiones de esta área. El panel de la izquierda muestra una neurona de Elección de la Cla “Preferente-Baja”, cuya actividad disminuye de manera sigmoïdal en función de la concentración (Fig. 15A). El panel de la derecha muestra una neurona de la COF “Preferente-Alta” con tasas de disparo altas para ensayos donde se entregó sacarosa $\geq 4.75\%$ y menores cuando se entregó sacarosa $\leq 3\%$ (Fig. 15A). El rectángulo color cyan en el PSTH representa la ventana donde la respuesta neuronal predijo mejor la elección del sujeto. Las curvas neurométricas individuales no difirieron de las psicométricas de manera significativa (Fig. 15A, insets). En total se encontró 8 neuronas de Elección en la Cla (de 403; 2.0%) y 18 en la COF (de 337; 5.3%), las cuales covariaron de manera significativa con la función psicométrica (Fig. 15B). Sin embargo, sólo para la COF los intervalos de confianza de las pendientes se sobrelaparon, indicando que las respuestas neuronales de esta área siguieron mejor las respuestas conductuales en comparación con la Cla. Además, las neuronas de la Cla codificaron la elección después de iniciado el periodo de Respuesta, mientras que las neuronas de la COF inician dicha codificación de manera temprana, previo a la salida del puerto central, durante el periodo de Estímulo (Fig. 16C).

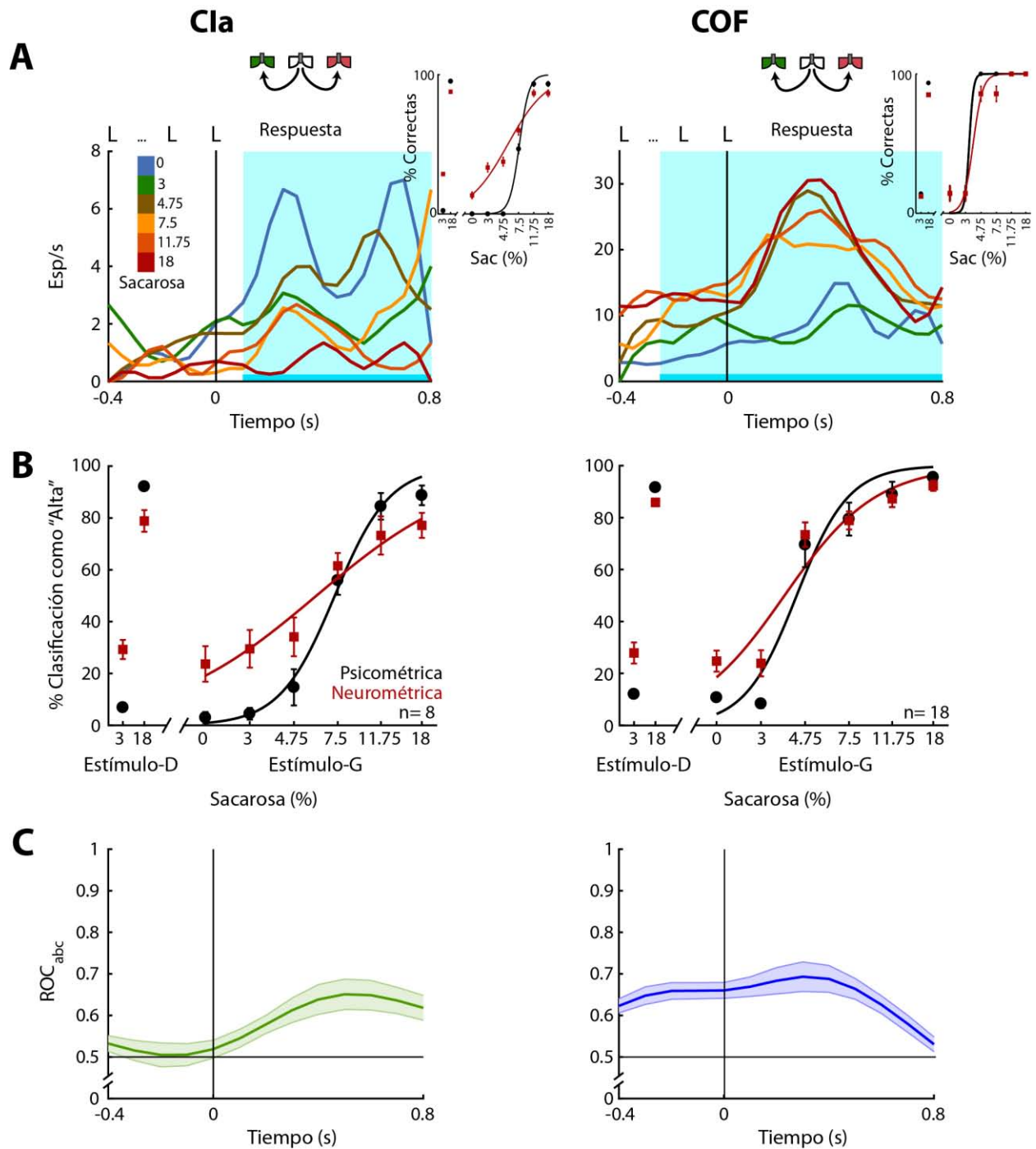


Figura 15. La COF codifica la decisión del sujeto más tempranamente que la Cla, antes de que el sujeto emita la respuesta. A. Neuronas de Decisión representativas de la Cla (panel izquierdo) y COF (panel derecho). La actividad se encuentra alineada al último lengüeteo en el puerto central. El rectángulo cian indica el intervalo en el cual la actividad neuronal mejor predijo los reportes subjetivos del sujeto. La actividad promediada por concentración ocurrida durante esta ventana se encuentra del lado derecho del PSTH. **B.** Promedio del porcentaje de veces que los sujetos (círculos negros) y las neuronas de decisión (cuadros rojos) clasificaron una concentración como "Alta" (sacarosa 18%). **C.** Valor del área bajo la curva ROC alineado al inicio del periodo de Respuesta para la Cla (verde) y COF (azul).

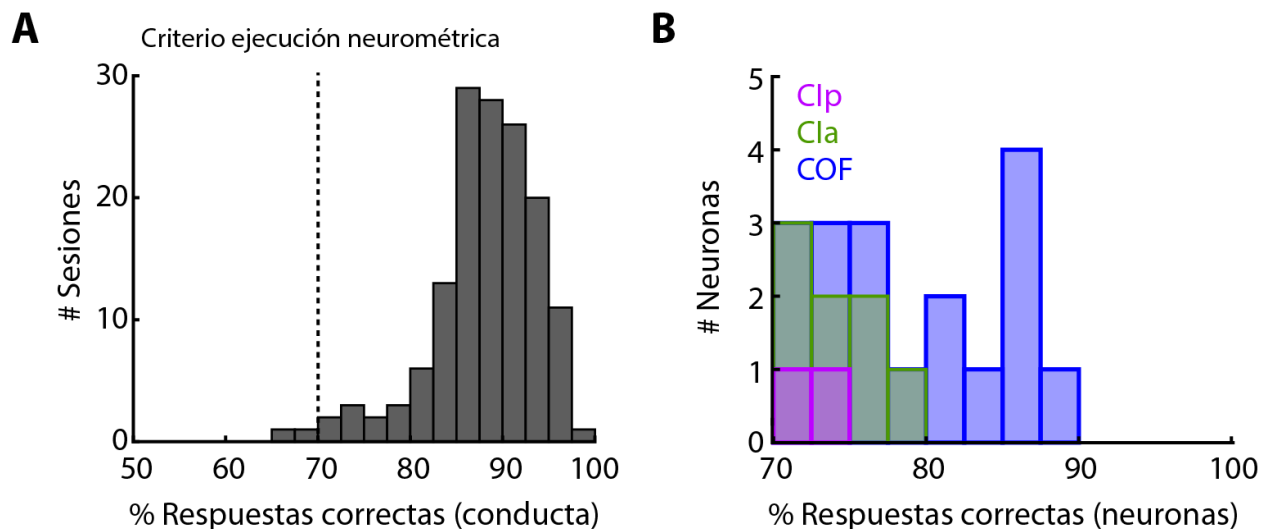


Figura 16. Las neuronas de Decisión de COF clasifican con mayor exactitud las concentraciones de sacarosa. A. Histograma de la ejecución conductual durante todas las sesiones generalización. **B.** El número de neuronas de Decisión de la Clp (magenta), Cla (verde) y COF (azul) que cubrieron el criterio de ejecución neurométrica.

Por otra parte, se evaluó el uso de las respuestas oromotoras de palatabilidad para guiar la elección de los sujetos. De tal forma, se buscó generar una función de generalización de palatabilidad usando la tasa de lengüeteo evocada por cada concentración de sacarosa, la cual sería comparada con la función psicométrica. Sin embargo, sólo en 1 de 171 sesiones los patrones de lengüeteo pudieron predecir la elección del sujeto. Incluso, ninguna neurona de Elección fue registrada durante esta sesión. Por tanto, es poco probable que los sujetos guíen su conducta usando como pista las respuestas oromotoras de palatabilidad evocadas por la sacarosa, apoyando la idea de que los sujetos se basan en la intensidad de la sacarosa para guiar su decisión.

10.7. Neuronas selectivas a la dirección

Estudios previos han demostrado la existencia de neuronas en COF que codifican información acerca de la dirección del movimiento del sujeto (Feierstein et al., 2006; MacDonald et al., 2009; Roesch et al., 2006). Para confirmar y ampliar estos estudios, se determinó si existía una codificación de dirección de movimiento en la Clp, Cla y COF. En el periodo de Respuesta los sujetos se desplazaban del puerto central al lateral (izquierda/derecha), mientras que en el de Regreso lo hacían del lateral al central (izquierda/derecha; ver Fig. 5A y 5C). Por lo tanto, ambos periodos compartían mismas direcciones de desplazamiento y aquellas neuronas Dirección-selectivas debían tener una mayor actividad ante movimientos con la misma dirección independientemente de la locación espacial. Puede apreciarse que estas neuronas Dirección-selectiva muestran respuestas similares en ensayos correctos e incorrectos, denotando que la característica principal que modula a estas neuronas es la dirección. En las tres cortezas se encontraron neuronas con selectividad a la dirección. La Figura 17A muestra dos neuronas Preferente-izquierda (panel superior e inferior) y una Preferente-derecha (panel medial). Los tres paneles de la Figura 17B muestra los valores del P_{index} durante el periodo de Regreso relativo a los P_{index} del periodo de Regreso, para todas las neuronas Dirección-selectiva de cada región. La flecha negra señala los ejemplos de la Figura 17A. Los valores de P_{index} cercanos a la diagonal denotan selectividad similar en ambos periodos evaluados.

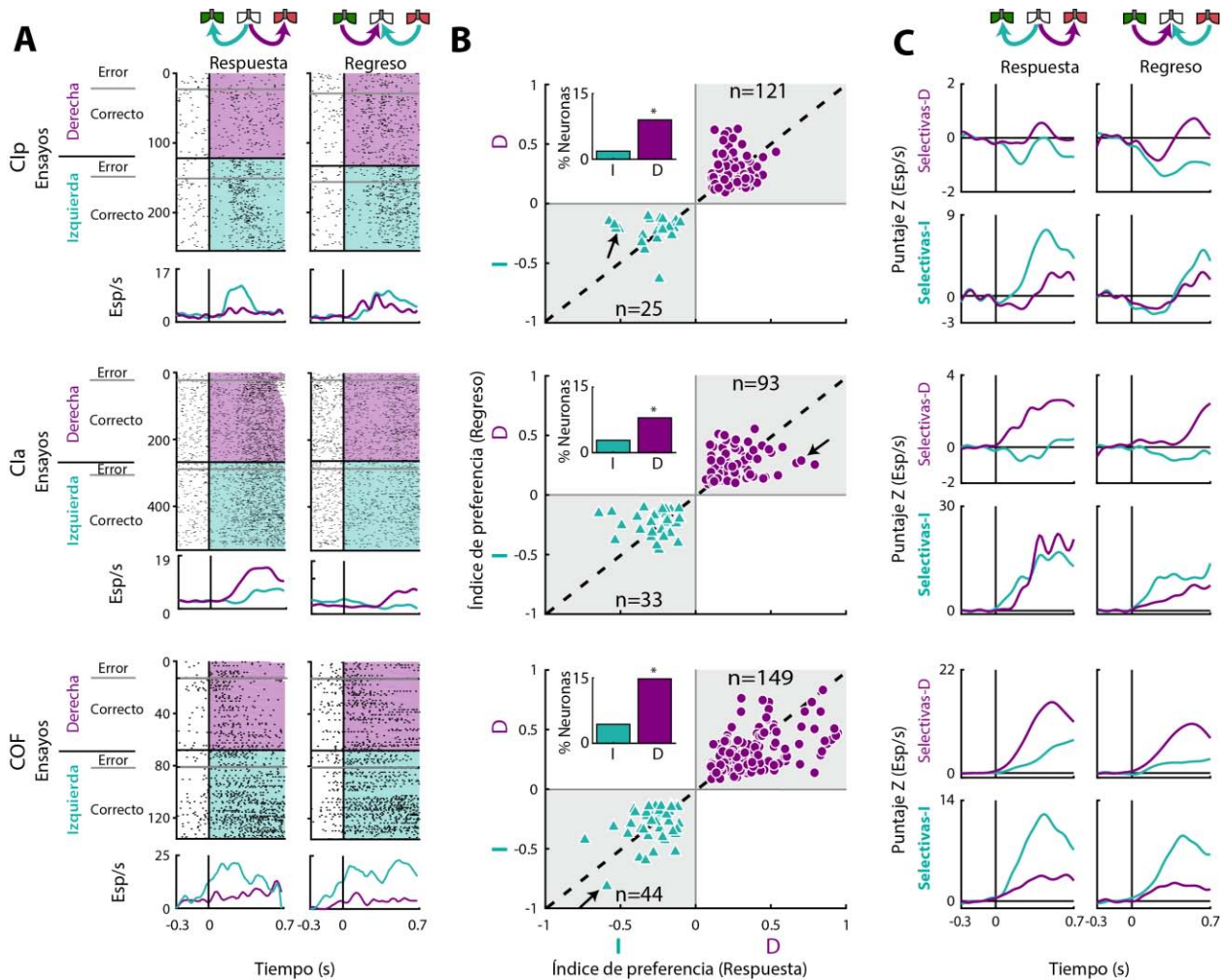


Figura 17. Las tres regiones codifican la dirección del movimiento. **A.** Neuronas de Dirección de la Clp, Cla y COF se muestran en los paneles superior, medial e inferior. El ráster y su PSTH correspondiente del lado izquierdo y derecho se encuentran alineados al inicio de los periodos de Respuesta y de Regreso, respectivamente. Los ensayos se encuentran agrupados de acuerdo con la dirección de desplazamiento del sujeto: derecha (morado) e izquierda (cyan). La línea gris denota una subdivisión de estos ensayos en correctos y errores. Cada marca negra representa una espiga. **B.** Índice de preferencia durante el periodo de Respuesta y Regreso de todas las neuronas de Dirección. Los triángulos cyan y círculos morados representan las neuronas Selectivas-Izquierda y Selectivas-Derecha, de manera correspondiente. Los insets muestran el porcentaje de neuronas de estas dos poblaciones que se encontró en cada región. **C.** Actividad poblacional promediada para las neuronas Selectivas-Izquierda (panel inferior) y Selectivas-Derecha (panel superior) durante el periodo de Respuesta (panel izquierdo) y el de Regreso (panel derecho).

Se encontraron diferencias entre estructuras en la selectividad a la dirección (P_{index} Respuesta; ANOVA de 1 vía: $F_{(2, 462)} = 6.1$; $p < 0.0001$). Un *post hoc* de Bonferroni confirmó que la COF cuenta con una mejor representación de la selectividad en

comparación con la Clp y Cla ($p < 0.05$ y $p < 0.01$, respectivamente). De hecho, se puede apreciar una mayor diferencia entre las tasas de disparo para los ensayos izquierda contra los de la derecha en la actividad poblacional de COF durante ambos periodos (Fig. 17C). Incluso hubo una mayor proporción de neuronas Dirección-selectiva en la COF (19.1%) relativo a la Clp y Cla (10.8%, $\chi^2=23.85$, $p < 0.0001$ y 10.8%, $\chi^2=22.32$, $p < 0.0001$, respectivamente; Fig. 17B). La mayor parte de dichas neuronas fueron “Preferentes-derecha” (Fig. 17B, insets) quizás debido a que los registros se realizaron unilateralmente en el hemisferio izquierdo. En conjunto, los resultados demuestran que, si bien se codifica la direccionalidad en las tres estructuras, en la COF hay un mayor número de neuronas selectivas a la dirección cuya codificación es de mayor magnitud.

10.8. Neuronas responsivas a la consecuencia

Una vez que los sujetos se encontraban en el puerto lateral, podían o no recibir agua de acuerdo con su ejecución (correcto o incorrecto) y con el tipo de ensayo (discriminación o generalización). Se identificaron neuronas que respondían de manera selectiva a la entrega u omisión del reforzador. La Figura 18A muestra las gráficas tipo ráster y sus PSTH de tres neuronas representativas. Las neuronas de la Clp y COF no respondieron a la omisión de la recompensa, formando parte de la población Inactiva. En contraste, la neurona de la Cla tiene una mayor tasa de disparo tras la omisión de la recompensa (población Activa). Tanto la Clp (57.1% vs. 17.9%) como la Cla (45.7% vs. 28.3%) tuvieron una mayor proporción de neuronas con respuestas inactivas que activas ($\chi^2=72.88$, $p < 0.0001$ y $\chi^2=12.05$, $p = 0.0005$; respectivamente); mientras que en la COF

la proporción fue similar (36.5% vs. 42.4%; $\chi^2=1.1$, n.s.). La actividad promedio de cada población se muestra en la Figura 18B.

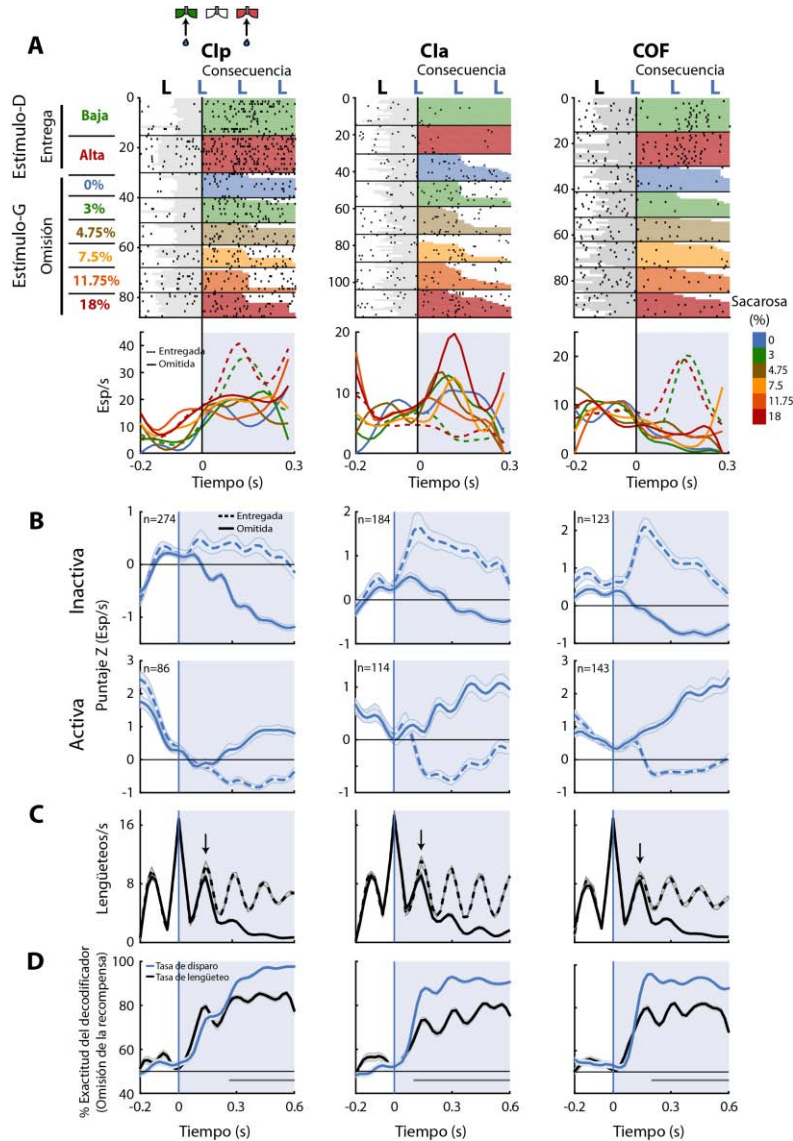


Figura 18. Neuronas que detectan la presencia o ausencia de la recompensa fueron identificadas en las tres regiones. **A.** Gráficas tipo ráster de neuronas de Consecuencia que aumentan su actividad (población Activa) o no (población Inactiva) ante la ausencia del reforzador. Los ensayos se encuentran categorizados acorde con la entrega (Estímulo-D) u omisión (Estímulo-G) de la recompensa. Los eventos se encuentran alineados al segundo lengüeteo en el puerto lateral. En el panel inferior se encuentran los respectivos PSTH de las neuronas con la actividad promedio por concentración de los ensayos recompensados (líneas discontinuas) y no recompensados (líneas continuas). **B.** Actividad de las poblaciones Inactiva y Activa en los paneles superior e inferior, de manera correspondiente. Las acotaciones son las mismas que en A. **C.** Tasa de lengüeteo durante los ensayos reforzados (línea discontinua) y no reforzados (línea continua). **D.** Ejecución del decodificador usando la información contenida en la tasa de lengüeteo (negro) y de disparo (azul). La línea gris en la parte inferior indica diferencias significativas.

Dado que la latencia para dejar de lengüetear en ensayos no recompensados es significativamente menor que los recompensados (Fig. 5H; Fig. 18C), se podría argumentar que esta respuesta diferencial es producto de diferencias en el lengüeteo. De hecho, un clasificador puede decodificar la identidad del ensayo (recompensado vs no recompensado) utilizando la información de la tasa de lengüeteo con una exactitud que rebasa al azar. No obstante, la información contenida en la actividad neuronal es significativamente mayor que la conducta de lengüeteo; incluso, en la ClA y COF esta diferencia aparece previo a las diferencias significativas en la tasa de lengüeteo de estos tipos de ensayos (Fig. 18D). Los hallazgos sugieren que las tres cortezas son sensibles a la entrega y omisión del reforzador.

10.9. Integración y solapamiento entre perfiles de codificación

La Figura 19A muestra una tabla de contingencia de comparación de pares para cada categoría del perfil de codificación. Las neuronas Sensoriales sólo se solaparon de manera significativa con las de Dirección en Clp, sugiriendo que las respuestas de estas neuronas se modulan por la intensidad y no meramente por la dirección en que se ubica el puerto asociado con la recompensa tras la entrega de esta pista (i.e., Baja-Izquierda o Alta-Derecha). El mismo resultado fue obtenido al realizar el análisis con las neuronas Intensidad-selectiva en lugar de las Sensoriales (datos no mostrados). En la ClA las neuronas Sensoriales solaparon con las de Consecuencia. Mientras que en la COF las de Dirección se solaparon de manera significativa con las de Elección y las de Consecuencia. Lo último sugiere que las neuronas de la COF pueden acarrear, durante

diferentes periodos, más de una información espaciomotora que guía la conducta del animal para la obtención de una consecuencia favorable.

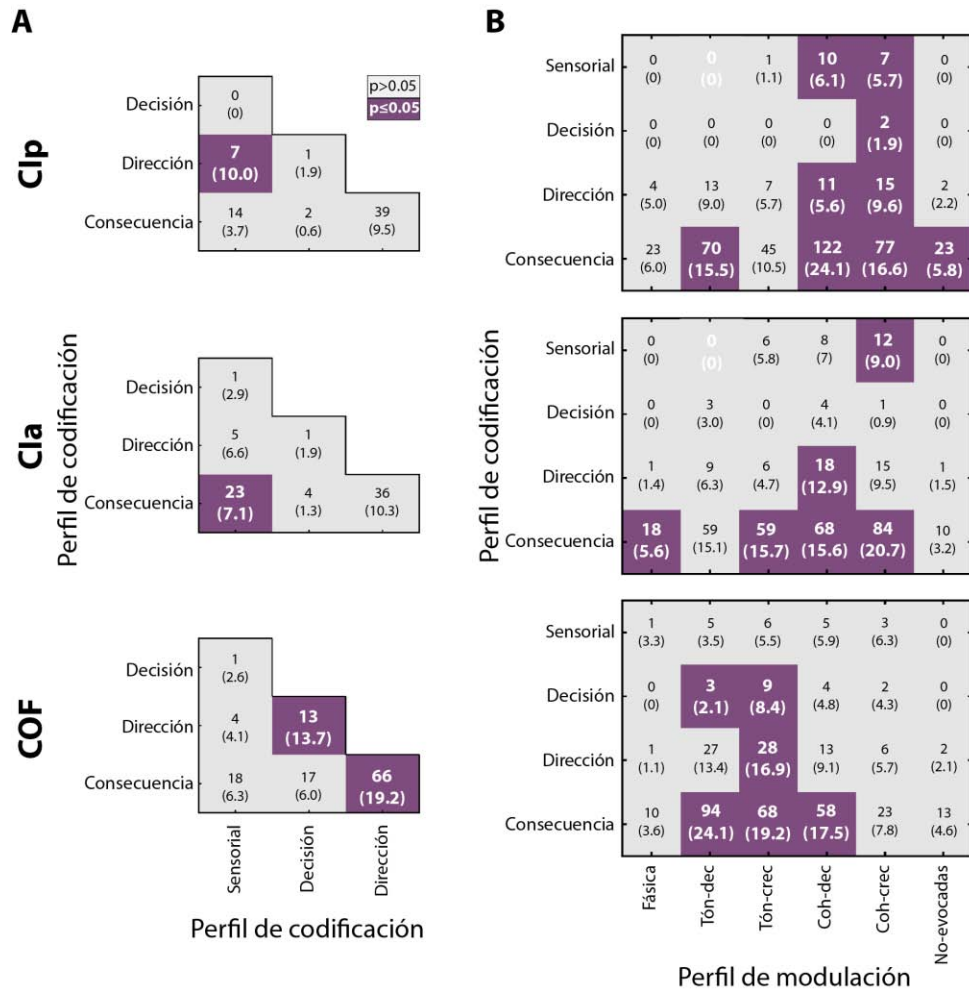


Figura 19. Las neuronas de la Clp, Cla y COF tienden a codificar más de una variable. A. Sobrelape entre los perfiles de codificación. La matriz de contingencia indica el número y entre paréntesis el porcentaje de las neuronas que pertenecen a los grupos indicados por la posición correspondiente. Los cuadros morados indican sobrelape significativo. Los números en blanco representan diferencias significativas (ya sea mutuamente incluyentes o excluyentes). **B.** Matriz de contingencia del sobrelape entre perfiles de modulación y codificación. Mismas convenciones que en A.

10.10. Sobrelape entre perfiles de modulación y de codificación

En general, no hubo un patrón de sobrelape significativo compartido entre las tres regiones. Las neuronas Coherentes de la Clp y Cla codificaron preferentemente las variables sensoriales y de decisión, con excepción de la Elección en la Cla, la cual no es codificada por ningún perfil de modulación de manera preferencial (Fig. 19B, paneles superior y medial). Por el contrario, en la COF las variables de decisión eran preferentemente codificadas por las neuronas con respuestas tónicas (Fig. 19B, panel inferior). En conjunto, los datos proponen un papel prominente en codificar características fundamentales de la tarea para las neuronas Coherentes insulares, mientras en la COF la actividad tónica prevalece en la codificación de variables de decisión.

11. DISCUSIÓN

En su mayoría los experimentos que buscan caracterizar la representación neuronal de la intensidad/concentración de un sabor dulce, se han llevado a cabo en animales que reciben el estímulo gustativo de manera pasiva (Katz et al., 2002) o cuya única decisión es si lengüetear o no (Stapleton et al., 2006; Villavicencio et al., 2018). Sin embargo, la dimensión psicológica de la intensidad percibida de un estímulo sávido sólo puede medirse a través del reporte activo de un sujeto. Razón por la cual se entrenó a sujetos a clasificar qué tan dulce les pareció una concentración de sacarosa mientras se registró la actividad unitaria en la Clp, Cla y COF. Encontramos que el ~95% de las neuronas registradas tuvieron respuestas evocadas ante la entrega de una sola gota de sacarosa. Algunos estudios han reportado un menor número de neuronas responsivas a cualidades

gustativas, lo cual puede deberse a diferencias metodológicas, como la cantidad de líquido entregado, el uso de sujetos anestesiados, el diseño de la tarea, entre otras (Katz et al., 2001; MacDonald et al., 2012, 2009; Stapleton et al., 2006; Yamamoto et al., 1989). Sin embargo, algunas de estas respuestas podrían estar relacionadas con estimulación somatosensorial, temperatura, la cualidad gustativa o la palatabilidad (Gardner and Fontanini, 2014; Hayama et al., 1985; Katz et al., 2001; Ogawa et al., 1988; Verhagen et al., 2004; Yamamoto et al., 1989). Por otra parte, esto podría deberse a la llegada de un estímulo saliente a un animal sobreentrenado. Este estímulo adquiere gran relevancia en el contexto de un sujeto sediento, que se encuentra motivado a atender la llegada de información cuya correcta detección e identificación llevará a la obtención de una consecuencia deseada: agua. Se sabe que la entrega de pistas que predicen la llegada de alimento produce respuestas neuronales en la corteza insular cuando los sujetos se encuentran en un estado fisiológico de necesidad (Livneh et al., 2017). En la porción caudolateral de la COF se han detectado neuronas que responden a estímulos gustativos cuando el sujeto se encuentra en estado de hambre (Rolls et al., 1989). Asimismo, en ratones entrenados en una tarea de conducta dirigida a la meta (Go/No-Go) se ha reportado que la llegada de un estímulo olfativo genera una activación distribuida a lo largo de toda la corteza (Allen et al., 2017).

Cabe resaltar que el número de neuronas responsivas fue similar en las tres regiones registradas. Esto a pesar de la existencia de los *hotspots* de dulce y amargo localizados de manera diferencial en la parte anterior (apetitivo) y posterior (aversivo) de la CI, respectivamente (Chen et al., 2011). De hecho, experimentos de ganancia y pérdida de

función han demostrado que el *hotspot* de lo dulce es suficiente y necesario para la identificación de un sabor dulce (Peng et al., 2015). Una separación topográfica aversivo-apetitiva similar ha sido descrita en la corteza insular del mono, aunque en un eje anatómico diferente: dorsal-apetitiva, ventral-aversiva (Jezzini et al., 2012). Dichas respuestas espacialmente agrupadas están en consonancia con el modelo de “labelled-line” (Chen et al., 2011; Sugita and Shiba, 2005), mientras que una respuesta distribuida, como la encontrada en el presente trabajo, concuerda con el modelo de “across-fiber” (Erickson, 2008; Gutierrez et al., 2010; Katz et al., 2001; Pfaffmann, 1955; Stapleton et al., 2006). Sin embargo, esta segregación ha sido descrita principalmente en la capa II/III, mientras que nuestros registros se llevaron a cabo preferentemente en la capa V, la cual contiene proyecciones abundantes hacia la COF (Allen et al., 1991). No obstante, estudios con imagenología funcional en la capa V fueron ineficientes en detectar los *hotspots* (Fletcher et al., 2017). De hecho, se ha reportado que las respuestas distribuidas a las diferentes cualidades gustativas, ocurre de manera temprana, desde los BG: las CRG del tipo III responden a múltiples estímulos gustativos debido a que establece comunicación célula-célula con las CRG de tipo II (Tomchik et al., 2007). Aunque estas respuestas se vuelven selectivas cuando las CRG del tipo III se encuentran aisladas (Tomchik et al., 2007). Los datos mostrados sugieren que tanto la CI como la COF tienen una respuesta distribuida, carente de segregación.

Las neuronas responsivas a la sacarosa presentaron tres respuestas prototípicas: fásicas, tónicas y coherentes con el lengüeteo. Sólo las primeras y las últimas contienen información necesaria y suficiente para decodificar la identidad de la concentración

recibida. Las respuestas fásicas han sido relacionadas con la detección de eventos biológicos relevantes, como la terminación de la ingesta (Villavicencio et al., 2018) o la recepción inesperada de una recompensa (Schultz et al., 1997). Mientras que las neuronas coherentes con el lengüeteo promueven la sincronización entre estructuras del circuito gusto-recompensa, facilitando el aprendizaje de tareas guiadas por pistas gustativas (Gutierrez et al., 2010); asimismo, se les ha vinculado con la codificación de la palatabilidad en el Núcleo Accumbens Shell (Villavicencio et al., 2018). Además, por primera vez, se encontró que el nivel de coherencia era significativamente mayor durante el periodo de Estímulo, pero no en el periodo de Consecuencia, en comparación con el de pre-Estímulo. Este hallazgo sugiere que la coherencia entre espigas y lengüeteos no es algo fijo o meramente orosensorial ni oromotor, sino que es dinámico y puede cambiar ante la llegada de estímulos salientes, como lo es la pista cuya identidad es clave para resolver exitosamente cada ensayo (o para detectar fuentes alimenticias que ofrecen energía inmediata) (Buzsáki, 2010; Gutierrez et al., 2010).

Entre la gran cantidad de neuronas con respuestas evocadas, sólo una pequeña (<18%) subpoblación fue selectiva a la intensidad: respondía de manera diferencial ante la entrega de sacarosa al 3% y 18%. Existe una vasta cantidad de reportes que apoyan la idea de que una pequeña población de neuronas corticales podría representar la intensidad de un estímulo dulce. Por ejemplo, estudios electrofisiológicos en roedores y primates no humanos han reportado entre 2-35% de neuronas en la Clp y COF con respuestas a estímulos dulces (Pritchard et al., 2005; Rolls et al., 1990, 1989; Scott et al., 1991; Stapleton et al., 2006; Thorpe et al., 1983; Yamamoto et al., 1989; Yaxley et

al., 1990). Cabe resaltar que esta diferencia en el rango de neuronas selectivas encontradas podría estar explicada por el análisis de datos (i.e., tamaño de ventana) y las preparaciones experimentales utilizadas (Chen et al., 2011; Katz et al., 2001). No obstante, las neuronas Selectivas a la intensidad, a pesar de ser una población pequeña en comparación con las No-selectivas, contienen tanta información acerca de la identidad del estímulo entregado como el total de la población. Esto último concuerda con hallazgos en la corteza somatosensorial de barril, en la cual se reportó ~3000 neuronas responsivas a la deflexión de las vibrisas de una rata; sin embargo, sólo las cinco neuronas más sensibles eran suficientes para explicar la conducta del sujeto (Stüttgen and Schwarz, 2008).

Las neuronas selectivas a la intensidad fueron identificadas en las tres regiones corticales; incluso, las tres regiones decodifican igualmente bien la identidad del estímulo recibido, revelando la naturaleza distribuida de la codificación de la concentración. Las neuronas Selectivas ejecutaron tan bien como, o incluso mejor en el caso de la Cla, que toda la población. Empero, las neuronas No-selectivas en las cuales no se encontró diferencias significativas en la tasa de disparo (“Baja” vs “Alta”), decodificaron con una ejecución por encima del azar, sugiriendo dos posibilidades: 1) cambios minúsculos y/o inconsistentes en la tasa de disparo a lo largo de los ensayos, y/o 2) la información está contenida en otro código, como el *spike timing*. De hecho, al cambiar la posición (tiempos) de las espigas, preservando la tasa de disparo, se encontró que la ejecución del clasificador disminuía de manera significativa. De manera interesante, en las neuronas Selectivas a la intensidad, la remoción del *spike timing* también produjo una

caída en la ejecución del clasificador, aunque este fue menor que en las No-Selectivas. Se ha demostrado que las características temporales de las respuestas neuronales gustativas contienen información relevante acerca de la cualidad gustativa recibida, en animales anestesiados y despiertos de diferentes especies (Di Lorenzo et al., 2009; Di Lorenzo and Victor, 2003; Reiter et al., 2015; Roussin et al., 2012). Sin embargo, el conocimiento en cuanto a su contribución en la codificación de la intensidad de un sabor es magro. En el sistema olfativo se ha reportado que la corteza piriforme codifica la intensidad de un olor a través del *spike timing*, no de la cuenta de espigas (Bolding and Franks, 2017). Así, se sugiere que el sistema gustativo usa la tasa de disparo y el *spike timing* como códigos complementarios que aportan información acerca de la intensidad de la sacarosa.

No obstante, el hecho de que todas las regiones decodificaran similarmente bien la intensidad de la sacarosa no implica que representen la misma información: podrían codificar diferentes características de la intensidad de la sacarosa. Dada la alta densidad de aferencias del tálamo gustativo que recibe la Clp (Cechetto and Saper, 1987), éste podría desempeñar un rol en la gustación. Las respuestas de la Cla podrían estar relacionadas con la codificación del percepto dulce, dada la ubicación del *hotspot* de lo dulce cuya fotoestimulación promueve las conductas apetitivas (Chen et al., 2011; Peng et al., 2015; Wang et al., 2018). Finalmente, las respuestas de la COF durante el periodo de Estímulo podrían codificar el valor relativo de la sacarosa “Baja” o “Alta” (Rolls et al., 1990; Tremblay and Schultz, 1999). Los datos presentados sugieren que la intensidad percibida de una concentración de sacarosa se encuentra distribuida a lo largo de las

cortezas gustativas en un código neuronal compacto: una pequeña población de neuronas espacialmente distribuidas contienen una gran cantidad de información del percepto de intensidad (Field, 1994; Olshausen and Field, 2004; Stüttgen et al., 2011).

Es importante notar que en el periodo de Estímulo las respuestas diferenciales podrían explicarse por otras variables, como la dirección, ya que cada intensidad ha sido asociada con una dirección de desplazamiento (i.e. Baja → Izquierda). Sin embargo, entre las neuronas selectivas a la intensidad, se identificó una subpoblación cuya actividad es modulada de manera dependiente de la intensidad de la sacarosa. Estas neuronas han sido detectadas en diferentes estructuras a lo largo de la vía gustativa-recompensa de los roedores: Chorda tympani (Pfaffmann, 1955), ganglio geniculado (Wu et al., 2015), NPB (Kovacs and Hajnal, 2008), el Núcleo Accumbens Shell (Villavicencio et al., 2018), la CI (Stapleton et al., 2006), la COF (Rolls et al., 1990); así como en diferentes especies (Pfaffmann, 1955; Reiter et al., 2015; Thorpe et al., 1983; Yaxley et al., 1990). Incluso, se ha demostrado que, en estas neuronas del NPB, la codificación de la intensidad de sacarosa se encuentra alterada en ratas obesas, sugiriendo que un malfuncionamiento en el procesamiento de la intensidad gustativa podría subyacer a patrones patológicos de ingesta, lo cual podría llevar al sobrepeso u obesidad (Kovacs and Hajnal, 2008). Es importante resaltar que es poco probable que estas respuestas sean meramente un reflejo de respuestas oromotoras de palatabilidad dado que fueron detectadas de manera temprana en el periodo de Estímulo. En conjunto, los resultados concuerdan con hallazgos previos de neuronas

que codifican la intensidad de la sacarosa de manera lineal y que fueron igualmente encontradas en las tres cortezas.

Es importante destacar que los correlatos neuronales de la dimensión física del estímulo (concentración), no necesariamente dan cuenta de la dimensión psicológica, del percepto de intensidad reportado por el sujeto: qué tan dulce percibió ese estímulo. De hecho, en ninguna de las regiones se detectó neuronas que coviaran con la decisión del sujeto durante el periodo de Estímulo. Estas neuronas fueron detectadas en el periodo de Respuesta en la porción anterior de la CI y en la COF. La COF codifica la decisión del sujeto antes de que emita una respuesta. Estos hallazgos son conciliatorios con observaciones conductuales: el sujeto toma una decisión previo a su salida del puerto central (Perez et al., 2013; Uchida and Mainen, 2003). Específicamente, la COF codifica la elección del sujeto de manera sostenida y gradual antes de que el sujeto emita una respuesta, dicha respuesta se vuelve cuantal mientras el sujeto se desplaza para responder en el puerto lateral. La respuesta sostenida de COF podría estar relacionada con memoria gustativa de trabajo como se ha descrito en monos (Lara et al., 2009); cabe aclarar que otras tareas cuentan con un mejor diseño experimental para explorar esta posibilidad (Lara et al., 2009; Liu et al., 2014; Stüttgen et al., 2011). Por otra parte, actividad sostenida similar ha sido vinculada con la confianza de la decisión en tareas guiadas por estímulos olfativos (Kepecs et al., 2008; Lak et al., 2014). Cabe destacar que, en el presente proyecto, dada la estructura de la tarea, el componente de decisión puede estar ligeramente contaminado por el de dirección, dado que la respuesta para categorizar una concentración como “Baja” o “Alta” va asociada con el movimiento hacia

la izquierda o derecha. Otro procedimiento similar de categorización de intervalos temporales ha resuelto de manera elegante dicha dificultad metodológica, en el cual la respuesta correcta para cada categoría fue asignada a un estímulo visual de diferente color (Corto-Naranja o Largo-Azul) el cual podía aparecer en cualquier posición de una pantalla (Mendoza et al., 2018). En futuros procedimientos se tomará la cautela necesaria para garantizar la separación en la medición de estas variables. En conjunto los datos del presente proyecto muestran el hallazgo del correlato neuronal del percepto de la concentración de sacarosa en el sistema gustativo de roedores.

La navegación espacial es una conducta esencial que permite a los organismos explorar su medio ambiente y dirigir sus acciones hacia una meta (Epstein et al., 2017). Las variables espaciales como la dirección del movimiento propio son indispensables para alcanzar una consecuencia deseada o evitar un castigo. Anteriormente se pensaba que la información espacial era codificada exclusivamente por regiones especializadas en procesamiento espacial, como el hipocampo y la corteza entorrinal. Sin embargo, de manera reciente, en monos se encontró que áreas que habían sido asociadas exclusivamente con el control sensoriomotor del movimiento de extremidades, también contienen información acerca de la posición y orientación del cuerpo del sujeto en el espacio (Yin et al., 2018). A este respecto, se encontró que la CI codifica la dirección del movimiento del sujeto. Se sabe que la ablación de ambas porciones de la CI resulta en una grave afectación de la navegación espacial en un laberinto de agua de Morris (Nerad et al., 1996). Es probable que esta lesión haya afectado las conexiones entre CI y la corteza entorrinal (Wang et al., 2018), afectando la codificación de la direccionalidad. Por

otra parte, la COF codificó de manera robusta la dirección del movimiento. Neuronas selectivas a la dirección ya han sido registradas en la COF mientras el sujeto resuelve tareas que cuentan con dos o cuatro locaciones espaciales (Feierstein et al., 2006; Lipton et al., 1999; Roesch et al., 2006). Lesionar la COF altera la ejecución en una tarea de forrajeo aloentrico (Corwin et al., 1994), la ejecución en un laberinto radial y en el laberinto de agua de Morris (Kolb et al., 1983). Incluso, la COF también codifica el ángulo de la cabeza, la trayectoria espacial y la velocidad del movimiento en una tarea de discriminación espacial y una tarea de reversión en un laberinto elevado (Riceberg and Shapiro, 2017). Los hallazgos descritos son consistentes con la alta proporción de neuronas selectivas a la dirección identificadas en la COF. En conjunto, los resultados apuntan a un papel predominante para la COF, y con menor alcance para la CI, en la codificación de la dirección del movimiento, una característica esencial en la navegación espacial de conductas dirigidas a la meta.

Igualmente, es importante la detección de la presencia o ausencia de reforzador para la sobrevivencia de los animales. Esta permite la identificación de fuentes de alimento agotadas o reaprovisionadas, y promueve el aprendizaje inducido por error en la predicción de la recompensa (Schultz et al., 1997). Estudios previos han demostrado que la CIa y la COF codifican la omisión del reforzador (Feierstein et al., 2006; Jo and Jung, 2016). Asimismo, se ha descrito que la inhibición quimiogénica de la CIp afecta la capacidad de los sujetos para ajustar sus acciones de acuerdo con el valor actual de la consecuencia sin afectar la ejecución de las respuestas instrumentales (Parkes et al., 2017, 2015). En el presente trabajo se demostró que la CIp, la CIa y la COF responden

de manera diferencial a la presencia o ausencia del reforzador. Los resultados apuntan a una codificación distribuida de la detección de la recompensa, siendo esta un proceso crucial para el aprendizaje y la conducta adaptativa.

Igualdades y diferencias fueron encontradas en las respuestas evocadas de la CI y la COF. La principal similitud es la buena decodificación de la concentración de la sacarosa. La mayor diferencia es la codificación de variables de decisión de manera más temprana y con mayor magnitud en la COF. Además, la COF tiene una mayor cantidad de neuronas que codifican más de una variable de decisión, indicando que tiene una representación más completa de los eventos de la tarea. Dado que se han reportado hallazgos similares empleando estímulos de otra modalidad sensorial (Jo and Jung, 2016; Lak et al., 2014; Lipton et al., 1999; Parkes et al., 2017; Rolls, 2004), se sugiere que COF funge como un núcleo que representa eventos de gran relevancia para la resolución de una tarea, independientemente del estímulo sensorial empleado para guiar la conducta. La COF es una región cerebral bien alimentada para ejecutar esta función dado que recibe conexiones de áreas sensoriales relacionadas con el procesamiento olfativo, gustativo, visual y somatosensorial (Cavada et al., 2000). Es posible que la COF provea de una representación actualizada de la información relacionada con la tarea que es requerida para guiar a la obtención de la mejor consecuencia (Schuck et al., 2018; Stalnaker et al., 2016; Sutton and Barton, 2017).

No obstante, es importante enfatizar que la CI, a pesar de fungir como corteza gustativa primaria, no sólo codificó la dimensión física del estímulo, sino también la psicológica y

otras variables de decisión como la dirección y la detección de la recompensa. Dicho hallazgo difiere con lo reportado en la corteza somatosensorial primaria (S1) de monos entrenados a detectar o discriminar estímulos vibrotáctiles de diferentes frecuencias: S1 representa con alta fidelidad los estímulos aplicados, pero su actividad no covaría con el reporte subjetivo del sujeto (de Lafuente and Romo, 2006, 2005; Hernández et al., 2010; Rossi-Pool et al., 2016). Por ejemplo, las neuronas de S1 siguen respondiendo a estímulos de baja frecuencia, los cuales no fueron detectados por el sujeto y, por tanto, el mono reportó que no hubo estímulo (de Lafuente and Romo, 2005; Rossi-Pool et al., 2016). Por otra parte, la fidelidad con la que son representados los estímulos vibrotáctiles disminuye a lo largo de la vía somatosensorial, mientras las covariaciones entre la actividad neuronal y los juicios perceptuales del sujeto aumentan (de Lafuente and Romo, 2006). Incluso si se entregan los estímulos vibrotáctiles de manera pasiva (sin que haya una tarea de discriminación o detección de por medio), sólo las neuronas de S1 continúan respondiendo (Hernández et al., 2010). Por otra parte, si se entregan los estímulos vibrotáctiles pero hay estímulos visuales que indican cuál es la respuesta correcta, las neuronas de la corteza premotora dorsal ya no codifican los componentes de decisión, pero las neuronas de S1 sí siguen representando los estímulos vibrotáctiles con alta precisión (Rossi-Pool et al., 2016). Las diferencias entre la corteza primaria gustativa y la somatosensorial podría deberse a la prevalencia de un procesamiento top-down en el sistema gustativo. Futuras investigaciones en el sistema gustativo de roedores podrían enfocarse en las diferencias jerárquicas en el procesamiento de la dimensión física de los estímulos y de la codificación de variables de decisión.

12. Conclusión

El sistema gustativo, de animales que reportan de manera activa la intensidad de una solución de sacarosa, representa la concentración de sacarosa percibida mediante un código neuronal que se encuentra en un grupo pequeño y distribuido (no segregado) de neuronas. La intensidad de la sacarosa percibida y las variables de decisión asociadas con la tarea de discriminación y generalización pueden ser decodificadas por poblaciones de neuronas en la Clp, la Cla y la COF.

13. REFERENCIAS

- Accolla, R., Bathellier, B., Petersen, C.C.H., Carleton, A., 2007. Differential spatial representation of taste modalities in the rat gustatory cortex. *J. Neurosci.* 27, 1396–1404. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5188-06.2007>
- Adler, E., Hoon, M.A., Mueller, K.L., Chandrashekar, J., Ryba, N.J., Zuker, C.S., 2000. A novel family of mammalian taste receptors. *Cell* 100, 693–702.
- Allen, G.V., Saper, C.B., Hurley, K.M., Cechetto, D.F., 1991. Organization of visceral and limbic connections in the insular cortex of the rat. *J. Comp. Neurol.* 311, 1–16. <https://doi.org/10.1002/cne.903110102>
- Allen, W.E., Kauvar, I.V., Chen, M.Z., Richman, E.B., Yang, S.J., Chan, K., Gradinaru, V., Deverman, B.E., Luo, L., Deisseroth, K., 2017. Global Representations of Goal-Directed Behavior in Distinct Cell Types of Mouse Neocortex. *Neuron* 94, 891-907.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.04.017>
- Avena, N.M., Rada, P., Hoebel, B.G., 2008. Evidence for sugar addiction: Behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 32, 20–39. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.04.019>
- Averbeck, B.B., Latham, P.E., Pouget, A., 2006. Neural correlations, population coding and computation. *Nature Reviews Neuroscience* 7, 358–366. <https://doi.org/10.1038/nrn1888>
- Averbeck, B.B., Lee, D., 2006. Effects of Noise Correlations on Information Encoding and Decoding. *Journal of Neurophysiology* 95, 3633–3644. <https://doi.org/10.1152/jn.00919.2005>
- Barretto, R.P.J., Gillis-Smith, S., Chandrashekar, J., Yarmolinsky, D.A., Schnitzer, M.J., Ryba, N.J.P., Zuker, C.S., 2015. The neural representation of taste quality at the periphery. *Nature* 517, 373–376. <https://doi.org/10.1038/nature13873>
- Blonde, G.D., Bales, M.B., Spector, A.C., 2015. Extensive lesions in rat insular cortex significantly disrupt taste sensitivity to NaCl and KCl and slow salt discrimination learning. *PLoS ONE* 10, e0117515. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117515>
- Bolding, K.A., Franks, K.M., 2017. Complementary codes for odor identity and intensity in olfactory cortex. *Elife* 6. <https://doi.org/10.7554/eLife.22630>
- Bradley, R.M., 2006. *The Role of the Nucleus of the Solitary Tract in Gustatory Processing*. CRC Press.
- Breslin, P.A.S., 2013. An Evolutionary Perspective on Food and Human Taste. *Current Biology* 23, R409–R418. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.04.010>
- Buzsáki, G., 2010. Neural syntax: cell assemblies, synapse ensembles, and readers. *Neuron* 68, 362–385. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.09.023>
- Carnevale, F., de Lafuente, V., Romo, R., Parga, N., 2013. An optimal decision population code that accounts for correlated variability unambiguously predicts a subject's choice. *Neuron* 80, 1532–1543. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.09.023>

- Castro, D.C., Berridge, K.C., 2017. Opioid and orexin hedonic hotspots in rat orbitofrontal cortex and insula. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114, E9125–E9134. <https://doi.org/10.1073/pnas.1705753114>
- Cavada, C., Compañy, T., Tejedor, J., Cruz-Rizzolo, R.J., Reinoso-Suárez, F., 2000. The anatomical connections of the macaque monkey orbitofrontal cortex. A review. *Cereb. Cortex* 10, 220–242.
- Cavanaugh, A.R., Schwartz, G.J., Blouet, C., 2015. High-Fat Feeding Impairs Nutrient Sensing and Gut Brain Integration in the Caudomedial Nucleus of the Solitary Tract in Mice. *PLOS ONE* 10, e0118888. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118888>
- Cechetto, D.F., Saper, C.B., 1987. Evidence for a viscerotopic sensory representation in the cortex and thalamus in the rat. *J. Comp. Neurol.* 262, 27–45. <https://doi.org/10.1002/cne.902620104>
- Chandrashekar, J., Hoon, M.A., Ryba, N.J.P., Zuker, C.S., 2006. The receptors and cells for mammalian taste. *Nature* 444, 288–294. <https://doi.org/10.1038/nature05401>
- Chaudhari, N., Roper, S.D., 2010. The cell biology of taste. *J. Cell Biol.* 190, 285–296. <https://doi.org/10.1083/jcb.201003144>
- Chen, C.S.-Y., Bench, E.M., Allerton, T.D., Schreiber, A.L., Arceneaux, K.P., Primeaux, S.D., 2013. Preference for linoleic acid in obesity-prone and obesity-resistant rats is attenuated by the reduction of CD36 on the tongue. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 305, R1346–R1355. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00582.2012>
- Chen, X., Gabitto, M., Peng, Y., Ryba, N.J.P., Zuker, C.S., 2011. A gustotopic map of taste qualities in the mammalian brain. *Science* 333, 1262–1266. <https://doi.org/10.1126/science.1204076>
- Cohen, M.R., Kohn, A., 2011. Measuring and interpreting neuronal correlations. *Nature Neuroscience* 14, 811–819. <https://doi.org/10.1038/nn.2842>
- Corwin, J.V., Fussinger, M., Meyer, R.C., King, V.R., Reep, R.L., 1994. Bilateral destruction of the ventrolateral orbital cortex produces allocentric but not egocentric spatial deficits in rats. *Behavioural Brain Research* 61, 79–86. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(94\)90010-8](https://doi.org/10.1016/0166-4328(94)90010-8)
- de Araujo, I.E., Gutierrez, R., Oliveira-Maia, A.J., Pereira, A., Nicolelis, M.A.L., Simon, S.A., 2006. Neural ensemble coding of satiety states. *Neuron* 51, 483–494. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.07.009>
- de Lafuente, V., Romo, R., 2006. Neural correlate of subjective sensory experience gradually builds up across cortical areas. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 14266–14271. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605826103>
- de Lafuente, V., Romo, R., 2005. Neuronal correlates of subjective sensory experience. *Nature Neuroscience* 8, 1698–1703. <https://doi.org/10.1038/nn1587>
- Di Lorenzo, P.M., Leshchinskiy, S., Moroney, D.N., Ozdoba, J.M., 2009. Making time count: functional evidence for temporal coding of taste sensation. *Behav. Neurosci.* 123, 14–25. <https://doi.org/10.1037/a0014176>
- Di Lorenzo, P.M., Victor, J.D., 2003. Taste response variability and temporal coding in the nucleus of the solitary tract of the rat. *J. Neurophysiol.* 90, 1418–1431. <https://doi.org/10.1152/jn.00177.2003>
- DiLorenzo, P.M., Victor, J.D., 2013. *Spike Timing: Mechanisms and Function*. CRC Press.
- Engel, A.K., Fries, P., Singer, W., 2001. Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top-down processing. *Nat. Rev. Neurosci.* 2, 704–716. <https://doi.org/10.1038/35094565>
- Epstein, R.A., Patai, E.Z., Julian, J.B., Spiers, H.J., 2017. The cognitive map in humans: spatial navigation and beyond. *Nature Neuroscience* 20, 1504–1513. <https://doi.org/10.1038/nn.4656>
- Erickson, R.P., 2008. A study of the science of taste: on the origins and influence of the core ideas. *Behav Brain Sci* 31, 59–75; discussion 75–105. <https://doi.org/10.1017/S0140525X08003348>
- Escobar, M.L., Bermúdez-Rattoni, F., 2000. Long-term potentiation in the insular cortex enhances conditioned taste aversion retention. *Brain Res.* 852, 208–212.
- Feierstein, C.E., Quirk, M.C., Uchida, N., Sosulski, D.L., Mainen, Z.F., 2006. Representation of spatial goals in rat orbitofrontal cortex. *Neuron* 51, 495–507. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.06.032>
- Field, D.J., 1994. What is the Goal of Sensory Coding? *Neural Comput.* 6, 559–601. <https://doi.org/10.1162/neco.1994.6.4.559>
- Fletcher, M.L., Ogg, M.C., Lu, L., Ogg, R.J., Boughter, J.D., 2017. Overlapping Representation of Primary Tastes in a Defined Region of the Gustatory Cortex. *J. Neurosci.* 37, 7595–7605. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0649-17.2017>
- Gardner, M.P.H., Fontanini, A., 2014. Encoding and tracking of outcome-specific expectancy in the gustatory cortex of alert rats. *J. Neurosci.* 34, 13000–13017. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1820-14.2014>

- Gilbertson, T.A., Boughter, J.D., Zhang, H., Smith, D.V., 2001. Distribution of Gustatory Sensitivities in Rat Taste Cells: Whole-Cell Responses to Apical Chemical Stimulation. *J. Neurosci.* 21, 4931–4941. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-13-04931.2001>
- Giza, B.K., Scott, T.R., Vanderweele, D.A., 1992. Administration of satiety factors and gustatory responsiveness in the nucleus tractus solitarius of the rat. *Brain Res. Bull.* 28, 637–639.
- Green, D.M., Swets, J.A., 1966. Signal detection theory and psychophysics. Wiley.
- Grill, H.J., Norgren, R., 1978a. The taste reactivity test. II. Mimetic responses to gustatory stimuli in chronic thalamic and chronic decerebrate rats. *Brain Res.* 143, 281–297.
- Grill, H.J., Norgren, R., 1978b. Chronically decerebrate rats demonstrate satiation but not bait shyness. *Science* 201, 267–269.
- Gutierrez, R., Carmena, J.M., Nicolelis, M.A.L., Simon, S.A., 2006. Orbitofrontal ensemble activity monitors licking and distinguishes among natural rewards. *J. Neurophysiol.* 95, 119–133. <https://doi.org/10.1152/jn.00467.2005>
- Gutierrez, R., Simon, S.A., 2011. Chemosensory processing in the taste - reward pathway. *Flavour Fragr J* 26, 231–238. <https://doi.org/10.1002/ffj.2050>
- Gutierrez, R., Simon, S.A., Nicolelis, M.A.L., 2010. Licking-induced synchrony in the taste-reward circuit improves cue discrimination during learning. *J. Neurosci.* 30, 287–303. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0855-09.2010>
- Han, W., Tellez, L.A., Perkins, M.H., Perez, I.O., Qu, T., Ferreira, J., Ferreira, T.L., Quinn, D., Liu, Z.-W., Gao, X.-B., Kaelberer, M.M., Bohórquez, D.V., Shammah-Lagnado, S.J., de Lartigue, G., de Araujo, I.E., 2018. A Neural Circuit for Gut-Induced Reward. *Cell* 175, 665-678.e23. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.08.049>
- Hashimoto, K., Spector, A.C., 2014. Extensive lesions in the gustatory cortex in the rat do not disrupt the retention of a presurgically conditioned taste aversion and do not impair unconditioned concentration-dependent licking of sucrose and quinine. *Chem. Senses* 39, 57–71. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjt054>
- Hayama, T., Ito, S., Ogawa, H., 1985. Responses of solitary tract nucleus neurons to taste and mechanical stimulations of the oral cavity in decerebrate rats. *Exp Brain Res* 60, 235–242.
- Hernández, A., Nácher, V., Luna, R., Zainos, A., Lemus, L., Alvarez, M., Vázquez, Y., Camarillo, L., Romo, R., 2010. Decoding a perceptual decision process across cortex. *Neuron* 66, 300–314. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.03.031>
- Hirokawa, J., Vaughan, A., Kepecs, A., 2017. Categorical Representations Of Decision-Variables In Orbitofrontal Cortex. *bioRxiv* 135707. <https://doi.org/10.1101/135707>
- Huang, A.L., Chen, X., Hoon, M.A., Chandrashekar, J., Guo, W., Tränkner, D., Ryba, N.J.P., Zuker, C.S., 2006. The cells and logic for mammalian sour taste detection. *Nature* 442, 934–938. <https://doi.org/10.1038/nature05084>
- Ishii, H., Ohara, S., Tobler, P.N., Tsutsui, K.-I., Iijima, T., 2015. Dopaminergic and serotonergic modulation of anterior insular and orbitofrontal cortex function in risky decision making. *Neurosci. Res.* 92, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2014.11.009>
- Ishii, H., Ohara, S., Tobler, P.N., Tsutsui, K.-I., Iijima, T., 2012. Inactivating Anterior Insular Cortex Reduces Risk Taking. *J. Neurosci.* 32, 16031–16039. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2278-12.2012>
- Jarvis, M.R., Mitra, P.P., 2001. Sampling properties of the spectrum and coherency of sequences of action potentials. *Neural Comput* 13, 717–749.
- Jezzini, A., Caruana, F., Stoianov, I., Gallese, V., Rizzolatti, G., 2012. Functional organization of the insula and inner perisylvian regions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, 10077–10082. <https://doi.org/10.1073/pnas.1200143109>
- Jo, S., Jung, M.W., 2016. Differential coding of uncertain reward in rat insular and orbitofrontal cortex. *Sci Rep* 6, 24085. <https://doi.org/10.1038/srep24085>
- Katz, D.B., Simon, S.A., Nicolelis, M.A., 2001. Dynamic and multimodal responses of gustatory cortical neurons in awake rats. *J. Neurosci.* 21, 4478–4489.
- Katz, D.B., Simon, S.A., Nicolelis, M.A.L., 2002. Taste-specific neuronal ensembles in the gustatory cortex of awake rats. *J. Neurosci.* 22, 1850–1857.
- Kepecs, A., Uchida, N., Zariwala, H.A., Mainen, Z.F., 2008. Neural correlates, computation and behavioural impact of decision confidence. *Nature* 455, 227–231. <https://doi.org/10.1038/nature07200>
- King, M.S., 2007. Anatomy of the Rostral Nucleus of the Solitary Tract, in: *The Role of the Nucleus of the Solitary Tract in Gustatory Processing*. CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton (FL).

- Kobayashi, M., 2011. Macroscopic connection of rat insular cortex: anatomical bases underlying its physiological functions. *Int. Rev. Neurobiol.* 97, 285–303. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385198-7.00011-4>
- Kolb, B., Sutherland, R.J., Whishaw, I.Q., 1983. A comparison of the contributions of the frontal and parietal association cortex to spatial localization in rats. *Behav. Neurosci.* 97, 13–27.
- Kovacs, P., Hajnal, A., 2008. Altered pontine taste processing in a rat model of obesity. *J. Neurophysiol.* 100, 2145–2157. <https://doi.org/10.1152/jn.01359.2007>
- Lak, A., Costa, G.M., Romberg, E., Koulakov, A.A., Mainen, Z.F., Kepecs, A., 2014. Orbitofrontal cortex is required for optimal waiting based on decision confidence. *Neuron* 84, 190–201. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.08.039>
- Lara, A.H., Kennerley, S.W., Wallis, J.D., 2009. Encoding of gustatory working memory by orbitofrontal neurons. *J. Neurosci.* 29, 765–774. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4637-08.2009>
- Lipton, P.A., Alvarez, P., Eichenbaum, H., 1999. Crossmodal associative memory representations in rodent orbitofrontal cortex. *Neuron* 22, 349–359.
- Liu, D., Gu, X., Zhu, J., Zhang, X., Han, Z., Yan, W., Cheng, Q., Hao, J., Fan, H., Hou, R., Chen, Z., Chen, Y., Li, C.T., 2014. Medial prefrontal activity during delay period contributes to learning of a working memory task. *Science* 346, 458–463. <https://doi.org/10.1126/science.1256573>
- Livneh, Y., Ramesh, R.N., Burgess, C.R., Levandowski, K.M., Madara, J.C., Fenselau, H., Goldey, G.J., Diaz, V.E., Jikomes, N., Resch, J.M., Lowell, B.B., Andermann, M.L., 2017. Homeostatic circuits selectively gate food cue responses in insular cortex. *Nature* 546, 611–616. <https://doi.org/10.1038/nature22375>
- MacDonald, C.J., Meck, W.H., Simon, S.A., 2012. Distinct neural ensembles in the rat gustatory cortex encode salt and water tastes. *J. Physiol. (Lond.)* 590, 3169–3184. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.233486>
- MacDonald, C.J., Meck, W.H., Simon, S.A., Nicolelis, M.A.L., 2009. Taste-guided decisions differentially engage neuronal ensembles across gustatory cortices. *J. Neurosci.* 29, 11271–11282. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1033-09.2009>
- Mendoza, G., Méndez, J.C., Pérez, O., Prado, L., Merchant, H., 2018. Neural basis for categorical boundaries in the primate pre-SMA during relative categorization of time intervals. *Nat Commun* 9, 1098. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03482-8>
- Meyers, E., 2013. The neural decoding toolbox. *Front. Neuroinform.* 7. <https://doi.org/10.3389/fninf.2013.00008>
- Mizoguchi, H., Katahira, K., Inutsuka, A., Fukumoto, K., Nakamura, A., Wang, T., Nagai, T., Sato, J., Sawada, M., Ohira, H., Yamanaka, A., Yamada, K., 2015. Insular neural system controls decision-making in healthy and methamphetamine-treated rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112, E3930–3939. <https://doi.org/10.1073/pnas.1418014112>
- Mueller, K.L., Hoon, M.A., Erlenbach, I., Chandrashekar, J., Zuker, C.S., Ryba, N.J.P., 2005. The receptors and coding logic for bitter taste. *Nature* 434, 225–229. <https://doi.org/10.1038/nature03352>
- Nelson, G., Chandrashekar, J., Hoon, M.A., Feng, L., Zhao, G., Ryba, N.J.P., Zuker, C.S., 2002. An amino-acid taste receptor. *Nature* 416, 199–202. <https://doi.org/10.1038/nature726>
- Nerad, L., Ramírez-Amaya, V., Ormsby, C.E., Bermúdez-Rattoni, F., 1996. Differential effects of anterior and posterior insular cortex lesions on the acquisition of conditioned taste aversion and spatial learning. *Neurobiol Learn Mem* 66, 44–50.
- Nogueira, R., Abolafia, J.M., Drugowitsch, J., Balaguer-Ballester, E., Sanchez-Vives, M.V., Moreno-Bote, R., 2017. Lateral orbitofrontal cortex anticipates choices and integrates prior with current information. *Nat Commun* 8, 14823. <https://doi.org/10.1038/ncomms14823>
- Norgren, R., 1976. Taste pathways to hypothalamus and amygdala. *J. Comp. Neurol.* 166, 17–30. <https://doi.org/10.1002/cne.901660103>
- Norgren, R., 1974. Gustatory afferents to ventral forebrain. *Brain Res.* 81, 285–295.
- Ogawa, H., Hayama, T., Yamashita, Y., 1988. Thermal sensitivity of neurons in a rostral part of the rat solitary tract nucleus. *Brain Res.* 454, 321–331.
- Ogawa, H., Ito, S., Murayama, N., Hasegawa, K., 1990. Taste area in granular and dysgranular insular cortices in the rat identified by stimulation of the entire oral cavity. *Neurosci. Res.* 9, 196–201.
- Olshausen, B.A., Field, D.J., 2004. Sparse coding of sensory inputs. *Curr. Opin. Neurobiol.* 14, 481–487. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2004.07.007>

- Ongür, D., Price, J.L., 2000. The organization of networks within the orbital and medial prefrontal cortex of rats, monkeys and humans. *Cereb. Cortex* 10, 206–219.
- Parkes, S.L., Bradfield, L.A., Balleine, B.W., 2015. Interaction of insular cortex and ventral striatum mediates the effect of incentive memory on choice between goal-directed actions. *J. Neurosci.* 35, 6464–6471. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4153-14.2015>
- Parkes, S.L., Ravassard, P.M., Cerpa, J.-C., Wolff, M., Ferreira, G., Coutureau, E., 2017. Insular and Ventrolateral Orbitofrontal Cortices Differentially Contribute to Goal-Directed Behavior in Rodents. *Cereb. Cortex* 1–13. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx132>
- Peng, Y., Gillis-Smith, S., Jin, H., Tränkner, D., Ryba, N.J.P., Zuker, C.S., 2015. Sweet and bitter taste in the brain of awake behaving animals. *Nature* 527, 512–515. <https://doi.org/10.1038/nature15763>
- Perez, I.O., Villavicencio, M., Simon, S.A., Gutierrez, R., 2013. Speed and accuracy of taste identification and palatability: impact of learning, reward expectancy, and consummatory licking. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 305, R252–270. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00492.2012>
- Pfaffmann, C., 1955. Gustatory nerve impulses in rat, cat and rabbit. *J. Neurophysiol.* 18, 429–440. <https://doi.org/10.1152/jn.1955.18.5.429>
- Pfaffmann, C., Norgren, R., Grill, H.J., 1977. Sensory affect and motivation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 290, 18–34.
- Preuschoff, K., Quartz, S.R., Bossaerts, P., 2008. Human Insula Activation Reflects Risk Prediction Errors As Well As Risk. *J. Neurosci.* 28, 2745–2752. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4286-07.2008>
- Price, J.L., 2007. Definition of the orbital cortex in relation to specific connections with limbic and visceral structures and other cortical regions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1121, 54–71. <https://doi.org/10.1196/annals.1401.008>
- Pritchard, T.C., Edwards, E.M., Smith, C.A., Hilgert, K.G., Gavlick, A.M., Maryniak, T.D., Schwartz, G.J., Scott, T.R., 2005. Gustatory neural responses in the medial orbitofrontal cortex of the old world monkey. *J. Neurosci.* 25, 6047–6056. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0430-05.2005>
- Ramírez-Lugo, L., Peñas-Rincón, A., Ángeles-Durán, S., Sotres-Bayon, F., 2016. Choice Behavior Guided by Learned, But Not Innate, Taste Aversion Recruits the Orbitofrontal Cortex. *J. Neurosci.* 36, 10574–10583. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0796-16.2016>
- Reiter, S., Campillo Rodriguez, C., Sun, K., Stopfer, M., 2015. Spatiotemporal Coding of Individual Chemicals by the Gustatory System. *J. Neurosci.* 35, 12309–12321. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3802-14.2015>
- Riceberg, J.S., Shapiro, M.L., 2017. Orbitofrontal Cortex Signals Expected Outcomes with Predictive Codes When Stable Contingencies Promote the Integration of Reward History. *J. Neurosci.* 37, 2010–2021. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2951-16.2016>
- Roesch, M.R., Taylor, A.R., Schoenbaum, G., 2006. Encoding of time-discounted rewards in orbitofrontal cortex is independent of value representation. *Neuron* 51, 509–520. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.06.027>
- Rolls Edmund T., Sienkiewicz Zenon J., Yaxley Simon, 2006. Hunger Modulates the Responses to Gustatory Stimuli of Single Neurons in the Caudolateral Orbitofrontal Cortex of the Macaque Monkey. *European Journal of Neuroscience* 1, 53–60. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1989.tb00774.x>
- Rolls, E.T., 2004. The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain Cogn* 55, 11–29. [https://doi.org/10.1016/S0278-2626\(03\)00277-X](https://doi.org/10.1016/S0278-2626(03)00277-X)
- Rolls, E.T., Sienkiewicz, Z.J., Yaxley, S., 1989. Hunger Modulates the Responses to Gustatory Stimuli of Single Neurons in the Caudolateral Orbitofrontal Cortex of the Macaque Monkey. *Eur. J. Neurosci.* 1, 53–60.
- Rolls, E.T., Yaxley, S., Sienkiewicz, Z.J., 1990. Gustatory responses of single neurons in the caudolateral orbitofrontal cortex of the macaque monkey. *J. Neurophysiol.* 64, 1055–1066. <https://doi.org/10.1152/jn.1990.64.4.1055>
- Rossi-Pool, R., Salinas, E., Zainos, A., Alvarez, M., Vergara, J., Parga, N., Romo, R., 2016. Emergence of an abstract categorical code enabling the discrimination of temporally structured tactile stimuli. *PNAS* 113, E7966–E7975. <https://doi.org/10.1073/pnas.1618196113>
- Roussin, A.T., D’Agostino, A.E., Fooden, A.M., Victor, J.D., Di Lorenzo, P.M., 2012. Taste coding in the nucleus of the solitary tract of the awake, freely licking rat. *J. Neurosci.* 32, 10494–10506. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1856-12.2012>

- Schuck, N.W., Wilson, R.C., Niv, Y., 2018. A state representation for reinforcement learning and decision-making in the orbitofrontal cortex. *bioRxiv* 210591. <https://doi.org/10.1101/210591>
- Schultz, W., Dayan, P., Montague, P.R., 1997. A neural substrate of prediction and reward. *Science* 275, 1593–1599.
- Scott, T.R., Plata-Salaman, C.R., Smith, V.L., Giza, B.K., 1991. Gustatory neural coding in the monkey cortex: stimulus intensity. *J. Neurophysiol.* 65, 76–86. <https://doi.org/10.1152/jn.1991.65.1.76>
- Shi, C.J., Cassell, M.D., 1998. Cortical, thalamic, and amygdaloid connections of the anterior and posterior insular cortices. *J. Comp. Neurol.* 399, 440–468.
- Smith, D.V., John, S.J., Boughter, J.D., 2000. Neuronal cell types and taste quality coding. *Physiol. Behav.* 69, 77–85.
- Spector, A.C., Guagliardo, N.A., St John, S.J., 1996. Amiloride disrupts NaCl versus KCl discrimination performance: implications for salt taste coding in rats. *J. Neurosci.* 16, 8115–8122.
- Spector, A.C., Klumpp, P.A., Kaplan, J.M., 1998. Analytical issues in the evaluation of food deprivation and sucrose concentration effects on the microstructure of licking behavior in the rat. *Behav. Neurosci.* 112, 678–694.
- Spector, A.C., Smith, J.C., 1984. A detailed analysis of sucrose drinking in the rat. *Physiol. Behav.* 33, 127–136.
- Stalnaker, T.A., Berg, B., Aujla, N., Schoenbaum, G., 2016. Cholinergic Interneurons Use Orbitofrontal Input to Track Beliefs about Current State. *J. Neurosci.* 36, 6242–6257. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0157-16.2016>
- Stapleton, J.R., Lavine, M.L., Wolpert, R.L., Nicolelis, M.A.L., Simon, S.A., 2006. Rapid taste responses in the gustatory cortex during licking. *J. Neurosci.* 26, 4126–4138. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0092-06.2006>
- Stüttgen, M.C., Schwarz, C., 2008. Psychophysical and neurometric detection performance under stimulus uncertainty. *Nat. Neurosci.* 11, 1091–1099. <https://doi.org/10.1038/nn.2162>
- Stüttgen, M.C., Schwarz, C., Jäkel, F., 2011. Mapping spikes to sensations. *Front Neurosci* 5, 125. <https://doi.org/10.3389/fnins.2011.00125>
- Sugita, M., Shiba, Y., 2005. Genetic tracing shows segregation of taste neuronal circuitries for bitter and sweet. *Science* 309, 781–785. <https://doi.org/10.1126/science.1110787>
- Sutton, R.S., Barton, A.G., 2017. Reinforcement Learning: An Introduction. The MIT Press, Cambridge, Massachusetts.
- Teff, K.L., 2008. Visceral nerves: vagal and sympathetic innervation. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 32, 569–571. <https://doi.org/10.1177/0148607108321705>
- Thorpe, S.J., Rolls, E.T., Maddison, S., 1983. The orbitofrontal cortex: neuronal activity in the behaving monkey. *Exp Brain Res* 49, 93–115.
- Tomchik, S.M., Berg, S., Kim, J.W., Chaudhari, N., Roper, S.D., 2007. Breadth of tuning and taste coding in mammalian taste buds. *J. Neurosci.* 27, 10840–10848. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1863-07.2007>
- Travers, J.B., DiNardo, L.A., Karimnamazi, H., 2000. Medullary reticular formation activity during ingestion and rejection in the awake rat. *Exp Brain Res* 130, 78–92.
- Tremblay, L., Schultz, W., 1999. Relative reward preference in primate orbitofrontal cortex. *Nature* 398, 704–708. <https://doi.org/10.1038/19525>
- Uchida, N., Mainen, Z.F., 2003. Speed and accuracy of olfactory discrimination in the rat. *Nat. Neurosci.* 6, 1224–1229. <https://doi.org/10.1038/nn1142>
- Veldhuizen, M.G., Babbs, R.K., Patel, B., Fobbs, W., Kroemer, N.B., Garcia, E., Yeomans, M.R., Small, D.M., 2017. Integration of Sweet Taste and Metabolism Determines Carbohydrate Reward. *Curr. Biol.* 27, 2476–2485.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.07.018>
- Verhagen, J.V., Kadohisa, M., Rolls, E.T., 2004. Primate insular/opercular taste cortex: neuronal representations of the viscosity, fat texture, grittiness, temperature, and taste of foods. *J. Neurophysiol.* 92, 1685–1699. <https://doi.org/10.1152/jn.00321.2004>
- Villavicencio, M., Moreno, M.G., Simon, S.A., Gutierrez, R., 2018. Encoding of Sucrose's Palatability in the Nucleus Accumbens Shell and Its Modulation by Exteroceptive Auditory Cues. *Front Neurosci* 12, 265. <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00265>
- Wang, L., Gillis-Smith, S., Peng, Y., Zhang, J., Chen, X., Salzman, C.D., Ryba, N.J.P., Zuker, C.S., 2018. The coding of valence and identity in the mammalian taste system. *Nature* 558, 127–131. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0165-4>

- Wu, A., Dvoryanchikov, G., Pereira, E., Chaudhari, N., Roper, S.D., 2015. Breadth of tuning in taste afferent neurons varies with stimulus strength. *Nat Commun* 6, 8171. <https://doi.org/10.1038/ncomms9171>
- Yamamoto, T., Matsuo, R., Kawamura, Y., 1980. Localization of cortical gustatory area in rats and its role in taste discrimination. *Journal of Neurophysiology* 44, 440–455. <https://doi.org/10.1152/jn.1980.44.3.440>
- Yamamoto, T., Matsuo, R., Kiyomitsu, Y., Kitamura, R., 1989. Taste responses of cortical neurons in freely ingesting rats. *J. Neurophysiol.* 61, 1244–1258. <https://doi.org/10.1152/jn.1989.61.6.1244>
- Yaxley, S., Rolls, E.T., Sienkiewicz, Z.J., 1990. Gustatory responses of single neurons in the insula of the macaque monkey. *J. Neurophysiol.* 63, 689–700. <https://doi.org/10.1152/jn.1990.63.4.689>
- Yin, A., Tseng, P.H., Rajangam, S., Lebedev, M.A., Nicolelis, M. a. L., 2018. Place Cell-Like Activity in the Primary Sensorimotor and Premotor Cortex During Monkey Whole-Body Navigation. *Sci Rep* 8, 9184. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27472-4>
- Yoshida, R., Miyauchi, A., Yasuo, T., Jyotaki, M., Murata, Y., Yasumatsu, K., Shigemura, N., Yanagawa, Y., Obata, K., Ueno, H., Margolskee, R.F., Ninomiya, Y., 2009. Discrimination of taste qualities among mouse fungiform taste bud cells. *J. Physiol. (Lond.)* 587, 4425–4439. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.175075>
- Yoshida, R., Ninomiya, Y., 2010. New insights into the signal transmission from taste cells to gustatory nerve fibers. *Int Rev Cell Mol Biol* 279, 101–134. [https://doi.org/10.1016/S1937-6448\(10\)79004-3](https://doi.org/10.1016/S1937-6448(10)79004-3)
- Zhang, X., Wang, Y., Long, Y., Wang, L., Li, Y., Gao, F., Tian, H., 2013. Alteration of sweet taste in high-fat diet induced obese rats after 4 weeks treatment with exenatide. *Peptides* 47, 115–123. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2013.07.015>
- Zocchi, D., Wennemuth, G., Oka, Y., 2017. The cellular mechanism for water detection in the mammalian taste system. *Nat. Neurosci.* 20, 927–933. <https://doi.org/10.1038/nn.4575>
- Zohary, E., Shadlen, M.N., Newsome, W.T., 1994. Correlated neuronal discharge rate and its implications for psychophysical performance. *Nature* 370, 140–143. <https://doi.org/10.1038/370140a0>

14. Tablas de estadísticos

Fig	Prueba	Variables		Estadístico	p	Post hoc	Grupos	p
4. Conducta	t de Student pareada	Ejecución antes y después de la cirugía		t(27)=0.95	n.s			
		Generalización antes y después de la cirugía		t(7)=1.43	n.s			
	ANOVA de 1 vía	Ejecución por estructura		F(2, 87)=0.29	n.s	Dunnett	T3 vs T18	<0.0001
	ANOVA de 1 vía	Latencias por tipo de ensayo por cada ensayo	Estímulo por concentración	F(7, 1360)=17.10	<0.0001		T3 vs 0	n.s
							T3 vs 3	n.s
							T3 vs 4.75	<0.01
							T3 vs 7.5	<0.0001
							T3 vs 11.75	<0.0001
	t de Student no pareada		Respuesta (izquierda vs derecha)	t(892)=0.49	n.s			
			Regreso (izquierda vs derecha)	t(892)=2.65	<0.01			
Inseguencia (reforzado vs no reforzado)			t(892)=10.66	<0.0001				
9. Coherencia	ANOVA de 1 vía	Valor de coherencia (espigas vs lengüeteos) por periodo	pIC	F(2, 2316)=226	<0.0001	Dunnett	pre-Estímulo vs Estímulo	<0.0001
			aIC	F(2, 2064)=189.6	<0.0001		pre-Estímulo vs Consecuencia	n.s
			OFC	F(2, 1208)=112	<0.0001		pre-Estímulo vs Estímulo	<0.0001
12. Decodificador: NonSel vs Sel	ANOVA de 1 vía	Ejecución del decodificador por grupos (No evocadas, Todas, No selectivas, Intensidad-selectivas)	Clp	F(3, 120)=62.31	<0.0001	Bonferroni	No evo vs Todas	<0.0001
							No evo vs No sel	<0.01
							No evo vs Inten-Sel	<0.0001
							Todas vs Inten-Sel	n.s
			Cla	F(3, 120)=102.7	<0.0001	Bonferroni	No evo vs Todas	<0.0001
							No evo vs No sel	<0.0001
							No evo vs Inten-Sel	<0.0001
							Todas vs Inten-Sel	<0.0001
			COF	F(3, 120)=46.55	<0.0001	Bonferroni	No evo vs Todas	<0.0001
							No evo vs No sel	<0.01
							No evo vs Inten-Sel	<0.0001
							Todas vs Inten-Sel	n.s

Fig	Prueba	Variables		Estadístico	p	Post hoc	Grupos	p
12. Decodificador: spike timing	t de Student pareada	Spike timing: Ejecución del decodificador antes y después del barajeo de espigas	Clp	No evocadas	t(30)=1.72	n.s		
				Todas	t(30)=10.23	<0.0001		
				No selectivas	t(30)=5.98	<0.0001		
				Intensidad-selectivas	t(30)=8.49	<0.0001		
			Cla	No evocadas	t(30)=1.39	n.s		
				Todas	t(30)=14.22	<0.0001		
				No selectivas	t(30)=19.04	<0.0001		
				Intensidad-selectivas	t(30)=8.63	<0.0001		
			COF	No evocadas	t(30)=9.89	<0.0001		
				Todas	t(30)=8.74	<0.0001		
				No selectivas	t(30)=6.61	<0.0001		
				Intensidad-selectivas	t(30)=6.95	<0.0001		
12. Decodificador: correlación de ruido	t de Student pareada	Correlación de ruido: Ejecución del decodificador antes y después del barajeo de ensayos	Clp	No evocadas	t(30)=0.06	n.s		
				Todas	t(30)=1.05	n.s		
				No selectivas	t(30)=0.96	n.s		
				Intensidad-selectivas	t(30)=0.47	n.s		
			Cla	No evocadas	t(30)=0.48	n.s		
				Todas	t(30)=1.25	n.s		
				No selectivas	t(30)=0.62	n.s		
				Intensidad-selectivas	t(30)=1.004	n.s		
			COF	No evocadas	t(30)=0.64	n.s		
				Todas	t(30)=0.66	n.s		
				No selectivas	t(30)=0.68	n.s		
				Intensidad-selectivas	t(30)=0.74	n.s		
15. Decisión	Correlación de Pearson	Correlación entre curva neurométrica y psicométrica	Cla	r ² =0.99	<0.0001			
			COF	r ² =0.99	<0.0001			

Fig	Prueba	Variables	Estadístico	p	Post hoc	Grupos	p
17. Dirección	Chi cuadrada	Proporción de neuronas selectivas a la Izquierda vs Derecha	Clp	$\chi^2=59.95$	<0.0001		
			Cla	$\chi^2=27.13$	<0.0001		
			COF	$\chi^2=52.26$	<0.0001		
		Proporción de neuronas selectivas a la Dirección	Clp vs Cla	$\chi^2=0.001$	n.s		
			Clp vs COF	$\chi^2=23.85$	<0.0001		
			COF vs Cla	$\chi^2=22.32$	<0.0001		
18. Consecuencia	Chi cuadrada	Proporción de neuronas Inactivas vs Activas	Clp	$\chi^2=72.88$	<0.0001		
			Cla	$\chi^2=12.05$	0.0005		
			COF	$\chi^2=1.079$	n.s		
		Proporción de neuronas de Consecuencia	Clp vs Cla	$\chi^2=0.02$	n.s		
			Clp vs COF	$\chi^2=0.23$	n.s		
			COF vs Cla	$\chi^2=0.34$	n.s		

Tabla	Prueba	Variables	Estadístico	p	Post hoc	Grupos	p				
1. Proporción de neuronas con respuestas evocadas y no evocadas	Chi cuadrada	Proporción de tipo de respuesta por estructura	Fásica	Clp vs Cla	$\chi^2=0.03$	n.s					
				Clp vs COF	$\chi^2=10.73$	<0.001					
				Cla vs COF	$\chi^2=11.29$	<0.001					
			Tónica-decreciente	Clp vs Cla	$\chi^2=0.45$	n.s					
				Clp vs COF	$\chi^2=86.45$	<0.0001					
				Cla vs COF	$\chi^2=68.96$	<0.0001					
			Tónica-creciente	Clp vs Cla	$\chi^2=1.57$	n.s					
				Clp vs COF	$\chi^2=34.95$	<0.0001					
				Cla vs COF	$\chi^2=20.48$	<0.0001					
			Coherente-decreciente	Clp vs Cla	$\chi^2=2.16$	n.s					
				Clp vs COF	$\chi^2=37.31$	<0.0001					
				Cla vs COF	$\chi^2=21.59$	<0.0001					
			Coherente-creciente	Clp vs Cla	$\chi^2=8.85$	<0.01					
				Clp vs COF	$\chi^2=64.53$	<0.0001					
				Cla vs COF	$\chi^2=107$	<0.0001					
			No evocada	Clp vs Cla	$\chi^2=44.65$	<0.0001					
				Clp vs COF	$\chi^2=3.03$	n.s					
				Cla vs COF	$\chi^2=23.72$	<0.0001					
			2. Proporción de neuronas con respuesta evocada: No selectivas	Chi cuadrada	Proporción de neuronas No selectivas por estructura	Fásica	Clp vs Cla	$\chi^2=0.54$	n.s		
							Clp vs COF	$\chi^2=6.97$	<0.01		
							Cla vs COF	$\chi^2=10.37$	<0.01		
Tónica-decreciente	Clp vs Cla	$\chi^2=0.34$				n.s					
	Clp vs COF	$\chi^2=70.62$				<0.0001					
	Cla vs COF	$\chi^2=56.69$				<0.0001					
Tónica-creciente	Clp vs Cla	$\chi^2=0.14$				n.s					
	Clp vs COF	$\chi^2=17.53$				<0.0001					
	Cla vs COF	$\chi^2=13.55$				<0.001					
Coherente-decreciente	Clp vs Cla	$\chi^2=1.26$				n.s					
	Clp vs COF	$\chi^2=36.27$				<0.0001					
	Cla vs COF	$\chi^2=23.95$				<0.0001					
Coherente-creciente	Clp vs Cla	$\chi^2=3.77$				<0.05					
	Clp vs COF	$\chi^2=68.17$				<0.0001					
	Cla vs COF	$\chi^2=94.01$				<0.0001					

Tabla	Prueba	Variables		Estadístico	p	Post hoc	Grupos	p	
2. Proporción de neuronas con respuesta evocada: Selectivas a la intensidad	Chi cuadrada	Proporción de neuronas Selectivas por estructura	Fásica	Clp vs Cla	$\chi^2=1.02$	n.s			
				Clp vs COF	$\chi^2=4.10$	<0.05			
				Cla vs COF	$\chi^2=1.22$	n.s			
			Tónica-decreciente	Clp vs Cla	$\chi^2=0.19$	n.s			
				Clp vs COF	$\chi^2=23.93$	<0.0001			
				Cla vs COF	$\chi^2=18.30$	<0.0001			
			Tónica-creciente	Clp vs Cla	$\chi^2=6.13$	<0.05			
				Clp vs COF	$\chi^2=30.61$	<0.0001			
				Cla vs COF	$\chi^2=9.51$	<0.01			
			Coherente-decreciente	Clp vs Cla	$\chi^2=1.44$	n.s			
				Clp vs COF	$\chi^2=4.45$	<0.05			
				Cla vs COF	$\chi^2=0.91$	n.s			
			Coherente-creciente	Clp vs Cla	$\chi^2=10.27$	<0.01			
				Clp vs COF	$\chi^2=2.68$	n.s			
Cla vs COF	$\chi^2=19.35$	<0.0001							

Tabla	Prueba	Variables		Estadístico	p	Post hoc	Grupos	p
3. Ejecución decodificador: Análisis de inclusión (una población a la vez)	ANOVA de 1 vía	Ejecución del decodificador entre No evocadas, Todas, Tónica-decreciente, Tónica-creciente, Coherente decreciente, Coherente creciente, Tónicas, Coherentes	Clp	F(7,240)=50.11	<0.0001	Dunnett	No evo vs Todas	<0.0001
							No evo vs Tón-dec	n.s
							No evo vs Tón-crec	n.s
							No evo vs Coh-dec	<0.0001
							No evo vs Coh-cre	<0.0001
							No evo vs Tónicas	n.s
			Cla	F(7,240)=81.18	<0.0001	Dunnett	No evo vs Coh	<0.0001
							No evo vs Todas	<0.0001
							No evo vs Tón-dec	n.s
							No evo vs Tón-crec	<0.0001
							No evo vs Coh-dec	<0.0001
							No evo vs Coh-cre	<0.0001
			COF	F(7,240)=24.65	<0.0001	Dunnett	No evo vs Tónicas	<0.0001
							No evo vs Coh	<0.0001
							No evo vs Todas	<0.0001
							No evo vs Tón-dec	n.s
							No evo vs Tón-crec	<0.01
							No evo vs Coh-dec	<0.0001
	t de Student no pareada	Ejecución del decodificador No evicadas vs Fásicas (200 ms)			Clp	t(40)=5.36	<0.0001	
Cla					t(40)=5.17	<0.0001		
COF					t(40)=1.52	n.s		

Tabla	Prueba	Variables	Estadístico	p	Post hoc	Grupos	p	
4. Ejecución decodificador: Análisis de exclusión (excluir una población a la vez)	ANOVA de 1 vía	Ejecución del decodificador entre Todas, Tónica-decreciente, Tónica-creciente, Coherente decreciente, Coherente creciente, Tónicas, Coherentes	Clp	F(6,210)=12.03	<0.0001	Dunnnett	Todas vs Tón-dec	n.s
							Todas vs Tón-crec	n.s
							Todas vs Coh-dec	<0.05
							Todas vs Coh-crec	n.s
							Todas vs Tónicas	n.s
			Todas vs Coherentes	<0.0001				
			Cla	F(6,210)=25.34	<0.0001	Dunnnett	Todas vs Tón-dec	n.s
							Todas vs Tón-crec	n.s
							Todas vs Coh-dec	<0.05
							Todas vs Coh-crec	<0.0001
							Todas vs Tónicas	n.s
			Todas vs Coherentes	<0.0001				
			COF	F(6,210)=5.43	<0.0001	Dunnnett	Todas vs Tón-dec	n.s
							Todas vs Tón-crec	n.s
							Todas vs Coh-dec	n.s
	Todas vs Coh-crec	n.s						
	Todas vs Tónicas	n.s						
	Todas vs Coherentes	<0.0001						
t de Student no pareada	Ejecución del decodificador No evicadas vs Fásicas (200 ms)	Clp	t(40)=3.91	0.0003				
		Cla	t(40)=1.44	n.s				
		COF	t(40)=2.40	0.02				

Sucrose intensity coding and decision-making in rat gustatory cortices

Esmeralda Fonseca¹, Victor de Lafuente², Sidney A Simon³, Ranier Gutierrez^{1*}

¹Laboratory of Neurobiology of Appetite, Department of Pharmacology, Center for Research and Advanced Studies of the National Polytechnic Institute, Mexico City, Mexico; ²Institute of Neurobiology, National Autonomous University of Mexico, Juriquilla Querétaro, Mexico; ³Department of Neurobiology, Duke University Medical Center, Durham, United States

Abstract Sucrose's sweet intensity is one attribute contributing to the overconsumption of high-energy palatable foods. However, it is not known how sucrose intensity is encoded and used to make perceptual decisions by neurons in taste-sensitive cortices. We trained rats in a sucrose intensity discrimination task and found that sucrose evoked a widespread response in neurons recorded in posterior-Insula (pIC), anterior-Insula (aIC), and Orbitofrontal cortex (OFC). Remarkably, only a few Intensity-selective neurons conveyed the most information about sucrose's intensity, indicating that for sweetness the gustatory system uses a compact and distributed code. Sucrose intensity was encoded in both firing-rates and spike-timing. The pIC, aIC, and OFC neurons tracked movement direction, with OFC neurons yielding the most robust response. aIC and OFC neurons encoded the subject's choices, whereas all three regions tracked reward omission. Overall, these multimodal areas provide a neural representation of perceived sucrose intensity, and of task-related information underlying perceptual decision-making.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.001>

***For correspondence:**

ranier@cinvestav.mx

Competing interests: The authors declare that no competing interests exist.

Funding: See page 29

Received: 16 August 2018

Accepted: 16 November 2018

Published: 19 November 2018

Reviewing editor: Geoffrey Schoenbaum, National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health, United States

© Copyright Fonseca et al. This article is distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use and redistribution provided that the original author and source are credited.

Introduction

Chemical stimulation of taste receptor cells elicits signals that are transduced into neural representations of multiple attributes, such as taste quality, intensity (the strength or concentration of a stimulus), and palatability (hedonic value). These attributes form a single percept (*Accolla et al., 2007; Breslin, 2013; Lemon, 2015*) that informs the animal whether it is safe to ingest the food (*Tapper and Halpern, 1968*). Sucrose is the prototypical highly palatable tastant for sweet taste quality, and it provides a sensory cue predicting the presence of immediate energy sources. Although palatability and intensity usually change together, *Wang et al., 2018* found this is not always the case and suggested that they are two distinct representations. In rodents, palatability is measured by an increase in positive oromotor responses (e.g., licking) elicited by increasing sucrose concentrations (*Spector and Smith, 1984*). In contrast, the intensity attribute cannot be directly measured by any licking response per se, as an animal must actively report the perceived concentration of sucrose, a process necessarily involving decision-making. Historically, the neural representation of sweet taste intensity has been characterized by firing rates (spike counts) that monotonically increase with sucrose concentration along the gustatory pathway from the periphery to primary (IC) and secondary (OFC) taste cortices (*Rolls et al., 1990; Roussin et al., 2012; Scott et al., 1991; Thorpe et al., 1983; Villavicencio et al., 2018*). However, those responses were obtained in either anesthetized animals (*Barretto et al., 2015; Wu et al., 2015*), during passive intraoral delivery of tastants (*Maier and Katz, 2013; Scott et al., 1991*), or in behavioral tasks where animals do not have to make any decision other than to lick (*Rosen and Di Lorenzo, 2012; Stapleton et al., 2006; Villavicencio et al., 2018*). Thus, the neural representation of the perceived intensity of sucrose that

eLife digest Imagine you wake up in the morning, and you pour yourself and your loved one coffee. They like it with two sugars but you only with one. Our ability to distinguish different sweet intensities allows us to detect how much sugar is in the coffee. It also helps us to predict the amount of energy present in foods and if it is safe to ingest. We can experience the sweet quality because our tongue contains sweet taste receptor cells that are switched on by sugar. This activates neurons across our taste system in the brain.

However, we do not completely understand how these areas represent the intensity of sugar. Previous studies have only 'passively' measured different sugar concentrations, either using anesthetized animals or behavioral tasks that do not involve decision-making other than licking. But to accurately evaluate how animals perceive the intensity, active decision-making is required, such as 'reporting' the perceived concentration of sugar.

Fonseca et al. set out to answer this question by training rats in a new sweet intensity discrimination task, in which the rats had to move to the left or right to obtain water as a reward. This way, the animals could 'indicate' how sweet they perceived the sugar water to be. At the same time, recordings from the three brain areas involved in taste responses were taken (called the anterior and posterior insular cortices, and the orbitofrontal cortex) to measure how the sugar intensity is processed in the brain.

The results showed that a small group of neurons within all three areas contained more information about the sugar intensity than other neurons, suggesting the taste system uses a compact and distributed code to represent its intensity. The information about sugar intensity was contained in both the number of nerve impulses and in the precise timing with which these neurons fired.

Many drinks and high-energy foods often contain large quantities of sugar, and their overconsumption contributes to the worldwide problems of obesity and its associated diseases. Therefore, a better understanding of the neurons that code information about the intensity of sugar could be a starting point for other studies to pinpoint the connections and areas in the brain involved in our irremediable attraction for sugar.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.002>

the animal actively reports has not presently been studied. Likewise, how this representation is transformed into perceptual decision-variables, such as choice, movement direction, and the presence or absence of reward remains to be elucidated. Here we trained rats in a sucrose intensity discrimination task and recorded electrophysiological responses in the posterior (pIC), anterior (aIC) insular cortices, and the orbitofrontal cortex (OFC), with the aim of elucidating how these cortices encode sucrose intensity and use this information to guide behavior.

These three cortical areas are multimodal and chemosensitive and are involved in disgust (pIC), tastant identification (aIC), and subjective value and reward (OFC) (Frank et al., 2013; Gardner and Fontanini, 2014; Jezzini et al., 2013; Jones et al., 2006; Katz et al., 2001; Kusumoto-Yoshida et al., 2015; Maffei et al., 2012; Maier and Katz, 2013; Verhagen et al., 2004). In rodents, the pIC has been shown to be involved in taste, disgust, expectancy, and aversive motivated behaviors (Bermúdez-Rattoni, 2004; Chen et al., 2011; Fletcher et al., 2017; Gardner and Fontanini, 2014; Gutierrez et al., 2010; Kusumoto-Yoshida et al., 2015; Wang et al., 2018). In contrast, the aIC is involved in appetitive behaviors, and besides having neurons that respond selectively to sweet taste (Chen et al., 2011), it also has neurons encoding reward probability and reward omission (Jo and Jung, 2016). Even though both pIC and aIC have roles in taste and decision-making, their contribution to sucrose intensity guided behavior remains unexplored.

It is well known that OFC is involved in reward and subjective value (Conen and Padoa-Schioppa, 2015; Jo and Jung, 2016; Kennerley and Wallis, 2009; Roesch et al., 2006), and it is a critical brain region for encoding decision-variables such as choice, movement direction, and reward omission (Feierstein et al., 2006; Hirokawa et al., 2017; MacDonald et al., 2009; Nogueira et al., 2017). However, it is not known whether OFC neurons encode decision-variables guided by sucrose

intensity. Equally unknown is how these variables are encoded along the posterior-anterior axis of the Insula.

To address these questions, we designed a novel sweet intensity discrimination task in which, to obtain a water reward, rats had to make a rightward or leftward movement based on the perceived intensity of sucrose (Cue), while single-unit recordings in the pIC (1348), or aIC (1169), or OFC (1010) were performed. We found that stimulation with sucrose evoked a widespread response in these three cortical regions, indicating a distributed detection of taste/somatosensory information. 82% of the evoked responses showed no selectivity to sucrose intensity, whereas 18% could be labeled as sucrose intensity-selective. These selective neurons conveyed the most information about sucrose's sweet intensity. Analyses of the sucrose-evoked responses revealed that, in addition to firing rates, the spike timing of neurons contains additional information about sucrose's intensity. Several differences and similarities were identified between the evoked pIC, aIC, and OFC responses. Overall, the three recorded areas similarly decoded sucrose concentration and equally tracked the outcome (reward delivery or omission). A major difference among them was that the OFC neurons carry information about behavioral choice and movement direction, earlier and with higher quality than neurons in the Insula. In summary, these data show that the perceived intensity of sucrose is fully reconstructed from the firing rate and spike timing of a small population of neurons in the pIC, aIC, and OFC.

Results

Behavior

Twenty-eight rats were trained in a one-drop sucrose intensity discrimination task. The trial structure is depicted in **Figure 1A**. Briefly, trained rats initiate a trial by first visiting the central port (Return). Licking at the central spout triggers the delivery of either 10 μ L of 3 (Low) or 18 (High) wt% sucrose (referred to as Cue-D; Stimulus). If a rat chooses correctly (by moving to one of the two lateral ports; Response), three drops of water are delivered as a reward (Outcome). Error trials were unrewarded. Subjects achieved the learning criterion ($\geq 80\%$ correct) in about 25 sessions (**Figure 1B**), and the implantation of an electrode array in one of the three cortical areas did not impair task performance (paired t-test before vs. after surgery; $t_{(27)} = 0.95$; $p = 0.35$; **Figure 1B**). Once the animals learned the discrimination task, they were tested in a variant named generalization session (**Figure 1C**). In these sessions that consisted of 20% of the trials, rats were required to classify 0, 3, 4.75, 7.5, 11.75, or 18 wt% sucrose as either 'Low' or 'High' (referred as Cue-G). In these trials, no reward was delivered (Reward omission) to avoid imposing an arbitrary Low/High threshold that could bias the behavioral report of the perceived sweetness intensity. In Cue-G trials the percentage of 'High' responses increased with increasing sucrose concentration (**Figure 1D**), thus showing that the animals used sucrose intensity as a cue to solve the task (since its quality is unchanged (*Pfaffmann et al., 1979*)). Surgery did not impair perceptual judgments based on sucrose intensity (see Before vs. After surgery; **Figure 1D**).

Other behavioral measurements, related to palatability (*Perez et al., 2013*; *Spector et al., 1998*), revealed that the latency to stop licking after High Cue-D delivery (18% sucrose) was longer (0.74 ± 0.02 s) than for the Low Cue-D (3% sucrose; 0.58 ± 0.01 s; $p < 0.0001$). A similar trend was observed for generalization cues (i.e., Cue-G trials), in that rats exhibited a longer time to stop licking in trials where sucrose intensities were \geq to 4.75% relative to Low Cue-D (One-way ANOVA: $F_{(7,1360)} = 17.10$; $p < 0.0001$; Dunnett *post-hoc*; **Figure 1E**). Furthermore, we analyzed the relationship between licking and task performance and found that rats lick more rhythmically and similarly for both cues in sessions where their performance was better. This is reflected by a positive correlation between Low and High licking PSTHs and task performance ($r = 0.17$, $p < 0.003$; see **Figure 1—figure supplement 1**). Thus, rats did not solve the task by licking differently for both cues.

In the Return epoch, rightward movements (left to center port direction) were faster than leftward (right to center port) movements (**Figure 1F**). In contrast, during the Response epoch, leftward or rightward movements were not significantly different (**Figure 1G**), and therefore these movements were independent of the sucrose concentration. Interestingly, rats moved faster in the Response than in the Return period, perhaps a result of the water reward (compare **Figure 1F** vs. **Figure 1G**). Finally, in the Outcome epoch, rats rapidly detected when the reward was omitted (Cue-G trials and

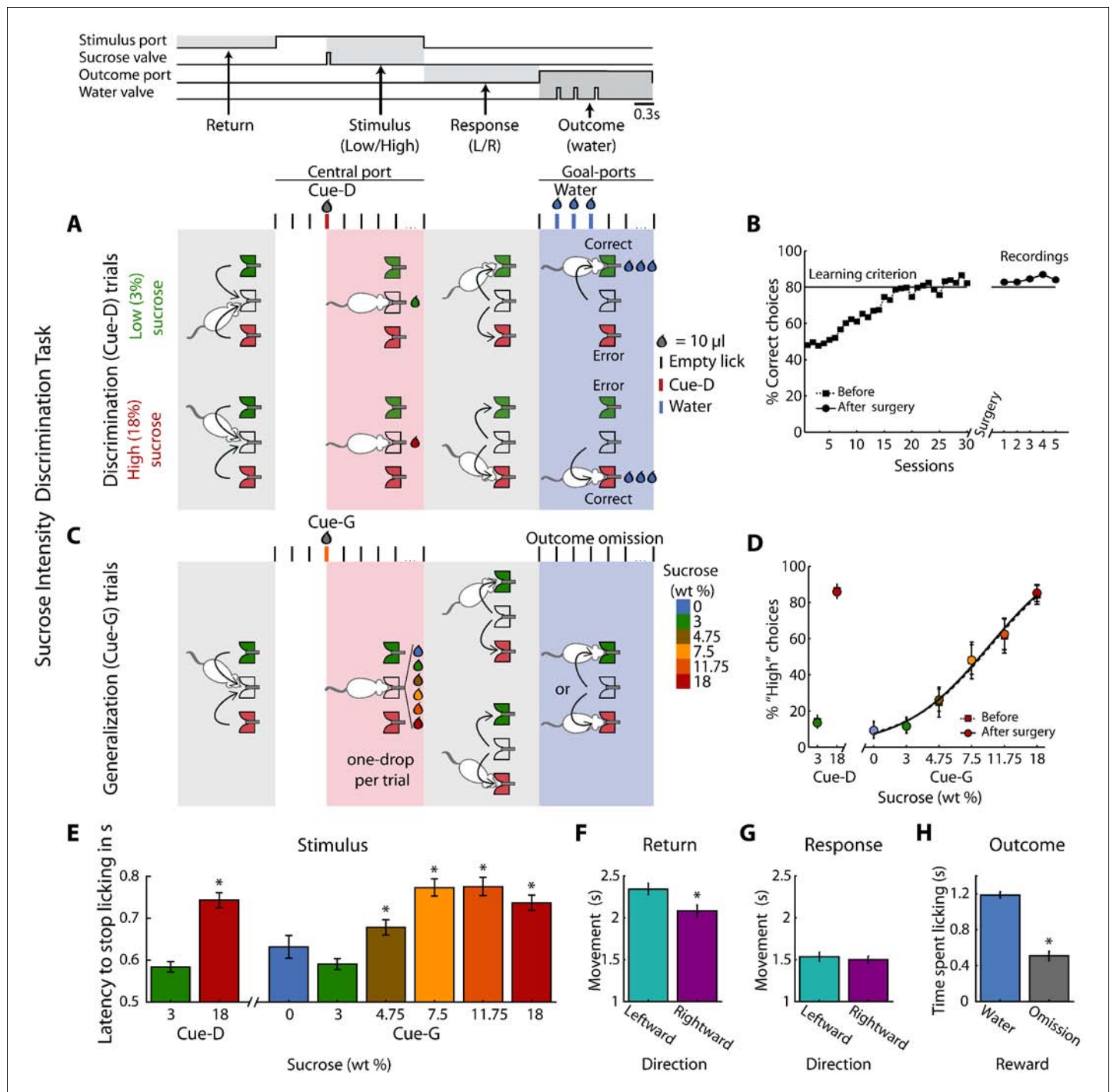


Figure 1. Behavioral report of sucrose's sweet intensity in a one-drop discrimination task. (A) Structure of a single trial. The behavioral box was equipped with three spouts each connected to a pressure-controlled solenoid valve that delivered 10 μ L drops (not shown, see Materials and methods). One spout was in the central (stimulus) port and the others in the left and right lateral (choice) ports. After the first trial, in the Return epoch, animals after obtaining one of the outcomes in the lateral ports, returned to the central port to begin a new trial. In the Stimulus epoch, after two or three dry licks, the cues (Cue-D -for discrimination) were delivered, and the animals had to make a High/Low decision as to which lateral port to go (Response epoch). If they choose correctly, a water reward was delivered in the Outcome epoch. Errors were unrewarded. Thus, in this task, the perceived intensity of sucrose (i.e., concentration) served as a discriminative cue (Cue-D, see the red tick and drop). (B) Performance (percent correct choices) across training days before (dashed line squares) and after (circles) electrode implantation. (C) Interleaved in sessions, all animals were tested in a variant of the above-described intensity discrimination task -named generalization sessions. These sessions were composed of 80% discrimination trials (3% Low/ 18 wt% High) that were rewarded as indicated in 'A,' and 20% generalization trials; that is, 0, 3, 4.75, 7.5, 11.75, and 18 wt% sucrose cues (named Cue-*Figure 1 continued on next page*

Figure 1 continued

G). For generalization trials, rats were required to ‘classify’ these sucrose concentrations as either a ‘Low’ or ‘High,’ but these trials were unrewarded. (D) The percent responses to the ‘High’ port during discrimination (Cue-D) and generalization (Cue-G) trials increases as the sucrose concentration increase. Note that the psychometric function was nearly identical both before (dashed line squares) and after surgery (circles). (E) Latency to stop licking after cue delivery. On average, the higher the sucrose concentration, the longer the latency to stop licking. (F–G) Movement time for making a leftward or rightward movement in the Return and Response epochs. (H) Time spent licking, in the Outcome epoch, in Cue-D trials that received water as a reward was longer than in Cue-G trials where the water reward was omitted. * Statistically significant with an alpha level of 0.05.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.003>

The following figure supplements are available for figure 1:

Figure supplement 1. In sessions with rats having better performances, they licked similarly for both cues.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.004>

Figure supplement 2. Extracellular recordings were obtained in either the posterior, anterior Insular cortices (pIC or aIC), or orbitofrontal cortex (OFC).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.005>

Cue-D error trials). That is, they spent more time licking when water was delivered than when it was omitted (**Figure 1H**; see **Supplementary file 1** for statistics). In sum, by using only a 10 μ L drop of sensory stimulation, rats can make accurate perceptual decisions based on the perceived concentration of sucrose.

Electrophysiology

A total of 1348, 1169, and 1010 single-units were recorded from pIC, aIC, and OFC, respectively (see **Figure 3—figure supplement 1A**). Of these neuronal responses 480, 403, and 337, respectively were recorded in generalization sessions and the rest in discrimination sessions (with only cue-D trials). Recordings were performed unilaterally in the left hemisphere. Schematics and location of the recording sites are seen in **Figure 1—figure supplement 2**.

Modulation profiles of Cue-D discrimination trials

The temporal activation pattern of the neural responses in pIC, aIC, and OFC was classified as a function of the evoked response (Cue-evoked or Non-evoked), modulation profile (Phasic, Tonic, or Coherent; see **Table 1**), and selectivity (either Non-selective or Intensity-selective; see **Table 2**). Most recorded neurons exhibited a statistically significant evoked response 90.6% (1221/1348), 97.4% (1139/1169), and 92.8% (937/1010) for the pIC, aIC, and OFC, respectively. The remaining neurons, named Non-evoked, were 9.4% (127/1348), 2.6% (30/1169), and 7.2% (73/1010), respectively. Cue-evoked responses were then further classified according to five characteristic modulation profiles: Phasic, Tonic-Inactive (Inact), Tonic-Active (Act), Lick-coherent Inactive (Coh-Inact), and Active (Coh-Act) (**Table 1**).

Given that rats could use a drop of sucrose to make accurate perceptual decisions based on its intensity (**Figure 1**), we explored the neural correlates of these decisions in the pIC, aIC, and OFC. **Figure 2** depicts the raster plots and corresponding peri-stimulus time histograms (PSTHs) of representative examples of Intensity-selective Cue-D evoked responses recorded in each of the three cortical regions. Examples of Non-selective Cue-D responses are shown in **Figure 2—figure supplement 1**. Action potentials are depicted as black ticks and were aligned to Cue-D delivery (time = 0 s). Trials were sorted as a function of Low (3% -green) and High (18 wt% -red). The left

Table 1. Cue-Evoked and Non-Evoked neurons.

Brain region	Cue-Evoked responses					Non-Evoked	
	Phasic	Inactive	Active	Coh-Inac	Coh-Act	Non-Mod	Coh-NonEvo
pIC (n=1348)	75 (5.6)	217 (16.1)	193 (14.3)	414 (30.7)	322 (23.9)	53 (3.9)	74 (5.5)
aIC (n=1169)	67 (5.7)	202 (17.3)	192 (16.4)	317 (27.2)	361 (30.9)*	7 (0.6)*	23 (2)*
OFC (n=1010)	27 (2.7)*#	386 (38.2)*#	265 (26.2)*#	169 (16.7)*#	90 (8.9)*#	62 (6.1)*#	11 (1.1)*

Number of Cue-D responsive neurons (%). Data in bold indicate statistically different against pIC (*) or aIC (#), detected by a chi-squared test. Alpha level set at 0.05.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.006>

Table 2. Cue-Evoked responses: Non-selective and Intensity-selective neurons.

Brain region	Cue-Evoked responses											
	Phasic		Inactive		Active		Coh-Inac		Coh-Act		Total	
	Non-Sel	Int-Sel	Non-Sel	Int-Sel	Non-Sel	Int-Sel	Non-Sel	Int-Sel	Non-Sel	Int-Sel	Non-Sel	Int-Sel
pIC (n=1348)	55 (4.1)	20 (1.5)	198 (14.7)	19 (1.4)	171 (12.7)	22 (1.6)	325 (24)	89 (6.6)	272 (20.2)	50 (3.7)	1021 (75.7)	200 (14.8)
aIC (n=1169)	55 (4.7)	12 (1)	183 (15.7)	19 (1.6)	155 (13.3)	37 (3.2)*	254 (21.6)	63 (5.4)	283 (24.2)	78 (6.7)*	930 (79.6)	209 (17.9)
OFC (n=1010)	21 (2.1)*#	6 (0.6)*	336 (33.3)*#	50 (5)*#	204 (20.2)*#	61 (6)#	124 (12.3)*#	45 (4.5)*	65 (6.4)*#	25 (2.5)#	750 (74.2)	187 (18.5)*

Number of Non-selective and Intensity-selective neurons (%). Data in bold indicate statistically different against pIC(*) or aIC (#) detected by a chi-squared test. Alpha level set at 0.05.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.007>

column shows three different neurons that exhibited selective phasic responses to 3 wt% sucrose in the pIC, aIC, and OFC, respectively. Examples of the Tonic-Inactive (second column) revealed a selective inhibition for 3 wt% sucrose (Low-preferred). After Cue-D delivery, the Tonic-Active neurons exhibited a sustained increase in firing rate (third column; the upper and lower panels depict a Low-preferred neuron, whereas the middle panel a High-preferred response). The last two columns on the right-hand side display examples of neurons that fired synchronously with licking (named Lick-coherent) and, after Cue-D delivery, exhibited either a decrease (Coh-Inact) or an increase (Coh-Act) in their firing rate.

Intensity-selective neurons were recorded in all three cortical regions and for all five classes of evoked responses, although with different proportions (see **Figure 3—figure supplement 1A** and **Table 2**; see **Supplementary file 2** for statistics). In general, pIC and aIC Intensity-selective neurons exhibited more similar responses between them than those found in the OFC (see **Table 2**). The only exception was that the aIC contained more Intensity-selective neurons with Tonic-Active and Coh-Act responses than the pIC. In contrast, the OFC had more Intensity-selective neurons exhibiting Tonic-Inactive and Active responses (**Table 2**). Overall, the percentage of Intensity-selective neurons were 14.8%, 17.9%, and 18.5%, in the pIC, aIC, and OFC, respectively (see **Table 2**; Total, Inten-Sel). These data show that Intensity-selective neurons are found along the posterior-anterior taste neuroaxis.

To determine, in fine-grain detail, the differences in licking and its impact upon neuronal responses, in **Figure 2**, we also depicted the corresponding PSTHs of licking behavior and the times where the lick rate was significantly different between Low and High cues (see dashed lines). We found that 45.1% of all Intensity-selective neurons have a ‘best-window’ (interval with maximal discrimination between concentrations) with no differences in licking (see **Figure 2** grey-line above the PSTHs). The remaining 54.9% of neurons have a lick rate difference inside the best-window, but most frequently they only covered a small fraction of the window (**Figure 2—figure supplement 2**). Specifically, the overlap of the lick rate differences covered 31.4% of the entire best-window (**Figure 2—figure supplement 2**). Thus, we conclude that is unlikely that most sucrose intensity representation can be attributed to differences in licking behavior.

Figure 3A shows the color-coded population PSTH of the responses of all Intensity-selective neurons in each brain region, sorted as a function of the modulation profile and preferred concentration. What is clear in the figure is that diverse temporal patterns are evoked in response to the delivery of the Cue-D (time = 0 s). The evoked responses can be transient, sustained, or oscillatory, with either increasing or decreasing firing rates.

In the Stimulus epoch, the population responses revealed that the pIC and aIC were more excited, whereas the OFC was inhibited (**Figure 3—figure supplement 1B**), suggesting an opposite interaction between the Insula and OFC during licking behavior. In agreement with the idea that in a default brain-network state, these two brain regions function out of phase (**Gutierrez-Barragan et al., 2018**). In line with previous studies (**de Araujo et al., 2006**; **Gutierrez et al., 2010**), we found among these taste cortices that the pIC (60.3%) and aIC (59.5%) had a higher proportion of (either increasing or decreasing) lick-induced oscillatory responses than the OFC (27.6%). Likewise, we found that the coherence values of the OFC (0.24 ± 0.005) were significantly lower relative to pIC (0.26 ± 0.003) and aIC (0.26 ± 0.003) ($F_{(2, 1672)}=3.77$; $p = 0.02$) (**Figure 3—figure supplement 3A**). Therefore, the pIC and aIC had not only a higher proportion of Lick-coherent neurons than

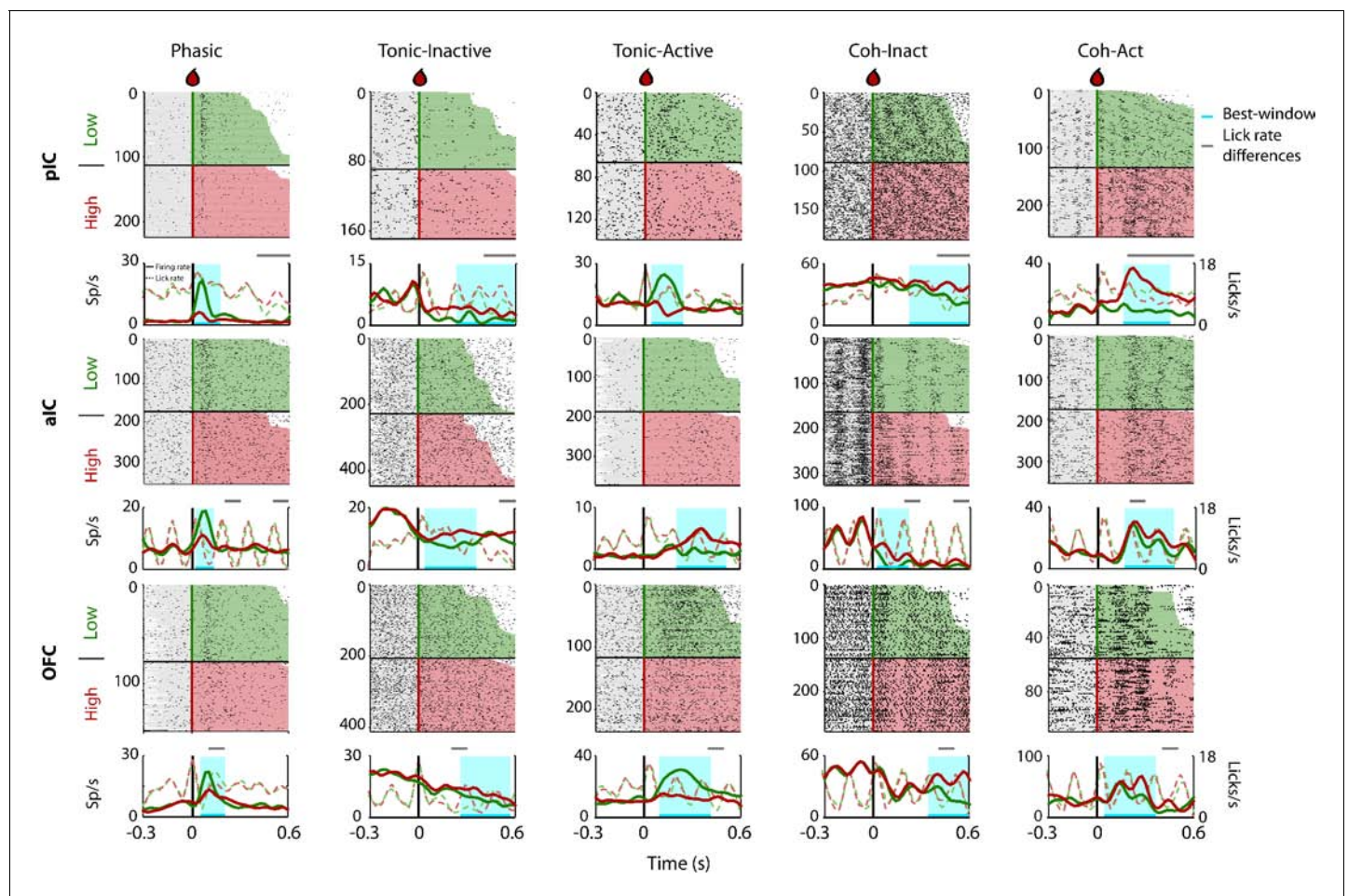


Figure 2. Representative Intensity-selective Cue-evoked responses in the rat pIC, aIC, and OFC. Representative raster plots and PSTHs (in spikes/s solid lines) of sucrose Intensity-selective neurons belonging to each of the five classes of evoked responses in the pIC (upper), aIC (middle), and OFC (lower) rows: Phasic, Tonic-Inactive, Tonic-Active, Coh-Inactive, and Coh-Active. Coh indicates they are coherent with licking. These exemplar neuronal responses discriminated between 3 and 18 wt% sucrose (Intensity-selective neurons). Most of the Cue-evoked responses were Non-selective to sucrose intensity, and individual examples are presented in **Figure 2—figure supplement 1**. Action potentials are depicted as black ticks around -0.3 to 0.6 s, from Cue-D delivery (time = 0 s). Only correct trials were included in these plots. The horizontal black line separates the sorted trials according to Cue-D delivery. The licks after 3 and 18 wt% sucrose are indicated by green- and red-shaded area, respectively. The times that animals were licking at the central spout before cue delivery are shown in the shaded gray areas. Also shown are the PSTHs for licking (Licks/s; at right axis) either for Low (green-dashed) or High sucrose (red-dashed line). The rectangle in cyan highlights the best-window where the responses to 3 and 18 wt% sucrose are statistically distinct as determined by a Wilcoxon rank-sum test. The gray horizontal line on top indicates the times where the lick rates were significantly different.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.008>

The following figure supplements are available for figure 2:

Figure supplement 1. Representative Cue-evoked non-selective responses in the pIC, aIC, and the OFC.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.009>

Figure supplement 2. Times in % where the lick rate differences overlapped the best-window.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.010>

OFC, but also IC neurons were better entrained with rhythmic licking. More importantly, we also uncovered, for the first time, that the level of coherence was significantly higher in the Stimulus-epoch in comparison with the pre-Stimulus and the Outcome epochs (all p 's < 0.0001), suggesting that lick-spike coherence reflects more than oromotor responses, perhaps it prepares taste cortices to receive sensory inputs.

For the neuronal populations of each brain region, a linear decoder was used to estimate the accuracy for discriminating Low and High sucrose trials (Meyers, 2013; see Materials and methods).

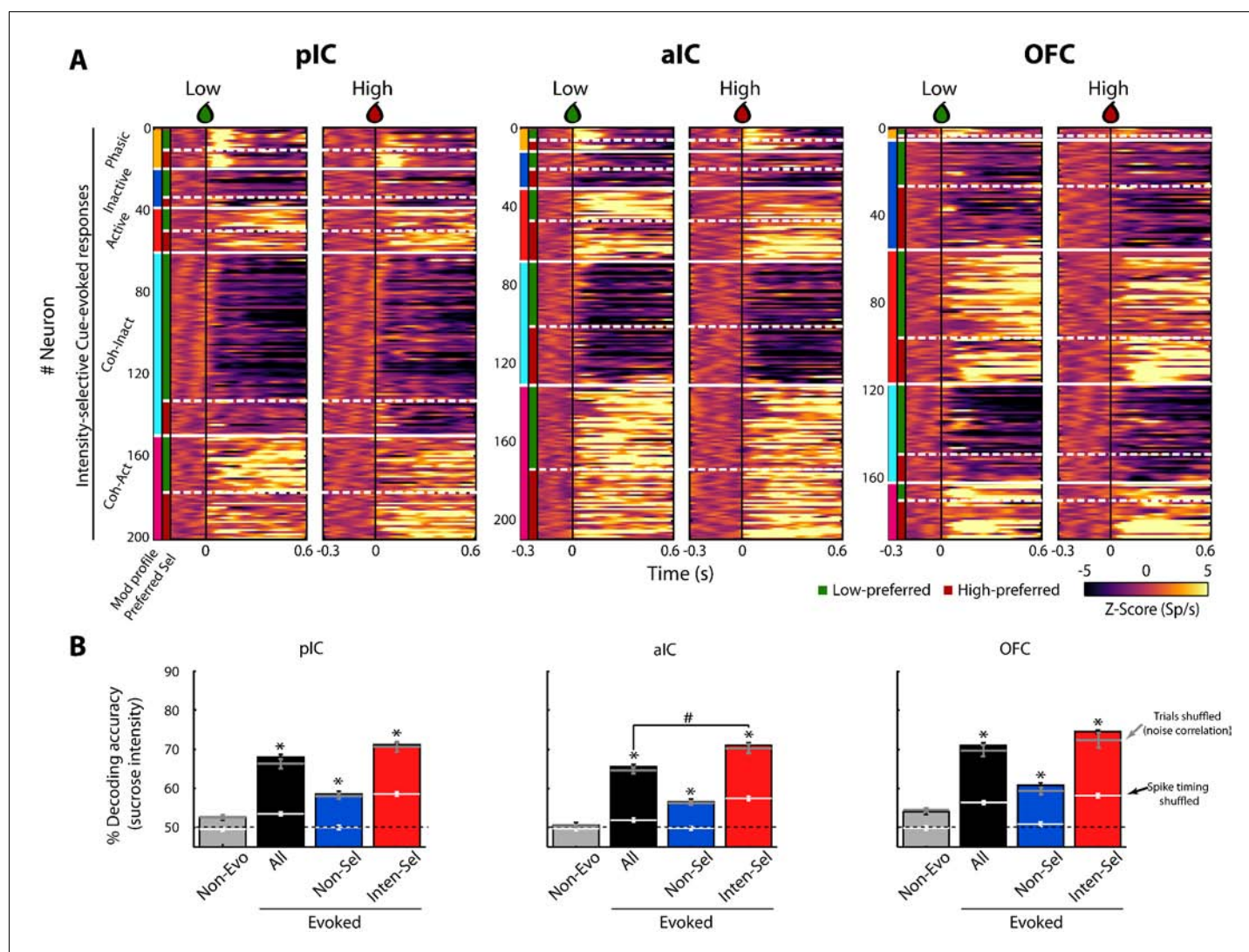


Figure 3. A subpopulation of Intensity-selective neurons decodes sucrose concentrations (3 vs. 18 wt%) better than other neuron classes. (A) The color-coded PSTHs of the five Cue-evoked responses in pIC (left panel), aIC (middle panel), and OFC (right panel) sorted by modulation profile and Intensity-selectivity (Low/High). Response types were first sorted from top to bottom as follows: Phasic (orange vertical line at the left edge), Inactive (dark blue), Active (red), Lick-coherent Inactive (cyan), and Lick-coherent Active (magenta). The white horizontal dashed lines separate each modulation profile as a function of Low and High selectivity (see green and red vertical lines at the left edge). Each row represents the firing rate normalized in Z-score of a neuronal response aligned to 3 (Low, left panel) and 18 wt% (High, right panel) sucrose delivery (time = 0, black vertical line). (B) Percent decoding accuracy of sucrose intensity achieved by the neurons recorded in pIC, aIC, and OFC. Each colored bar represents a different group of neurons: Non-evoked (gray), All (black), Non-selective (blue), and Intensity-selective (red). A black dashed line indicates the 50% chance level, and the upper dashed line the behavioral performance. * Indicates significant differences against the Non-evoked population, while # indicates significant differences against All group. Only correct Cue-D trials were included for analysis. The white horizontal line in each bar indicates the percent decoding achieved by each population when spike timing information was removed (i.e., shuffled spikes but maintaining same firing rates). The gray horizontal lines depict the contribution of noise correlations for population decoding.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.011>

The following figure supplements are available for figure 3:

Figure supplement 1. The population temporal activation pattern of all neurons recorded in the posterior IC (n = 1348), anterior IC (n = 1169), and the OFC (n = 1010), elicited in rats by a single 10 μ L drop of 3 and 18 wt% sucrose.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.012>

Figure supplement 2. Noise correlation is removed after shuffling the order of trials.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.013>

Figure supplement 3. The coherence between licks and spikes is larger after Cue-D delivery in the Stimulus epoch than in pre-Stimulus and Outcome.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.014>

As seen in **Figure 3B**, the contribution of the Non-evoked responses (grey bars) was found to be at chance level (50%), indicating that they contained little, if any, information about sucrose intensity. In contrast, all Cue-D evoked neuronal responses (All- black bars) significantly decoded sucrose concentrations above chance level (**Figure 3B**). Importantly, we found that the small population of Intensity-selective neurons (red bars) contained more information than the larger Non-selective population (blue bars).

Interestingly, the Non-selective group also decoded sucrose intensity significantly above chance level. One possibility is that they have subtle differences in firing rates that are not consistent enough across trials to produce a significant effect at single neuronal level. However, at the population level there is sufficient information about sucrose intensity. Alternatively and despite their similar firing rates (spike counts) evoked by Low and High Cue-D, these neurons could use spike timing to discriminate sucrose concentrations (**Gutierrez and Simon, 2013**). To test this hypothesis, the spikes of all Non-selective neurons were shuffled without changing their average firing rates. When the spike timing information was eliminated from these neuronal responses, their ability to decode among the sucrose's intensities dropped to chance level (**Figure 3B**; see the horizontal white lines across the blue bars). Thus, the additional information in the Non-selective population was likely conveyed by precise spike timing patterns of activity.

The decoding algorithm also revealed that the Intensity-selective neurons in the three cortical regions decoded sucrose intensity better than Non-selective neurons (**Figure 3B**; red bars). It is unlikely that these results were due to the differences in the population size since Intensity-selective neurons were always fewer in number than the Non-selective and All Cue-evoked neurons. Thus, the Intensity-selective population (i.e., less than 18% of neurons) contained more information about sucrose intensity than the entire population. These data suggest the existence of a neuronal representation of sucrose concentration across these three gustatory cortical regions. That is, each taste cortex seems to contain a copy of this information. Finally, we note that by removing the spike timing information contained in the Intensity-selective neurons, their percent decoding dropped to nearly chance level, indicating that the neural representation of sucrose intensity is also conveyed in the spike timing of neurons.

It has been reported that spike counts in a pair of simultaneously recorded neurons, elicited by a stimulus, can covary across the session, a phenomenon denominated as noise-correlation and these correlations are thought to covary with attentional, behavioral, and overall brain-state of the network (**Averbeck et al., 2006**). Although the function of noise-correlations is not completely understood, it is well known that they could affect (either increase or decrease) population decoding (**Averbeck et al., 2006; Averbeck and Lee, 2006; Carnevale et al., 2013; Cohen and Kohn, 2011; Zohary et al., 1994**). For this reason, we also determined the impact of removing the noise-correlations on the decoding accuracy of sucrose intensity. We found that pIC (0.21 ± 0.005) had a significantly higher noise-correlations in comparison to aIC (0.19 ± 0.006) and OFC (0.19 ± 0.007) ($F_{(2,386)} = 7.85$; $p = 0.0005$; **Figure 3—figure supplement 2A**). Nevertheless, removing noise-correlations by shuffling trials (**Figure 3—figure supplement 2B**) did not significantly affect decoding accuracy in any population or recorded brain region (**Figure 3B** see the grey horizontal lines). Therefore, at least in these experiments, noise-correlations do not have a significant effect over decoding of sucrose intensity.

We next determined which class of Cue-evoked responses contained sufficient information to decode sucrose's intensity. To achieve this, we ran the neural classifier using a single neuronal population. In all three regions, the Coherent-Inactive and Coherent-Active had better percentage

Table 3. Percent decoding accuracy of sucrose's intensity, when only one a single population, at a time, was included in the analysis.

Brain region	Non-Evo	All	Phasic	Inactive	Active	Coh-Inac	Coh-Act	All-Tonic	All-Coh
pIC	52.7 ± 0.6	67.6 ± 1.3	60.2 ± 1.7	53.1 ± 0.5	53.5 ± 0.6	62.0 ± 1.2	61.6 ± 0.8	54.3 ± 0.6	66.6 ± 1.2
aIC	50.4 ± 0.3	65.7 ± 0.9	54.7 ± 1.1	52.1 ± 0.4	55.4 ± 0.4	60.0 ± 0.7	62.1 ± 0.8	55.1 ± 0.5	65.6 ± 0.9
OFC	54.8 ± 0.5	71.0 ± 1.6	56.6 ± 1.4	55.3 ± 0.6	61.1 ± 1.1	62.7 ± 1.1	65.9 ± 1.5	60.8 ± 1.0	69.3 ± 1.6

Percent decoding accuracy (mean ± sem). Data in bold indicate statistically different relative to Non-Evoked neurons by using a one-way ANOVA and a Dunnett's post hoc. Alpha level set at 0.05.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.015>

decoding accuracy than the Non-evoked control group (**Table 3**). Moreover, in the pIC, aIC, and OFC combining All-Coherent neurons (All-Coh) achieved the best sucrose decoding nearly matching that of the entire population (All). Thus, Lick-coherent populations contained sufficient information in their responses to decode sucrose intensity.

Finally, to further determine which population contained information necessary to decode sucrose intensity, we performed a dropped population analysis (*Gutierrez et al., 2006*). In this analysis, only one population at a time was removed, and its decoding accuracy was compared against the decoding achieved by All the Cue-evoked populations combined (**Table 4**; referred as 'All'). In the three cortical regions, the percent decoding accuracy was significantly reduced only when the two Lick-coherent groups were dropped from the entire population (compare All-Coh vs. 'All'; **Table 4**). In sum, both analyses suggest that the neural responses of the Lick-coherent neurons were both sufficient and necessary to decode sucrose intensity information.

Coding profile

Having described the modulation profile evoked by two sucrose concentrations, we next characterized whether neurons in the three recorded cortices encode sucrose's concentration-dependent information and decision-variables. We first describe neuronal responses that encode information about sucrose's concentrations. This is followed by neuronal responses that correlate with animal choices ('Choice neurons'), Direction (neurons with responses selective to either leftward or rightward movements), and finally, neurons that track the Outcome (responses that indicate the presence or absence of reward). We also discuss the overlapping among these populations.

Concentration-dependent sucrose responses (Cue-G trials)

To determine if there was a neuronal subpopulation that tracked sucrose concentrations among the Intensity-selective (Cue-D) neurons, we evaluated neural responses during generalization trials (Cue-G: 3, 4.75, 7.5, 11.75, or 18% sucrose). In these sessions, we recorded a subpopulation of 480, 403, and 337 neurons from the pIC, aIC, and OFC, respectively. Similar to the Cue-D sessions, in the generalization sessions, we found that $94.1 \pm 1.3\%$ could be classified as Cue-evoked neurons and that from these, $83.3 \pm 1.5\%$ were Non-selective and $16.7 \pm 1.5\%$ were Intensity-selective. From the Intensity-selective population, the proportion that tracked the sucrose concentration (either positively or negatively) was 28.8% (19/66), 36.1% (26/72), and 32.3% (20/62) in the pIC, aIC, and OFC, respectively. **Figure 4A** shows raster plots and PSTHs of three representative neurons recorded in the pIC, aIC, and OFC whose responses increased with sucrose's concentrations. That is, during the 'best window' (cyan-shaded rectangle), these neurons responded with increasing activity to increasing sucrose concentrations (see Insets). We also identified neurons with an activity that negatively correlated with sucrose concentrations (**Figure 4B**). The population activity of all neurons with increasing (red) or decreasing (blue) responses was similar across the three cortical regions (**Figure 4C**). Thus, all three of these cortical areas have neurons that track the sucrose concentration.

Neurons involved in choices

Having demonstrated how sensory information about the sucrose concentration is encoded, we next identified neurons whose activity correlated with the animal's behavioral choices. For this, in the Stimulus and Response epochs, we calculated the correlation between the neuronal activity and the perceptual intensity choices made by the animals on a trial-by-trial basis. To quantify the extent to

Table 4. One population dropped analysis: Decoding sucrose intensity excluding only one population from All neurons.

Brain region	All	Phasic	Inactive	Active	Coh-Inac	Coh-Act	All-Tonic	All-Coh
pIC	67.8 ± 1.3	58.5 ± 1.7	68.1 ± 1.3	68.5 ± 1.3	63.4 ± 0.9	64.0 ± 1.2	68.5 ± 1.2	58.0 ± 0.7
aIC	65.9 ± 0.8	63.4 ± 2.0	66.3 ± 0.9	65.1 ± 0.9	62.7 ± 0.7	61.2 ± 0.7	66.1 ± 0.9	55.8 ± 0.5
OFC	71.2 ± 1.7	63.1 ± 3.0	72.6 ± 1.7	68.8 ± 1.5	67.6 ± 1.5	66.9 ± 1.3	70.5 ± 1.6	62.1 ± 1.1

Percent decoding accuracy (mean ± sem). Data in bold indicate statistically different in comparison with the All subpopulation by using a one-way ANOVA and a Dunnett's post hoc.

Note that values in the 'All' group are not identical to those in **Table 3** due to random sampling in the population decoder.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.016>

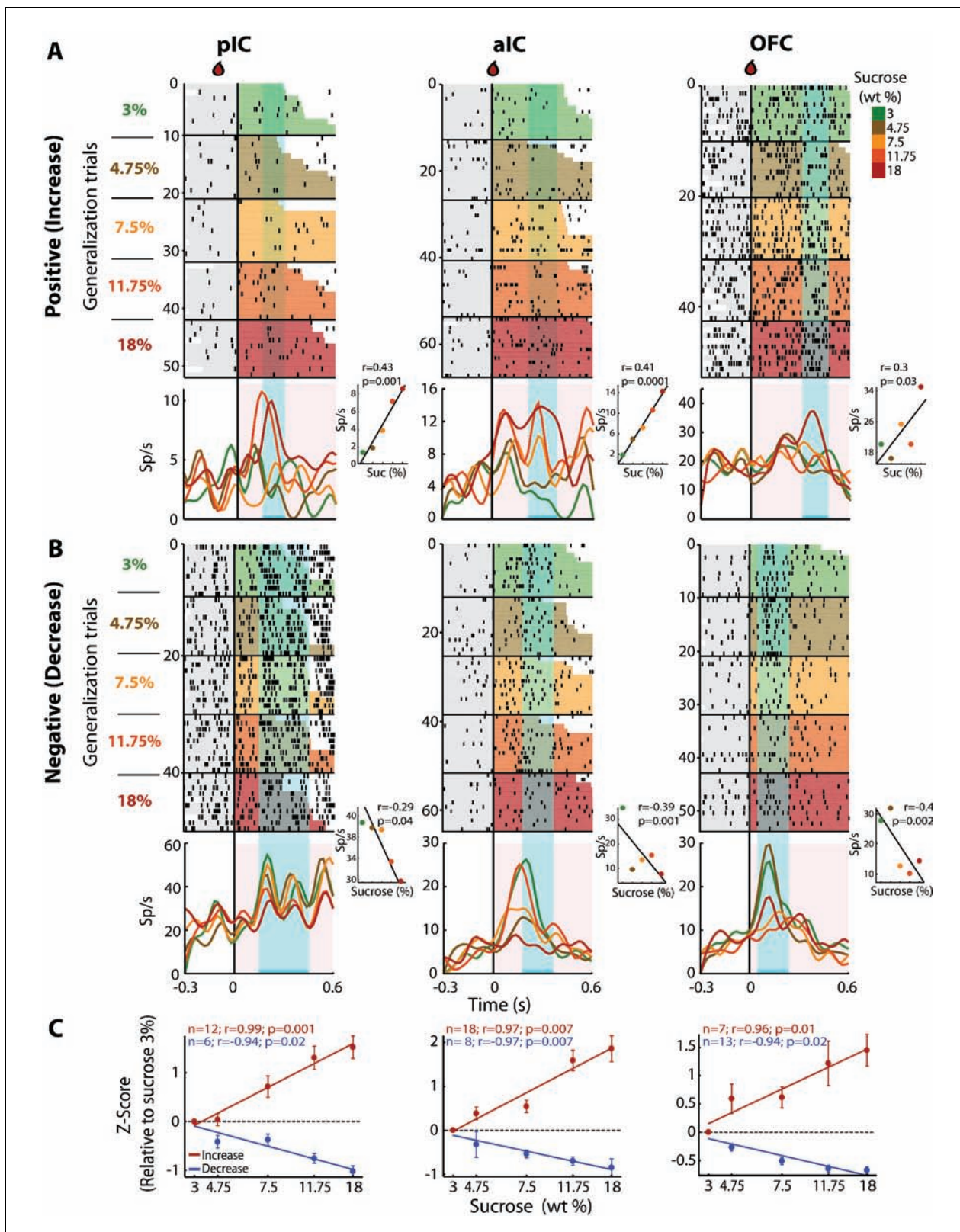


Figure 4. pIC, aIC, and OFC neurons track sucrose concentrations with either increasing or decreasing firing rates. (A) Raster plots and PSTHs of three representative Sensory neurons, with a positive correlation, recorded in pIC (left), aIC (middle), and OFC (right panel). Responses were aligned to Cue-G delivery (i.e., 3, 4.75, 7.5, 11.75, 18 wt%). The colormap on the right indicates the five sucrose concentrations delivered in the generalization trials. Each row represents a single trial and trials were sorted according to the sucrose concentration. The cyan-shaded rectangles display the 'best
Figure 4 continued on next page

Figure 4 continued

window,' in which the firing rates best correlated with sucrose concentrations (see Materials and methods for additional details). Same conventions as in **Figure 2**. The Insets displayed the firing rates in the 'best window' where responses had the best Pearson correlation coefficient against sucrose concentrations. (B) Representative examples of chemosensory neurons with negative correlation, recorded in pIC, aIC, and OFC. Same conventions as in A. (C) Normalized activity (relative to the 3 wt% trials) of all Sensory neurons that correlated either positively (red) or negatively (blue) with increasing sucrose's concentrations. Only generalization trials (Cue-G) were included in the analysis.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.017>

which the neuronal responses could be underlying the behavioral decisions we compared psychometric and neurometric generalization curves (see Materials and methods and de Lafuente and Romo, 2005). Initially, we aligned the responses to the onset of the Stimulus epoch, but no significant neuronal responses were detected in this epoch (data not shown). In contrast, Choice-related responses were found in the Response epoch in the aIC and the OFC. Since in the pIC only two Choice neurons were detected (**Figure 5—figure supplement 1B**), no conclusions were drawn for this cortical area. The left panel of **Figure 5A** shows the PSTHs of a 'Low-preferred' aIC choice neuron (left panel) whose activity decreased with increasing sucrose concentrations. The right panel shows a 'High-preferred' OFC neuron that exhibits higher firing rates for trials $\geq 4.75\%$ sucrose and that fired less for $\leq 3\%$ sucrose (**Figure 5A**, right panel). The cyan-shaded rectangle in the PSTHs depicts the window where neural responses best-predicted animal's choices. It is seen that especially in OFC, the resulting neurometric function followed the psychometric function (**Figure 5A**, insets). The averaged neurometric function of all 8 aIC (of 403; 2.0%) and 18 OFC (of 337; 5.3%) Choice-related neurons that covaried significantly with the behavioral psychometric function are shown in the left and right panel of **Figure 5B**, respectively. However, only in the OFC were the confidence intervals of the slopes overlapped, indicating that neuronal responses in this area better followed the behavioral choices, in comparison to the aIC. To determine the temporal dynamics of choice selectivity (Low vs. High), we plot a ROC index across the Response epoch (**Figure 5C**). We observed that aIC neurons encoded the choice only when the rat is responding (time >0 s), while OFC Choice neurons discriminated between sucrose concentrations before subjects started to communicate their choice. That is, OFC neurons encoded the subject's choice while the animals were still licking in the central port (time <0 s). In sum, OFC neurons carry information about sucrose intensity judgment earlier than aIC neurons.

Instead of using sucrose intensity, we note that the animals could be using palatability to generate their behavioral responses. To investigate this possibility, we used the sucrose-evoked lick rate to construct a palatability generalization function that we then compared with the psychometric generalization function. The results show that licking responses could be used to predict behavioral responses in only 1 out of 171 sessions. Moreover, no Choice-related neurons were recorded from this session (data not shown). Therefore, we consider it is unlikely that rats guided their choices based on oromotor sucrose-evoked palatability responses but rather favor the idea that rats make decisions based on sucrose's intensity.

Preferred direction neurons

Previous studies have demonstrated the existence of neurons in the OFC that encoded information about movement direction (**Feierstein et al., 2006; MacDonald et al., 2009; Roesch et al., 2006**). To both confirm and extend those studies we determined if there was a similar movement-direction coding in the pIC, aIC, and OFC. This was accomplished by employing a Receiver Operating Characteristic (ROC) curve (**Green and Swets, 1966**) which determined how distinguishable were the firing rate distributions of two events (i.e., leftward vs. rightward movement). The area under the ROC curve was scaled from -1 to $+1$, providing a Preference Index (P_{index}), where -1 means a complete preference for leftward direction, $+1$ a complete selectivity toward the rightward direction, and 0 indicates no preference. Then, using the firing rates, we computed P_{index} 's for the Return and Response epochs.

In the Response epoch, rats moved from the center port to a lateral port (left/right) whereas in the Return epoch go from a lateral port to central port (left/right; see schematics **Figures 1A** and **6A**). Thus, both epochs shared a similar, leftward or rightward, movement direction. We reasoned that Direction-selective neurons should fire for movements sharing a direction, but that may occur at

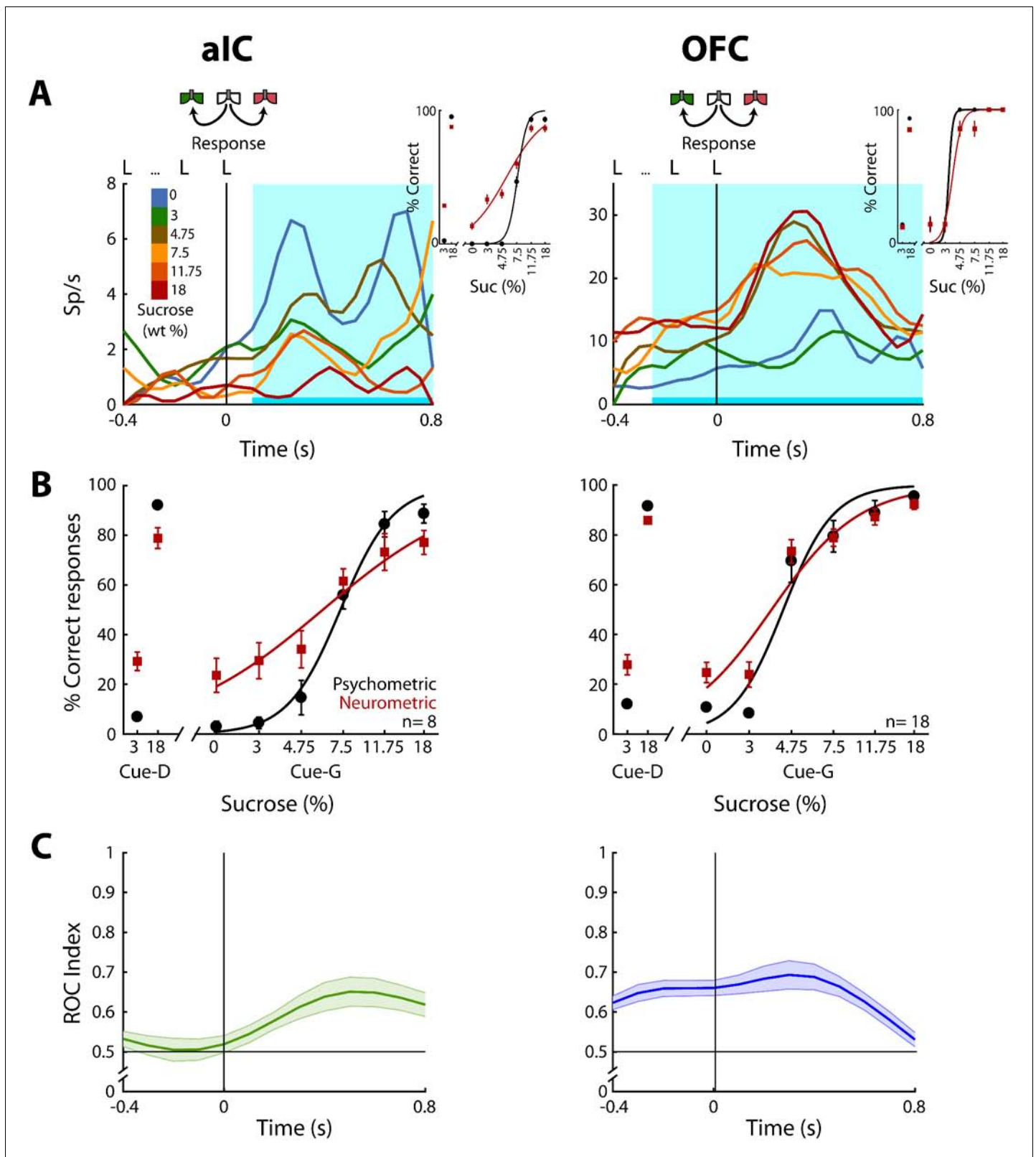


Figure 5. OFC Choice neurons carried information about the subjects' decisions earlier than in the aIC. (A) Examples of an aIC (left panel) and an OFC (right panel) neuronal response aligned to the last lick given at the central spout. Firing rates covaried with subject's Low or High choices. After the last lick in the central spout, subjects must walk to one of the lateral spouts. The colormap indicates the sucrose concentration. The PSTHs show the firing rates before and after rats had initiated the response movement. The cyan-shaded rectangle indicates the 'best window' where neural activity tracked

Figure 5 continued on next page

Figure 5 continued

subject's choices, see Inset for psychometric (black) and neurometric (red) functions of each neuron. (B) Mean percentage of correct behavioral responses (psychometric curve, black sigmoid) and neuronal responses (neurometric curve, red sigmoid) of 8 aIC and 18 OFC neurons that tracked choice along the Response epoch. Responses to discrimination (Cue-D) and generalization (Cue-G) trials are depicted on the left and right side of the sigmoid, respectively. Data are expressed as mean \pm sem. (C) ROC index across the Response epoch for the aIC (left) and the OFC (right panel) neurons.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.018>

The following figure supplement is available for figure 5:

Figure supplement 1. OFC Choice neurons display a better accuracy (% correct responses) than pIC and aIC neurons.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.019>

different spatial locations. In the three cortices studied, we identified neurons that exhibited direction selectivity. **Figure 6A** shows three neuronal responses that exhibited either a Leftward-preferred selectivity (upper and lower panel) or a Rightward-preferred selectivity (middle panel). That is, the Leftward-preferred responses increased for leftward movements and did not respond to rightward movements (**Figure 6A**, cyan PSTHs). The middle panel shows a neuronal response from the aIC that fired better for a Rightward movement. The three panels in **Figure 6B** show, for all Direction-selective neurons in the three areas, the scatter plot of the Return's P_{index} relative to the Response's P_{index} . The black arrows indicate the P_{index} es for the three representative neurons shown in **Figure 6A**. Note that P_{index} values closer to the diagonal denote similar direction selectivity for the Return and Response epochs.

We also found that Direction-selective neurons displayed similar responses for Correct and Error trials (see raster plots), supporting the notion that movement direction was the primary feature modulating their firing rates. We note that the OFC had the best representation of direction selectivity tuning (Response's P_{index} ; One-way ANOVA: $F_{(2, 462)} = 6.1$; $p < 0.0001$). A Bonferroni *post hoc* confirmed that OFC had a better representation of direction selectivity in comparison to pIC and aIC ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively). Another more complete example of direction selectivity can be seen in its population activity in both task epochs (**Figure 6C**; also see the magnitude of Z-scores), with OFC yielding the greatest differences. To this point, a higher proportion of Direction-selective neurons was found in OFC (19.1%) in comparison to pIC and aIC (10.8%, $\chi^2 = 23.85$, $p < 0.0001$ and 10.8%, $\chi^2 = 22.32$, $p < 0.0001$, respectively; **Figure 6B**). Note that most of these neurons were Right-Selective neurons (Insets **Figure 6B**) perhaps because we recorded unilaterally in the left hemisphere. Overall, these data reveal that more OFC neurons tracked movement direction in comparison to both areas of the IC.

Outcome responsive neurons

Once the subjects are in the lateral goal-port, they would or would not receive water according to their choice (Correct or Error) and trial type (discrimination (Cue-D; water) or generalization (Cue-G; no water)). Recall that in Cue-D trials, reward delivery depends upon task performance whereas, in Cue-G trials, no reward was delivered regardless of choice. Thus, for Cue-G trials of 3 and 18 wt% sucrose, rats could not predict if the reward would be delivered or omitted. Therefore, by analyzing all rewarded vs. unrewarded trials (regardless of choice), we could disambiguate whether neurons tracked the outcome. In this regard, we identified a subpopulation of neurons that selectively fired for reward omission vs. reward delivery. **Figure 7A** displays the raster plots and PSTHs of three representative neurons. The pIC and OFC neurons did not respond to reward omission (RWO-named the Inactive population), but they fired to rewarded trials (RW- see dashed PSTHs). In contrast, the aIC neuron fired after reward omission (named Active population), while no responses were observed during reward delivery (**Figure 7A**, middle panel). Note that the pIC (57.1% vs. 17.9%) and the aIC (45.7% vs. 28.3%) had a higher proportion of neurons with Inactive than Active responses after reward omission ($\chi^2 = 72.88$, $p < 0.0001$ and $\chi^2 = 12.05$, $p = 0.0005$; respectively); while the OFC the proportion was similar (36.5% vs. 42.4%; $\chi^2 = 1.1$, n.s.), suggesting that pIC and aIC exhibited a bias toward having more neurons with Inactive responses after reward omission relative to OFC neurons. The population responses of both Inactive and Active Reward Omission neurons are seen in **Figure 7B**.

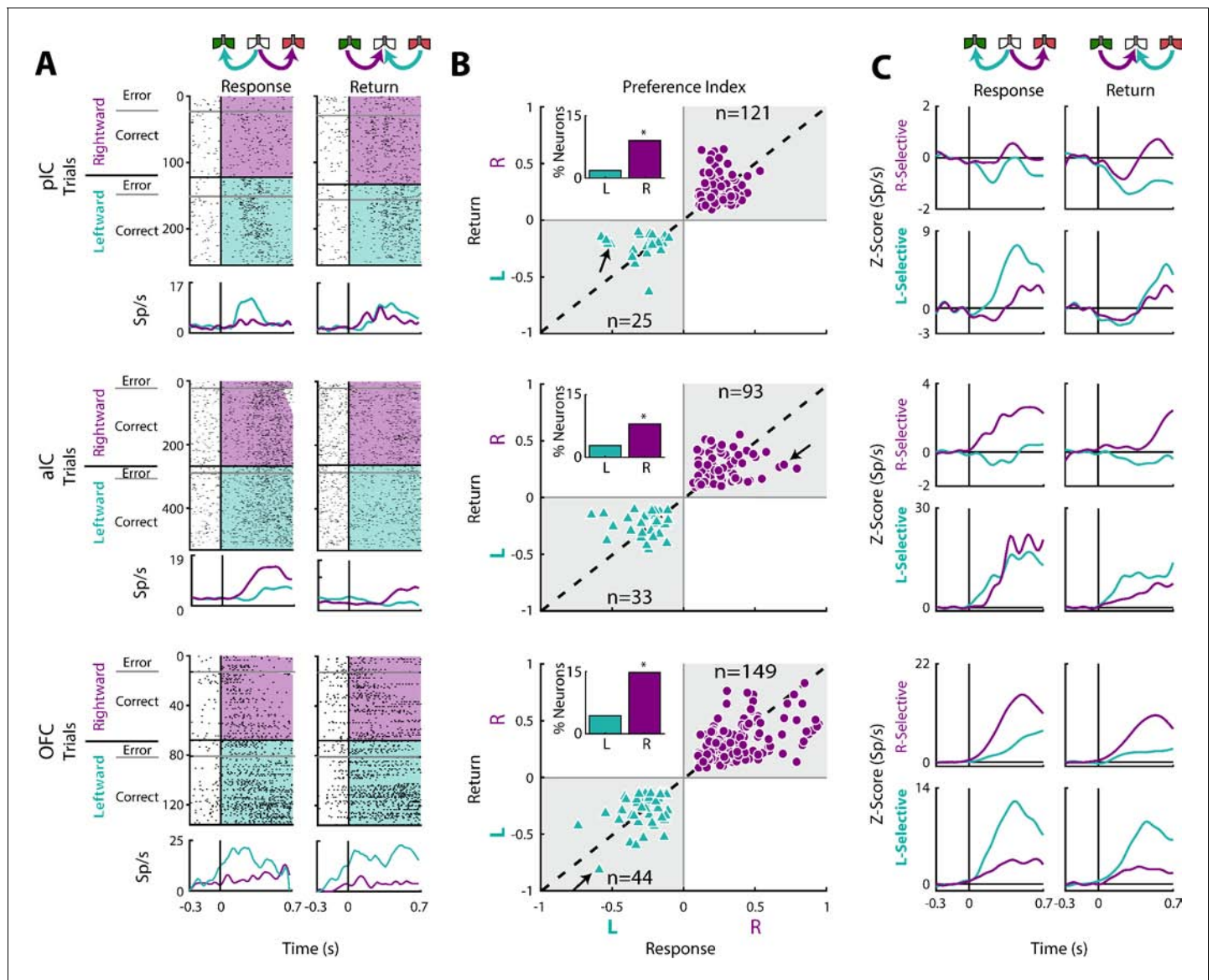


Figure 6. Movement direction coding in pIC, aIC, and OFC. **(A)** Three representative examples of movement direction neuronal responses in the pIC, aIC, and the OFC are depicted in the upper, middle and lower panel, respectively. In the rasters, each row is a single trial aligned to the beginning of the Response (left) and Return (right) epochs. Trials were sorted according to the movement direction and task performance: rightward (purple) and leftward (cyan) and error and correct trials. Each black tick represents a single spike. Below the rasters are displayed its corresponding PSTHs. The error trials were omitted for clarity. **(B)** Preference Indices for left (-1) or right (+1) side during the Return vs. the Response epoch (see Materials and methods). The quadrants in gray indicate where the Rightward- (purple circles) and Leftward-selective (cyan triangles) neurons are expected to be. The Inset depicts the proportion of neurons with Left/Right selectivity. The black arrows signal the examples displayed in panels A. **(C)** Normalized firing rates for Rightward- (upper) and Leftward-selective (lower panel) neurons, during the Response (left) and Return (right side) epochs. Data are expressed as mean \pm sem. It is seen that the OFC exhibits the greatest difference in the Z-scores in comparison to pIC and aIC.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.020>

Figure 7C depicts the lick rates during reward delivery (dashed line) and omission (solid line). Note that the rats rapidly detected reward omission since they stopped licking faster when water was omitted (the arrows indicate the second rewarded lick after delivery of the first water reward - time = 0 s - for RW trials; also see **Figure 1H**).

Finally, to quantify, the temporal dynamics of behavioral and neural decoding of the outcome, we ran a population decoder analysis. The data presented in **Figure 7D** revealed that pIC, aIC, and OFC contain neurons that detect and provide more information about reward omission than licking

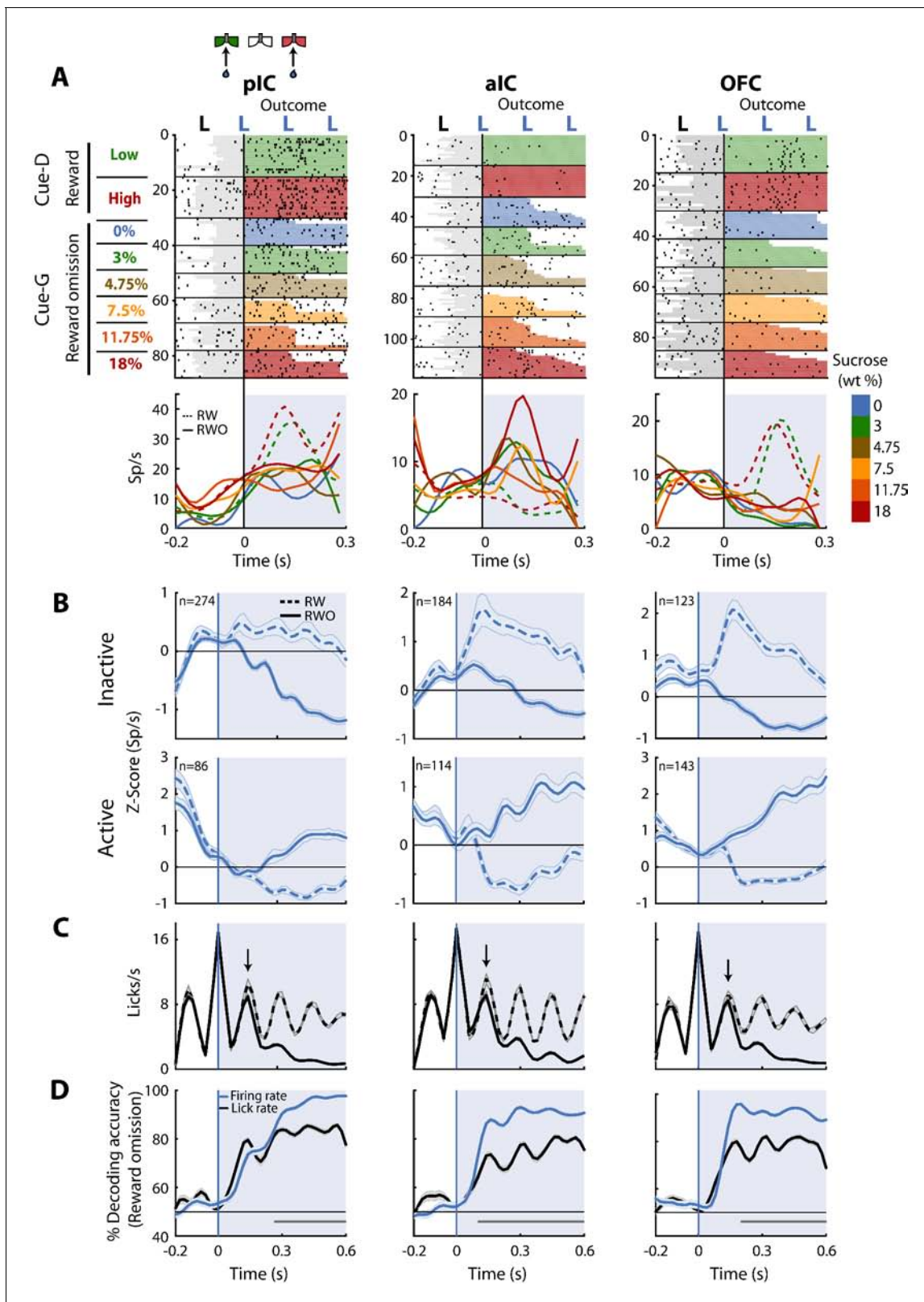


Figure 7. Neurons in pIC, aIC, and OFC are sensitive to reward omission. (A) Shown are three representative neuronal responses from the pIC (left panel), aIC (middle panel), and OFC (right panel) that encoded reward omission (RWO). The raster plot was aligned to water delivery upon the second lick in a goal-port lateral spout. The first lick was always dry. In the raster plots, the first two rows are for the rewarded (RW) Low (3%) and High (18%) correct discrimination trials. The sessions below were for the six types of generalization trials that were not rewarded (RWO; Cue-G trials). The sucrose

Figure 7 continued on next page

Figure 7 continued

concentration is indicated by the color-coded bar on the right side. Below are the PSTHs for Cue-D discrimination trials (dashed lines) and Cue-G generalization trials (solid lines). The blue-shaded rectangle indicates responses in Outcome epoch. (B) Population activity (Z-score) of the Inactive (upper panel) and the Active Reward-omission population (lower panel). These reflect those responses that either decreased or increased their firing rates after reward omission (continuous blue lines) relative to reward delivery (blue dashed line). (C) Lick rates from all generalization sessions. Continuous and dashed black lines indicate lick rates during reward omission and rewarded trials, respectively. The population PSTHs, of the firing and lick rate, were expanded from -0.2 to 0.6 s from the second lick to better appreciate the difference in firing and lick rates elicited by outcome delivery or omission. Note that the subjects required only one additional lick to detect reward absence (see arrows). (D) Decoding accuracy of the population of Outcome neurons discriminating between rewarded and unrewarded trials, using either the firing rates (blue) or the lick rates (black). The horizontal dark-gray line depicts where differences reached statistical significance.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.021>

behavior itself. That is, the decoding accuracy was better when the algorithm used spiking activity (blue line) instead of the licking rates (black line). Our results suggest that all three of these cortical taste regions are highly sensitive to both reward delivery and reward omission.

Integration and overlap among coding profile

Given that neurons encoding sensory and decision-variables were detected in different task epochs, we tested if there were any overlapping populations. This was accomplished using a Fisher's exact test to determine if the proportion of neurons that belong to two coding categories was above-expected chance levels. **Figure 8A** depicts a contingency table of the pairwise comparison of each coding profile category. For example, the left and middle quadrants indicates the number of neurons that encodes both Sensory and Direction (the parenthesis indicates the corresponding percentage of overlapping). Also, since in the discrimination task the Low and High Cue-D were also associated with a left/right movement, it is possible that some Sensory responses recorded in the Stimulus epoch, besides discriminating sucrose intensity, could jointly encode movement direction (in the Response epoch). We reasoned that if this were the case, then most Sensory neurons will also belong to the Direction population. This overlap was significant only in pIC (**Figure 8A**, upper panel; in 10% of the neurons). Moreover, the same result was found when we used all the Intensity-selective neurons to compute the contingency matrix (data not shown). Thus, it is unlikely that most Sensory neurons (or Intensity-selective neurons) jointly encoded sucrose intensity and movement direction. Instead, the results suggest that Sensory neurons play a more circumscribed role in chemosensory sucrose intensity processing.

Other observations revealed that the OFC Direction population was significantly associated with Choice and Outcome (**Figure 8A**, lower panel), suggesting that OFC neurons are capable of carrying, at multiple time periods, more than one spatiomotor variable related to performing the discrimination task.

The overlap between modulation and coding profiles

We also explored if neurons encoding decision-variables (coding profile) tend to exhibit a specific modulation profile (i.e., Phasic, Tonic, Coherent). It is important to note that all modulation profiles could, in principle, encode almost any of the sensory and decision-variables. However, only a few subpopulations exhibited a significant overlap. In general, no systematic overlapping pattern was shared across the three cortical regions, suggesting that by knowing the modulation profile of one neuron provides little, if any, information about what kind of decision-variables it might encode. That said, we observed that Lick-coherent neurons in the pIC and aIC had a higher likelihood of encoding decision-variables, except for Choice neurons in the aIC which were non-preferentially encoded by any modulation profile (**Figure 8B**, upper and middle panels). In contrast, Tonic-Active neurons in the OFC jointly encoded Choice, Direction, and Outcome variables (**Figure 8B**, lower panel). In sum, these data suggest a prominent role of the Lick-coherent neurons in encoding critical features of the task in the Insula, whereas in the OFC the tonic activity prevails in encoding decision-variables.

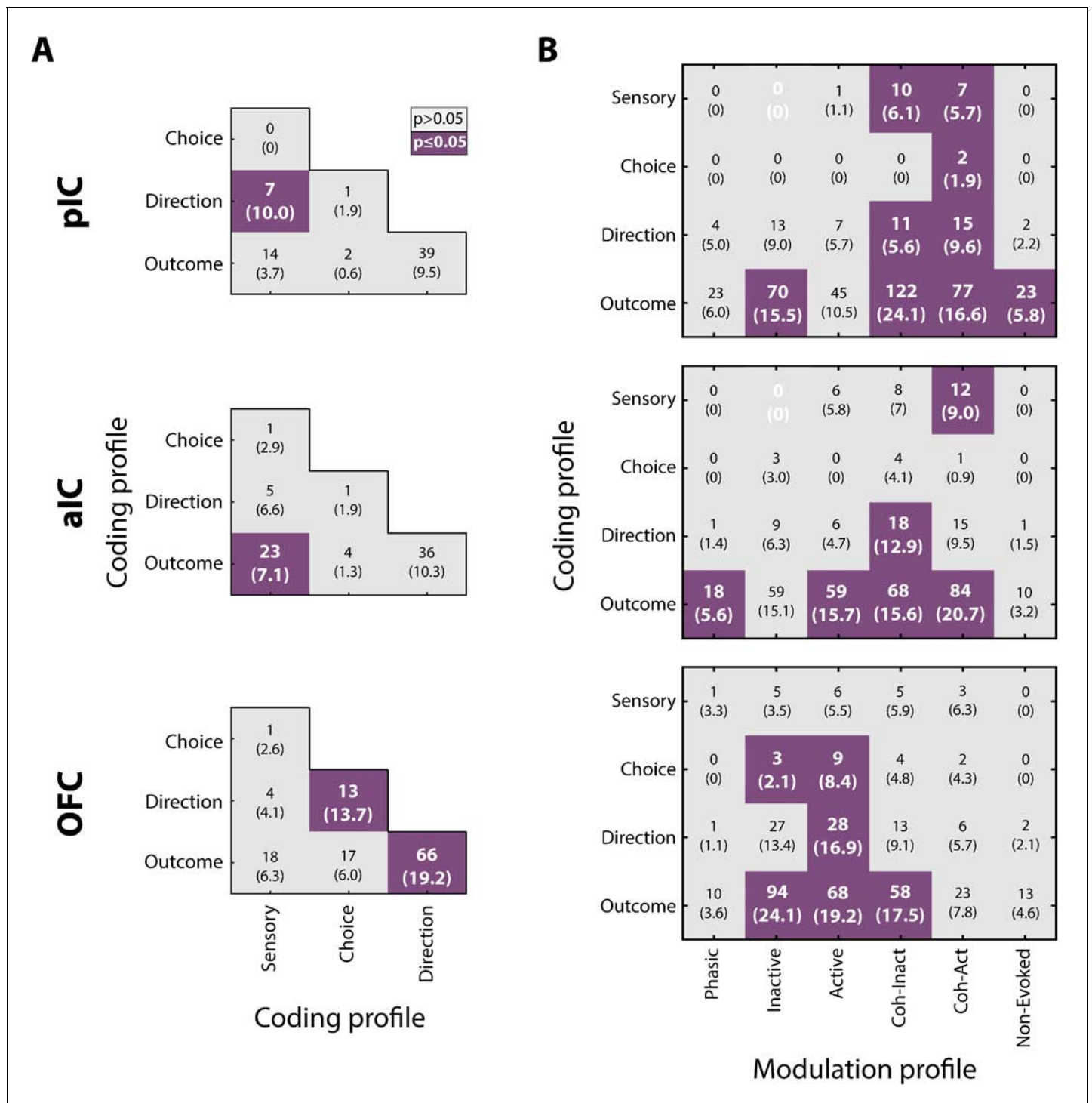


Figure 8. Neurons in pIC, aIC, and OFC encode more than one task-related variable. (A) Overlap of coding profiles. Contingency matrix indicating the number (and percentage) of neurons that belong to more than one group. Purple squares depict significant overlap as detected by a Fisher’s exact test ($p < 0.05$). (B) Contingency matrix showing the overlap between coding and modulation profiles. Same conventions as in A. Only neurons recorded from generalization sessions were included in this analysis to guarantee that data is drawn from the same distribution. Non-significant associated categories are indicated with a white 0. Data are presented as a number of neurons and percent in parenthesis.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.022>

Discussion

Sucrose intensity is a sensory attribute that contributes to the overconsumption of high-energy palatable foods (Avena et al., 2008; Spector and Smith, 1984; Veldhuizen et al., 2017). This study was undertaken to uncover how the perceived intensity of sucrose is represented across rat taste-related cortices (pIC, aIC, and OFC) and how this representation is transformed into decision-making variables such as choice or movement direction. We found that most neurons in these areas were responsive to the introduction of sucrose in the mouth. However, only a small subpopulation of them, in all areas, exhibited responses that tracked sucrose concentrations and that decoded sucrose's intensity equally well. Further analysis revealed that information about sucrose's intensity was conveyed in the both neuronal firing rate and spike timing. We also identified a population of neurons that tracked sucrose concentrations (Sensory neurons) with the ones that increased reflecting changes in sucrose's intensity and the ones that decreased possibly reflecting changes involving either osmotic pressure (Hanamori, 2001; Lyall et al., 1999) or the washing out of bicarbonate ions in saliva (Zocchi et al., 2017). In addition, neurons in the pIC and aIC encoded movement direction although OFC neurons tracked direction better than those in the Insula. Also, the neuronal signals related to Outcome (reward) were tracked similarly by these three cortical regions. In sum, we found that, in rats at least, a small and distributed group of Intensity-selective neurons represent sucrose's intensity, whereas decision-variables were also encoded in a distributed manner, but the OFC tends to encode choice and movement direction earlier and better than the Insula. These findings add to our understanding of the neural representation of sucrose's intensity in these three taste cortices and contribute to the elucidation of the decision-making processes that underlie choices guided by the concentration of sucrose.

Cortical representation of the perceived intensity of sucrose

The neural representation of sweet taste intensity has been usually characterized by firing rates that monotonically (or sigmoidally) increase with sucrose concentration along the gustatory axis from the periphery to taste cortices (Barretto et al., 2015; Rolls et al., 1990; Roussin et al., 2012; Scott et al., 1991; Thorpe et al., 1983; Villavicencio et al., 2018; Wu et al., 2015). These experiments usually have been performed in animals that do not have to make any other decision than to lick (Stapleton et al., 2006; Villavicencio et al., 2018) or have the tastant passively delivered (Katz et al., 2002). However, as noted, the intensity attribute of a tastant can only be measured in behaving animals that actively report the perceived concentrations of sucrose. To address this issue, we developed a sucrose intensity discrimination task (see Figure 1) while recording from three cortical taste areas. We found that ~95% of recorded neurons were responsive to a single drop of sucrose (Cue-D), but the majority of them were unable to distinguish between 3 and 18 wt% sucrose. We posit that such a massive number of responsive neurons, which includes Intensity-selective and Non-selective neurons (see Figure 3—figure supplement 1), could be the result of the arrival of a salient cue (Cue-D) to an over trained animal. This stimulus is highly relevant in the context of thirsty subjects whose internal state would motivate them to attend to the delivery of an stimuli whose accurate detection and identification will lead to obtaining water. These findings are in agreement with observations that a state of physiological need (e.g., hunger) gates insular cortex responses to food cues (Livneh et al., 2017) and that caudolateral OFC neurons are sensitive to hunger (Rolls et al., 1989). Likewise, in head-fixed trained mice, it was recently reported that odor stimulation also triggers a massive widespread cortical activation in mice performing a Go/No-Go goal-directed behavior (Allen et al., 2017).

Multiple pieces of evidence support the idea that a small population of cortical neurons could represent sucrose intensity. For example, electrophysiological studies in rodents and non-human primates have reported a low proportion (ranging between 2–35%) of Insular (pIC) and OFC neurons with selective responses to at least one taste quality (Pritchard et al., 2005; Rolls et al., 1990; Rolls et al., 1989; Scott et al., 1991; Stapleton et al., 2006; Thorpe et al., 1983; Yamamoto et al., 1989; Yaxley et al., 1990). In contrast, one recent study in anesthetized mice, using a calcium sensor (GcAMP6), reported almost 90% of taste responses in the pIC were tastant selective although only 26% were sucrose-best (Fletcher et al., 2017). The differences in proportions could be explained by different data analysis and experimental preparations employed (Chen et al., 2011; Katz et al., 2001). Unfortunately, only a few studies have reported the proportion of cortical

neurons tracking taste intensity. In this regard, in the monkey Insula cortex, *Scott et al. (1991)* found that less than 1.5% (24/1661) of the recorded neurons responded linearly to increasing glucose concentrations. To the best of our knowledge, our data is the first demonstration that a small subset of cortical neurons represents sucrose intensity better than the entire population. Although intensity-selective neurons comprise a 'small' population relative to Non-selective neurons (*Figure 3B* and *Table 2*), we note that 18% of neurons in a rat's cortex would represent a large population. Further studies should investigate whether Intensity-selective neurons are sucrose-selective or broadly tuned (*Erickson, 2001*).

In this regard, it is interesting that Intensity-selective neurons were present in the recorded three cortical regions. This result is somewhat surprising in light of the experiments in the mouse Insula cortex showing the existence of non-overlapping posterior (aversive-pIC) and anterior (appetitive-aIC) 'hotspots' (*Chen et al., 2011*). Gain and loss of function experiments in mice have demonstrated that the 'sweet hotspot' is sufficient and necessary for sweet taste recognition (*Peng et al., 2015*), and a similar topographic separation of disgust-appetitive in monkeys' anterior Insula has been found, although in a different anatomical axis (dorsal-appetitive and ventral-aversive (*Jezzini et al., 2012*)). One explanation for the distributed responses that we observed (*Figures 2* and *3*) is that sucrose's identity is initially encoded in the sweet hotspot (located in aIC), but information about its perceived intensity is then distributed to other areas. Further experiments should involve the inactivation of one or more of these areas. Nevertheless, we found that each recorded cortical region decoded sucrose intensity equally well, including the pIC which according to (*Chen et al., 2011*) is where the 'aversive hotspot' is located. Thus, whatever the explanation, each of these three cortical regions contains information about sucrose intensity, revealing the distributed nature of taste intensity coding. However, the fact that all three areas decoded sucrose intensity equally well does not imply that they represent the same information, but rather they may encode different features of the sucrose intensity cues. In this regard, and despite that stimulation of the pIC elicits aversive behavioral responses (*Peng et al., 2015*), we posit that the pIC should also play a general role in gustation since it receives most inputs from the gustatory thalamus (*Cechetto and Saper, 1987*), which could rationalize why there is sucrose responses in this cortical area (*Fletcher et al., 2017*). The aIC responses might be related to encoding the sweet percept, due to the 'sweet' hotspot, mentioned above, whose activation leads to appetitive behaviors (*Chen et al., 2011; Peng et al., 2015; Wang et al., 2018*). Finally, the OFC responses during the Stimulus epoch could also signal the relative reward value of Low and High sucrose cues (*Rolls et al., 1990; Tremblay and Schultz, 1999*). Our data suggest that the perceived intensity of sucrose is spatially distributed along taste cortices with a compact and distributed neural code, in the sense that a small subset of spatially disperse neurons contain more information, about sucrose intensity, than the entire population (*Field, 1994; Olshausen and Field, 2004; Stüttgen et al., 2011*).

The contribution of spike timing and spike count in taste identity coding has been extensively studied by Di Lorenzo and colleagues (*Di Lorenzo et al., 2009; Di Lorenzo and Victor, 2003; Roussin et al., 2012*). However, less is known about its contribution to the encoding of sweet intensity. In this regard, we found that additional information about sucrose's intensity was conveyed in the spike timing of neurons (*Figure 3B*). A recent study in the olfactory system reported that piriform cortex neurons encode odor intensity by using only the spike timing, and not the spike count information (*Bolding and Franks, 2017*). Likewise, our results revealed that spike timing carries additional information about taste intensity. However, spike count is also a contributor since we found Sensory neurons that tracked the concentration of sucrose by increasing its firing rate (*Figure 4*). Thus, in the taste system, it seems that both spike count and spike timing information could be complementary codes for the perceived intensity of sucrose.

Precise spike timing entrained by rhythmic licking serves as an internal clock, relevant for coordinating activity across brain regions (*Gutierrez et al., 2010; Gutierrez et al., 2006; Roussin et al., 2012*). We found that the Lick-Coherent neurons were both sufficient and necessary to decode the perceived intensity of sucrose (Tables 3 and 4). More importantly, we also uncovered, for the first time, that the level of coherence was significantly higher in the Stimulus-epoch in comparison with the pre-Stimulus and the Outcome epochs (*Figure 3—figure supplement 3*). This result implies that lick-spike coherence not only reflects oromotor responses, but that it is also involved in gating the input of sensory and taste information that can be 'read out' across taste cortices in coordination with licking (*Buzsáki, 2010; Gutierrez et al., 2010*).

Decision-making in taste cortices guided by sucrose concentration

The best way to access the representation of the perceived intensity of sucrose is by allowing animals to make a decision about its intensity. Thus, it is important to determine the extent to which neuronal activity correlates with the animal's behavioral choices. We found that a distinct subset of neurons exhibited Choice-related activity in aIC and OFC with responses that covaried with the subject's choices (**Figure 5**). Furthermore, OFC (but not aIC) neurons tracked choice before a response was emitted. These findings are in agreement with behavioral observations which suggests the subjects have already made a decision before leaving the central port (**Perez et al., 2013; Uchida and Mainen, 2003**). Our findings reveal a neural correlate of the perceived intensity of sucrose in the gustatory system.

Encoding of movement direction in taste cortices

Spatial navigation is an essential behavior that allows organisms to explore the environment and direct their actions toward a goal (**Epstein et al., 2017**). Spatial variables such as direction are essential to reach the desired outcome or to avoid punishment. Although spatial information is encoded in brain regions specialized for spatial processing, such as the hippocampus and entorhinal cortex, recently it has been found that other unexpected areas also contain spatial information (**Yin et al., 2018**). In this regard, here we also found that OFC neurons robustly encoded movement direction. Likewise, neurons with direction selectivity in the OFC have been recorded in tasks involving two or four spatial locations (**Feierstein et al., 2006; Lipton et al., 1999; Roesch et al., 2006**). Lesioning the OFC disrupts performance in an allocentric foraging task (**Corwin et al., 1994**), and radial arm and Morris water maze (**Kolb et al., 1983**). Moreover, the OFC also encodes head angle, spatial trajectory and movement speed in a spatial discrimination and reversal task in a plus maze (**Riceberg and Shapiro, 2017**). The latter evidence agrees with the high proportion of OFC Direction-selective neurons that we identified (**Figure 6**). In contrast, less is known about the participation of the Insular Cortex in encoding spatial navigation parameters; although, it is known that ablating either the pIC or the aIC results in a severe impairment of spatial navigation in a water maze (**Nerad et al., 1996**). Here, for the first time, we found that neurons in the pIC and aIC tracked movement direction, probably through their connections with the entorhinal cortex (**Wang et al., 2018**). However, according to the P_{index} values, the encoding of direction was weaker in the IC in comparison to the OFC (**Figure 6**). Altogether, our data points to a dominant role for the OFC, and to a lesser extent the IC, in encoding movement direction; an essential feature of spatial navigation for goal-directed behaviors.

The detection of either reward delivery or reward omission is essential for animals' survival and for triggering learning based on reward prediction errors (**Schultz et al., 1997**). Previous observations have shown that aIC and OFC neurons encode reward omission (**Feierstein et al., 2006; Jo and Jung, 2016**) and we found the pIC, aIC, and the OFC differentially respond to the presence and absence of reward (**Figure 7**); suggesting a distributed tracking of reward omission. However, this is the first demonstration that pIC neurons could also encode reward omission. The pIC has a key role in updating the current outcome representation to guide action selection. This is because without affecting the execution of the instrumental responses its chemogenetic inhibition impairs the ability of subjects to adjust their actions based upon the outcome current value (**Parkes et al., 2018; Parkes et al., 2015**). Our results demonstrate a widespread representation of neural signals related to the Outcome, which is a crucial process for learning and adaptive behavior.

As noted above, we identified several differences and similarities between the evoked pIC, aIC, and OFC responses. The main similarity among all three brain regions was that they decoded sucrose concentration equally well. A major difference was that OFC neurons carry information about decision-variables earlier and with higher quality than neurons in the Insula (**Figures 5–7**). That is, unlike the Insula, the OFC was the brain region with more neurons jointly encoding more than one decision-variable (Choice, Direction, and Outcome; **Figure 8A**), indicating that the OFC has a complete representation of the most relevant task events. It follows that the OFC provides an up-to-date representation of task-related information that is required to yield the best outcome. In reinforcement learning, this information is named 'state' representation (**Schuck et al., 2018; Stalnaker et al., 2016; Sutton and Barton, 1998**).

The OFC is also involved in encoding the subjective reward value of associated choices (Conen and Padoa-Schioppa, 2015; Rolls, 2004; Tremblay and Schultz, 1999). However, in our task correct actions (choosing left/right) led to the same reward (i.e., 3 drops of water), suggesting, in agreement with findings in an odor guided task (Feierstein et al., 2006), that OFC neurons could encode spatiomotor variables, such as Choice and Movement direction, even for actions with the same reward value. Our results both confirm and extend these findings by further demonstrating that OFC neurons could represent decision-variables in a task guided by the intensity of sucrose. We posit that OFC may act as a hub that represents decision-variables regardless of the type of sensory input used to guide goal-directed behaviors. The OFC is a brain area well suited to perform this function since it receives connections from sensory areas related to olfactory, gustatory, visual, and somatosensory processing (Cavada et al., 2000).

Concluding remark

We found evidence that in animals trained to identify sucrose intensity the taste system uses a compact and distributed code to represent its perceived intensity. Moreover, the perceived intensity of sucrose and the decision-variables associated with the discrimination task can be fully reconstructed from a small population of neurons in the pIC, aIC, and OFC.

Materials and methods

Chemicals

Sucrose was reagent-grade chemical quality purchased from Sigma-Aldrich (Mexico City, Mexico). It was dissolved in distilled water and used the following concentrations 3, 4.75, 7.5, 11.75, and 18 wt/vol%. Solutions were prepared fresh every other day. They were maintained under refrigeration, and they were used at room temperature.

Subjects

We used 28 male Sprague-Dawley rats weighing 300–320 g at the beginning of the experiment, and by the end of recordings, their weights were 412.3 ± 8 g. Animals were individually housed in standard laboratory cages in a temperature-controlled ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) room with a 12:12 h light-dark cycle (lights were on 0700 and off at 1900). All procedures were approved by the CINVESTAV Institutional Animal Care and Use Committee. During experiments, rats were given *ad libitum* access to tap water for 30 min after testing. Chow food (PicoLab Rodent Diet 20, St. Louis, MO, USA) was always available in their homecage. All experiments were performed in the late light period from 1400 to 1900 h since at this period rats were more alert and motivated to work.

Behavioral equipment

Animals were trained in four identical standard operant conditioning chambers of internal dimensions $30.5 \times 24.1 \times 21.0$ cm (Med Associates Inc, VT, USA). The front panel of each chamber was equipped with one central and two laterals V-shaped licking ports with a photobeam sensor to register individual licks (Med Associates Inc, VT, USA). Each port had a licking spout that consisted of either one (for lateral ports) or a bundle of up to 6 (for the central port) blunted needles (20-gauge) that were carefully sanded and glued at the tip of a stainless-steel sipper tube. Each needle was connected to a solenoid valve (Parker, Ohio, USA) via a silicon tube. The volume of the drop was adjusted before each session and maintained by using an individual and constant air pressure system (Perez et al., 2013). On the rear panel, there was an ambient white noise amplifier with a speaker that was turned on in all the sessions. Chambers were enclosed in a ventilated sound-attenuating cubicle. Experimental events were controlled and registered by a computer via a Med Associates interface (Med Associates Inc, VT, USA).

Sucrose intensity discrimination task

All subjects were trained in a 'Yes/No' psychophysical task (Stüttgen et al., 2011) to emit a response by either going left or right based on the concentration of a 10 μL sucrose cue (Low 3% or High 18 wt%). For trained animals, the task comprises four epochs: Return, Stimulus, Response, and Outcome. The outline of a trial is depicted in **Figure 1A**. A trial began when trained subjects moved

from either lateral port to return the central spout; this epoch was named Return. Once in the central port, the rats were required to lick the empty spout a variable number of times (between two or three) to receive a 10 μ L drop of either 3 or 18 wt% sucrose (hereafter Cue-D). Rats could give additional empty licks after Cue-D delivery. These empty licks were used as a measure of the palatability oromotor responses elicited by sucrose (Perez et al., 2013). The time elapsed from Cue-D delivery to the last lick in the central spout was designated as the Stimulus epoch. Subsequently, subjects had to move to either the Low or High sucrose-associated port (Response epoch) and emit, at least, one dry lick. If the response was correct, subsequent licks delivered three drops of water as a reward, while incorrect choices briefly turned off and on the lights during 50 ms (at the second dry lick) and subsequent licks were without a reward. The Outcome port comprises the interval where rats were licking in the lateral spout. The learning criterion was set at $\geq 80\%$ correct responses during four consecutive sessions.

Importantly, a drop of water was not delivered at the central port as a washout because in a pilot study we found that rats did not learn the task despite extensive training (>50 sessions). We speculate that this was due to an imbalance in the reward value between the licking ports. Specifically, the reward value of one drop of water +one drop of sucrose (3 or 18 wt%) at the central spout seems to be higher than the value of 3 drops of water delivered at the lateral spouts. The inclusion of a water washout failed to motivate rats and induced learning and thus the water washout, at central spout, was no longer used.

Generalization sessions

Once the animals learned to discriminate between Low (3 wt%) and High (18 wt%) sucrose by getting at least 80% of the trials correct, the generalization sessions were introduced. Generalization sessions were composed of 20% of the trials (80% were of discrimination trials). These trials were like discrimination trials with the exception that after at least two discrimination trials subjects received a drop of either 0, 3, 4.75, 7.5, 11.75, or 18 wt% sucrose. In these trials, no reward was delivered after choosing either lateral spout (and in the second dry lick, the lights turned briefly on and off for 50 ms, signaling that no reward will be delivered). Discrimination and generalization sessions were interleaved, such that a generalization session occurred if at least one discrimination session with $\geq 80\%$ correct responses took place the day before. This procedure avoids impairment of task performance.

Since no statistical differences in task performance were found among groups, behavioral data were collapsed across subjects for the three brain regions recorded. For discrimination sessions, the percent correct responses were obtained by counting the number of trials for Low or High that subjects responded to the correct associated choice spout, divided by the total number of trials. To determine if performance was affected by electrode implantation, the average performance of the five sessions pre- and post-surgery were compared using a paired t-test (Figure 1). For generalization sessions, the percent responses given to the High concentration spout was plotted, and a sigmoid function was fitted to obtain the psychometric function. Likewise, surgery effects over generalization sessions were evaluated by comparing the average performance for all these sessions before and after surgery with a paired t-test. The time spent licking in the central port for each concentration (Cue-D +Cue G trials) during generalization sessions were collapsed and compared using a one-way ANOVA, and a Dunnett *post hoc* confirmed differences against sucrose 3 wt% Cue-D trials. As well, the time spent during the Return and Response epochs for each movement direction (left or right), and during the Outcome epoch for reinforced and unreinforced trials, were collapsed and compared using an unpaired t-test.

Surgery and histology

Once animals achieved the learning criterion and at least three consecutive generalization sessions were tested, then we proceeded to implant a custom-made 16 tungsten wires (35 μ m diameter) each arranged in a 4×4 (1 mm²) multielectrode array. The array was implanted in the posterior Insula (pIC; n = 11), in the anterior Insula (aIC; n = 8) and the orbitofrontal cortex (OFC, n = 9). All subjects were anesthetized using ketamine (70 mg/kg, i.p.) and xylazine (20 mg/kg, i.p.). The rats were put in a stereotaxic apparatus where a midline sagittal scalp incision was made to expose the skull and to put two holding screws. A third screw soldered to a silver wire that served as an

electrical ground for recordings was inserted above the cerebellum (*Gutierrez et al., 2010*). A craniotomy in the left hemisphere was made to implant an electrode array in one of the following sites: posterior IC (AP: +1.0 to +1.4 mm, ML: +5.2 mm from bregma, DV: −4.4 to −4.7 mm ventral to dura), anterior IC (AP: +1.6 to +2.3 mm, ML: +5.2 mm from bregma, DV: −4.6 to −4.7 mm ventral to dura) or OFC (AP: +3.5 mm, ML: +3.2 mm from bregma; DV: −4.4 mm ventral to dura). Dental acrylic was applied to cement the electrode array to the screws. The rats were given intraperitoneal enrofloxacin (0.4 ml/kg) and ketoprofen (45 mg/kg) for three days after surgery and were allowed to recover for one week. After the completion of the experiments, subjects were deeply anesthetized with an overdose of pentobarbital sodium (150 mg/kg, i.p.) where they were transcardially perfused with PBS (1x) followed by 4% paraformaldehyde. Brains were removed, stored for one day in 4% paraformaldehyde and posteriorly were changed to a 30 vol./vol.% sucrose/PBS solution. Brains were sectioned in 40 μ m coronal slices, and they were stained with cresyl violet to visualize the location of electrode tips.

Electrophysiology

Neural activity was recorded using a Multichannel Acquisition Processor system (Plexon, Dallas, TX) interfaced with a Med Associates conditioning chamber to record behavioral events simultaneously. Extracellular voltage signals were first amplified x1 by an analog headstage (Plexon HST/16025-GEN2- 18P-2GP-G1), then amplified (x1000) and sampled at 40 kHz. Raw signals were band-pass filtered from 154 Hz to 8.8 kHz and digitalized at 12 bits resolution. Only single neurons with action potentials with a signal-to-noise ratio of $\geq 3:1$ were analyzed (*Gutierrez et al., 2010*). The action potentials were isolated on-line using voltage-time threshold windows and three principal components contour templates algorithm. A cluster of waveforms was assigned to a single unit if two criteria were met: Inter-Spike Intervals were larger than the refractory period set to 1 ms, and if it is formed a visible ellipsoid cloud composed of the 3-D projections of the first three principal component analysis of spike waveform shapes. Spikes were sorted using Offline Sorter software (Plexon, Dallas, TX) (*Gutierrez et al., 2010*). Only time stamps from offline-sorted waveforms were analyzed.

Data analysis

All data analysis was performed using MATLAB (The MathWorks Inc., Natick, MA) and Graphpad Prism (La Jolla, CA, USA). Unless otherwise indicated, we used the mean \pm sem and the α level at 0.05.

Modulation profiles

Cue-evoked responses

In the Stimulus epoch, five major Cue-evoked responses were identified: Phasic, Tonic either Active or Inactive and Lick-coherent either Active or Inactive (*Figure 2*). We compared the proportions of Cue-evoked responses among brain regions using a chi-square test. Only correct trials were analyzed. Each Cue-evoked response type fulfilled a criterion that is described in detail below:

Phasic responses

To determine if there were phasic Cue-evoked responses, we compared the firing rate from 0 to 0.2 s after Cue-D delivery against the baseline, which encompassed the dry licks emitted from −0.3 to onset of Cue-D delivery (*Villavicencio et al., 2018*). If there was a significant difference (Wilcoxon rank-sum test), then we used a cumulative sum test to identify the onset of modulations (see *Gutierrez et al., 2006*). This analysis identified the onset and offset of modulations by detecting in which time bin the firing rate significantly increased or decreased relative to the baseline (*Figure 2—figure supplement 1*). A neural response was denominated as Phasic if there was one excitatory modulation that started between the first 0.1 s after Cue-D delivery and the duration of this modulation was within 0.04 and 0.2 s. This procedure assures that only phasic (but not tonic) modulations were selected.

Tonically-Inactive and -Active responses

To determine whether a neuron showed a statistically significant evoked response during the Stimulus epoch, we used a 'best window' analysis. The analysis consisted of scanning the firing rate after

Cue-D delivery in multiple window sizes (from 0.05 to 0.6 s in steps of 0.05 s) encompassing only the interval from 0 to 0.6 s. Hence, the firing rate in a variety of time centers (from 0.05 to 0.5 s, in 0.05 s steps) and for multiple window sizes was computed, such that each window was estimated as the center \pm (window size/2). The firing rate on each window was compared against baseline using a Wilcoxon rank-sum test. For all statistically significant windows, the 'best window' was the one with the largest delta (change) in firing rate relative to baseline. A modulation was assigned to be tonic if the duration of the modulation was greater or equal to 0.2 s. Positive modulations were termed Active, while negative modulations were designated as Inactive.

Lick coherent responses (Coh-Inactive and -Active)

Oscillatory activity between spikes and rhythmic licking (in the 4–12 Hz bandwidth) was identified using multi-taper spectral analysis (*Jarvis and Mitra, 2001*) by segmenting into chunks the PSTHs aligned to the first lick given at the central spout (for additional details see *Gutierrez et al., 2010*). The confidence intervals and the significance threshold were determined by using a jackknife method (*Jarvis and Mitra, 2001*). A neuron was classified as Lick-coherent only if the lower confidence interval was above the significance threshold. To detect if a Lick-coherent neuron exhibited a Cue-D-evoked response a 'best window' analysis was employed. To determine whether the modulation was either inactive or active the mean firing rate of the significant window was subtracted from the baseline. If the result was positive, the modulation was named Lick-coherent Active, while if it was negative, it was named Lick-coherent Inactive. From these Lick-coherent neurons we calculated the average coherence value (in the 4–12 Hz band) between licks and spikes in the three brain regions. Differences in coherence values were analyzed using a one-way ANOVA, and a Tukey *post hoc*. Finally, in order to assess the relevance of coherence in the detection of gustatory cues, we calculated the coherence value during three task epochs. Specifically, we used the central licks given before (pre-Stimulus) and after Cue-D delivery (Stimulus epoch), and the reinforced licks given during the Outcome epoch. Coherence value between epochs was compared by using a one-way ANOVA, and a Tukey *post hoc* confirmed further differences.

Non-modulated and Coherent-Non-evoked responses

Neuronal responses that displayed no significant statistical differences between baseline and cue delivery were denoted Non-Modulated. Neurons that were Lick-coherent but which firing was not significantly different between baseline and 0.6 s after Cue-D delivery were termed as Coherent Non-evoked. When Non-modulated and Coherent-Non-Evoked neurons were collapsed they were named as Non-evoked.

Intensity-selective neurons

To determine Intensity-selective responses we also used the 'best window' approach. A Wilcoxon rank-sum test was applied to compare the firing rate between Low vs. High Cue-D trials during different intervals within the evoked response. The significant window with the higher delta in the firing rate between intensities was named the 'best window.' Neurons that responded similarly to both intensity cues were named Non-selective. A chi-square test was used to determine differences in the proportion of Intensity-selective and Non-selective neurons among cortical regions.

To measure the differences in licking and its impact on neural responses associated with sucrose's intensity, we determined if lick rate differences occurred during the best-window of Intensity-selective neurons and, if so, we then quantified the proportion of the best-window with lick rate differences. To accomplish this, we employed a Receiver Operating Characteristic (ROC) analysis (*Green and Swets, 1966*) that quantified how different were the lick rates distributions of Low and High trials during the first 0.6 s of the Stimulus epoch. The area under the ROC curve (auROC) and its confidence intervals were calculated for all bins (bin size 0.1 s). If the inferior confidence interval of a specific bin was above 0.5, then lick rates were significantly different in that bin. Only Intensity-selective with significative lick rate differences within the best-window were counted and considered to calculate the proportion of the best-window that displayed lick rate differences.

Population decoding of sucrose intensity

To evaluate if Intensity-selective neurons contained more information about sucrose intensity than Non-selective neurons we employed a neural population decoder (MATLAB toolbox of the 1.0 version of the Neural Decoding Toolbox, www.readout.info) (Meyers, 2013). To achieve this goal, the decoder was tested with a vector that contained the label of the sucrose intensity given (Low or High) in each trial and a matrix $m \times n$ that contains the number of spikes occurring in each trial (m) during each 20 ms time bins (n). This matrix is comprised of spikes occurring from Cue-D delivery 0 to 0.6 s. Then, the firing rate matrix was normalized to Z-score, and the data set was divided into k different splits (number of data sets). Subsequently, $k-1$ splits were used to train the classifier by averaging the firing rate from the selected trials according to the label class (Low or High), therefore generating a Low or High activity vector where each row represents the firing rate at each time bin. The remaining split was used to test the classifier. To improve the decoder performance this procedure was repeated k times using a different test split each time, the average of these results was reported as the percentage decoding accuracy. The decoder performance for Non-evoked, 'All,' Non-selective, and Intensity-selective populations were obtained. Significant differences were determined by using a one-way ANOVA and a Bonferroni *post hoc* to detect differences in performance between populations. Furthermore, to determine if spike timing conveyed information about sucrose intensity, we maintained the original firing rate but the time at which each spike occurred was shuffled, in each trial. For this, we counted the number of spikes (n) occurring from 0 to 0.6 s after Cue-D delivery and sampled without replacement n new timestamps during this interval. A paired t-test was employed to determine differences in decoding accuracy before and after spike timing shuffle.

Since spike timing shuffling might disrupt the noise-correlation between pairs of simultaneously recorded neurons; and these correlations can affect population decoding (Carnevale *et al.*, 2013; Cohen and Kohn, 2011; Zohary *et al.*, 1994), we determined the impact of removing noise-correlations over the decoding accuracy of sucrose intensity. To do so, we detected the neuron-pairs obtained from different channels (Cohen and Kohn, 2011) and normalized the firing rate of each neuron relative to each stimulus (Low or High) by following this equation:

$$\frac{FR_{k,s} - \langle FR_{s} \rangle}{\sigma_{s}}$$

Where FR is the firing rate, and k indicates the trial, s refers to the stimulus (Low or High), and n is the neuron evaluated (Neuron A or Neuron B). Note that for each neuron the firing rate of a given intensity is normalized relative to that intensity (i.e., Low relative to Low). The normalized firing rate of Low and High trials of Neuron A were concatenated, generating one vector; the same for Neuron B. From these vectors we calculated the Pearson's correlation coefficient of the normalized spike counts (r_{sc} , noise correlation); if r_{sc} was significant (see **Figure 3—figure supplement 2A**, upper panel), then a permutation test where the position of trials was shuffled for Neuron A and Neuron B separately was performed in order to remove noise-correlations (see **Figure 3—figure supplement 2A**, lower panel). The procedure was repeated 10,000 times. A corrected p -value was obtained using the following formula: $p = (k + 1) / (n + 1)$, where k is number of times that the shuffled p was greater than the unshuffled p -value and n is the number of shuffling repetitions. If the corrected p -value was still significant, then each neuron pair was considered to be noise-correlated. This procedure was accomplished for different time windows from 0.1 to 0.6 s (0.1 s steps) after Cue-D delivery. However, since noise correlation values were similar across window sizes (see **Figure 3—figure supplement 2B**), and because 0.6 s offered the most stable firing rate across trials, we choose this window for subsequent analysis. Then, we shuffled trials positions of neurons that were noise correlated, and the decoder was fed with these shuffled matrices of the Non-evoked, All, Non-selective, and the Intensity-selective population. A paired t-test was used to compare each population before and after removal of noise-correlation.

To further explore the contribution that each Cue-evoked population adds to sucrose's decoding, an inclusion and dropping population analysis was performed by either including or removing only one population at a time, respectively (Gutierrez *et al.*, 2006). For these analyses, two more populations were added: All-Tonic (combining the Tonic-Inactive + Tonic-Active) and All-Coherent (pooling Coherent-Inactive + Coherent-Active). The percent decoding accuracy for Non-evoked, 'All,' Phasic, Inactive, Active, Coherent-Inactive, Coherent-Active, All-Tonic, and All-Coherent were computed for the inclusion analysis. Differences between groups were tested with a one-way ANOVA and a

Dunnett *post hoc* to compare each group (excluding Phasic) with the Non-evoked. The first 0.2 s of the decoder performance of the Phasic group was compared against the Non-evoked group, by employing an unpaired t-test. On the other hand, for the dropped analysis the Non-evoked group was not included, and the percent accuracy when 'All' neurons were used as a control group for the Dunnett *post hoc*. As well, Phasic (0.2 s after Cue-D) was compared to All population using an unpaired t-test.

Coding profile

Sensory neurons

Responses that decrease or increase as a function of sucrose concentration were searched in the subpopulation of neurons that displayed Intensity-selective responses during 0.6 s after Cue-D onset (see Cue-evoked responses). We identified the 'best window' by using the firing rates in each Cue-G trial computed for different window sizes and time centers. The firing rates of each window were correlated with sucrose concentration (3, 4.75, 7.5, 11.75 and 18 wt%) using a Pearson correlation. The statistically significant window with the highest Pearson correlation coefficient was named as the 'best window.' A permutation test where intensity labels were shuffled without replacement was used as multiple-testing correction test (*Davison and Hinkley, 1997*) for the 'best window.' Briefly, data were shuffled 10,000 times. A corrected *p*-value was obtained as mention above. The Pearson correlation coefficient was computed for each significant neuron and then average for each population: increasing or decreasing activity as a function of sucrose intensity. Likewise, the activity of each population was normalized to 3 wt%, and the Z-score was computed.

Choice-related neurons

To determine if neural activity tracked subjects' choices, we identified the 'best decision window' where the firing rate correctly classified trials as either Low or High intensity with the highest accuracy, thereby matching the responses made by the subject to the neural activity. This method has been successfully used in non-human primates to explore the somatosensory system (*de Lafuente and Romo, 2005*). The analysis was restricted to neurons recorded during generalization sessions during two window intervals: (1) from 0 to 0.6 s from Cue delivery (Stimulus epoch), and (2) from 0.4 s before to 0.8 s around Response onset (time = 0 s), covering the Stimulus and Response epoch. These interval windows were chosen to assess if neurons could track subject's decisions before they leave the central (Stimulus) port and during the Response epoch. First, using a 0.2 s fix window size and moving centers in steps of 0.1 s that encompassed all the interval window evaluated, a firing rate matrix ($m \times n$) was obtained for Low (0, 3, 4.75 wt%) and High (7.5, 11.75, 18 wt%) trials, where m represented each neuron and n each time bin from the window interval. A ROC curve was employed to obtain the auROC index and its confidence interval following the methods described in *de Lafuente and Romo, 2005*. A neuron was considered to significantly discriminate between Low and High trials if the inferior confidence interval of at least five consecutive time bins were above a ROC value of 0.5 (no significant difference). If this criterion was met, then the 'best window' where a firing rate threshold classified a trial as being a Low or High trial, with the higher precision, was obtained. To reach this objective, the firing rate from different windows was computed and compared to different arbitrary firing rate criteria. If a neuron fired more at High trials was denominated as 'High-Preferred,' and the number of 'High trials' where the firing rate was above the arbitrary threshold were considered High Hits, while the number of 'Low trials' where firing rate was below this criterion (Low Hits) were counted. If a neuron was 'Low-Preferred' the Low and High Hits were considered trials where the firing rate was above and below the arbitrary firing rate threshold, respectively. The Low and High Hits were summed and divided by the total number of trials and converted to a percentage of correct responses. Briefly, the neuron 'responses' were calculated as follow:

$$\text{Correct neuron responses} = \frac{\text{Low Hits} + \text{High Hits}}{\text{Number of trials}} \times 100$$

If the neurometric performance was $\geq 70\%$ correct responses, then it was considered a Choice neuron. This criterion was selected since it corresponds to the behavioral performance achieved by rats during the classification sessions (*Figure 5—figure supplement 1A*). The percentage of correct

intensity responses from all Choice neurons was then averaged and plotted against sucrose intensity and fitted to a sigmoid function to obtain the neurometric curve. The psychometric data for the sessions where these neurons were recorded was plotted and fitted to a sigmoid function. Finally, the mean and the 95% confidence interval of the slopes for the psychometric and neurometric curves were obtained. A neurometric curve was determined to reliably matched behavior only if the confidence interval of the slopes of both curves were overlapped.

Direction-selective neurons

In the behavioral tests, subjects were required to move from the center to a lateral port (Response epoch) and from the lateral to the central port (Return epoch) to emit a response and to initiate a new trial, respectively (**Figure 1A**). A Direction-selective neuron would be more active when the subject was moving to one direction (i.e., left) during both Response and Return epochs, while when moving to the other direction (i.e., right) the neuron was less active or non-active. A ROC analysis was employed to detect differential responses for Left and Right trials from 0 to 0.7 s of the Response and Return epochs. First, the firing rates of the Left and Right trials were computed. Then, the auROC curve was determined and scaled by calculating a preference index $P_{\text{index}} = 2(\text{auROC curve} - 0.5)$ (**Feierstein et al., 2006**), which provides a value between -1 (Left preferred) and 1 (Right Preferred), where 0 meant no preference. If the neuronal response preferred one side during the Response epoch, a permutation test where left/right labels were shuffled without replacement was used. Data were shuffled 10,000 times. A corrected p-value was obtained using the following formula: $p = (k + 1) / (n + 1)$, where k is number of times that the shuffled auROC curve was greater than the non-shuffled auROC curve and n is the number of shuffling repetitions. If p was significant, the same analysis was repeated from 0 to 0.7 s of the Return epoch. All trials were included in the analysis since for the Direction neurons it did not matter whether it was a correct or error trial, but only the direction of the movement. The Z-score of the population activity for Left- and Right-selective neurons was computed using as baseline the 0.3 s before the central and lateral port exit for the Response and Return epoch, respectively. A chi-square test was used to determine differences in the proportion of neurons with Right- or Left-preferred Direction.

Neurons encoding reward (outcome) omission

Neurons that were modulated by water reward omission were identified by using the same ROC analysis as described for the detection of Direction-selective neurons (see above), with the exception that this analysis was restricted to the Outcome epoch: from 0 to 0.6 s from the onset of the second lateral lick. The firing rate from rewarded (correct discrimination) and unrewarded trials (error discrimination and generalization trials) were obtained to calculate the auROC curve. The population that displayed higher firing rate for reward omitted trials was named 'Active' (positive P_{indexes}), while the population with lower firing rate for these types of trials was denominated 'Inactive' (negative P_{indexes}). Furthermore, the lick rate for each type of trials (rewarded/unrewarded) was also calculated to allow visualization of oromotor differences. The population activity was normalized to Z-score by using the firing rate in the pre-Stimulus epoch (-0.3 to 0) as the baseline.

Population decoding of reward omission

The accuracy to predict the presence or absence of the reward was evaluated by providing the neural decoder with the spikes or the licks that occurred from -0.2 to 0.6 s around the second lateral lick. A ROC analysis was employed to detect the window intervals where performance between lick and firing rate were significantly different: if the inferior confidence interval was above 0.5 during at least five consecutive time bins (0.02 s).

Overlapping among coding profile populations and between modulation vs. coding profile neurons

Since the neurons coding profile were identified in different epochs; then, it is possible that a neuron coding one variable (e.g., direction) could encode another variable in a different interval (e.g., outcome). Thus, we evaluated the existence of a significant overlap between coding profile populations (**Villavicencio et al., 2018**). To achieve this goal, a contingency matrix containing the number of only A, only B, A and B, non-A and non-B neurons were obtained for all pair of combinations. A Fisher's

exact test was applied to the matrices. Only neurons recorded during generalization sessions were used for the analysis to guarantee that data is drawn from the same distribution. Likewise, we determined if a coding profile subset belonged preferentially to one modulation profile by performing the same analysis: A Fisher's exact test was applied to a contingency matrix, where A was a modulation profile and B a coding profile. All possible pairwise comparisons were tested. Also, only generalization sessions were considered for the analysis.

Acknowledgments

This project was supported in part by Productos Medix 3247, CONACyT Grants Fronteras de la Ciencia 63 (RG) and 245 (V dL), and Problemas Nacionales 464 (RG). Esmeralda Fonseca had a CONACyT doctoral fellowship and data in this work is part of her doctoral dissertation in the Posgrado en Ciencias Biomédicas of the Universidad Nacional Autónoma de México. We thank Mario Gil Moreno for building multielectrode arrays, Fabiola Hernandez Olvera for invaluable animal care, and Miguel Villavicencio for insightful comments on an early version of the manuscript. We also want to specially thank Aurora Sono Matsumoto for invaluable help training rats.

Additional information

Funding

Funder	Grant reference number	Author
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología	Problemas Nacionales 464	Ranier Gutierrez
Productos Medix	3247	Ranier Gutierrez
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología	FOINS 63	Ranier Gutierrez
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología	FOINS 245	Victor de Lafuente

The funders had no role in study design, data collection and interpretation, or the decision to submit the work for publication.

Author contributions

Esmeralda Fonseca, Conceptualization, Data curation, Software, Formal analysis, Supervision, Validation, Investigation, Visualization, Methodology, Writing—original draft, Writing—review and editing; Victor de Lafuente, Software, Formal analysis, Funding acquisition, Writing—review and editing; Sidney A Simon, Conceptualization, Supervision, Validation, Visualization, Writing—original draft, Writing—review and editing; Ranier Gutierrez, Conceptualization, Resources, Software, Supervision, Funding acquisition, Validation, Visualization, Methodology, Writing—original draft, Project administration, Writing—review and editing

Author ORCIDs

Esmeralda Fonseca  <http://orcid.org/0000-0003-3697-9401>

Victor de Lafuente  <http://orcid.org/0000-0002-1047-1354>

Ranier Gutierrez  <http://orcid.org/0000-0002-9688-0289>

Ethics

Animal experimentation: All procedures were approved by the CINVESTAV Institutional Animal Care and Use Committee (#0034-13)

Decision letter and Author response

Decision letter <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.028>

Author response <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.029>

Additional files

Supplementary files

- Supplementary file 1. Statistical analysis for all figures.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.023>

- Supplementary file 2. Statistical analysis for all tables.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.024>

- Transparent reporting form

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.41152.025>

Data availability

All data generated or analysed during this study are included in the manuscript and supporting files

References

- Accolla R**, Bathellier B, Petersen CC, Carleton A. 2007. Differential spatial representation of taste modalities in the rat gustatory cortex. *Journal of Neuroscience* **27**:1396–1404. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5188-06.2007>, PMID: 17287514
- Allen WE**, Kauvar IV, Chen MZ, Richman EB, Yang SJ, Chan K, Gradinaru V, Deverman BE, Luo L, Deisseroth K. 2017. Global representations of goal-directed behavior in distinct cell types of mouse neocortex. *Neuron* **94**:891–907. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.04.017>, PMID: 28521139
- Avena NM**, Rada P, Hoebel BG. 2008. Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **32**:20–39. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2007.04.019>, PMID: 17617461
- Averbeck BB**, Latham PE, Pouget A. 2006. Neural correlations, population coding and computation. *Nature Reviews Neuroscience* **7**:358–366. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn1888>, PMID: 16760916
- Averbeck BB**, Lee D. 2006. Effects of noise correlations on information encoding and decoding. *Journal of Neurophysiology* **95**:3633–3644. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.00919.2005>, PMID: 16554512
- Barretto RP**, Gillis-Smith S, Chandrashekar J, Yarmolinsky DA, Schnitzer MJ, Ryba NJ, Zuker CS. 2015. The neural representation of taste quality at the periphery. *Nature* **517**:373–376. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature13873>, PMID: 25383521
- Bermúdez-Rattoni F**. 2004. Molecular mechanisms of taste-recognition memory. *Nature Reviews Neuroscience* **5**:209–217. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn1344>, PMID: 14976520
- Bolding KA**, Franks KM. 2017. Complementary codes for odor identity and intensity in olfactory cortex. *eLife* **6**:e22630. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.22630>, PMID: 28379135
- Breslin PA**. 2013. An evolutionary perspective on food and human taste. *Current Biology* **23**:R409–R418. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.04.010>, PMID: 23660364
- Buzsáki G**. 2010. Neural syntax: cell assemblies, synapsesembles, and readers. *Neuron* **68**:362–385. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.09.023>, PMID: 21040841
- Carnevale F**, de Lafuente V, Romo R, Parga N. 2013. An optimal decision population code that accounts for correlated variability unambiguously predicts a subject's choice. *Neuron* **80**:1532–1543. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.09.023>, PMID: 24268419
- Cavada C**, Compañy T, Tejedor J, Cruz-Rizzolo RJ, Reinoso-Suárez F. 2000. The anatomical connections of the macaque monkey orbitofrontal cortex. A review. *Cerebral Cortex* **10**:220–242. DOI: <https://doi.org/10.1093/cercor/10.3.220>, PMID: 10731218
- Cechetto DF**, Saper CB. 1987. Evidence for a viscerotopic sensory representation in the cortex and thalamus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology* **262**:27–45. DOI: <https://doi.org/10.1002/cne.902620104>, PMID: 2442207
- Chen X**, Gabitto M, Peng Y, Ryba NJ, Zuker CS. 2011. A gustotopic map of taste qualities in the mammalian brain. *Science* **333**:1262–1266. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1204076>, PMID: 21885776
- Cohen MR**, Kohn A. 2011. Measuring and interpreting neuronal correlations. *Nature Neuroscience* **14**:811–819. DOI: <https://doi.org/10.1038/nn.2842>, PMID: 21709677
- Conen KE**, Padoa-Schioppa C. 2015. Neuronal variability in orbitofrontal cortex during economic decisions. *Journal of Neurophysiology* **114**:1367–1381. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.00231.2015>, PMID: 26084903
- Corwin JV**, Fussinger M, Meyer RC, King VR, Reep RL. 1994. Bilateral destruction of the ventrolateral orbital cortex produces allocentric but not egocentric spatial deficits in rats. *Behavioural Brain Research* **61**:79–86. DOI: [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(94\)90010-8](https://doi.org/10.1016/0166-4328(94)90010-8), PMID: 8031498
- Davison AC**, Hinkley DV. 1997. *Bootstrap Methods and Their Application*. Cambridge University Press.
- de Araujo IE**, Gutierrez R, Oliveira-Maia AJ, Pereira A, Nicolelis MA, Simon SA. 2006. Neural ensemble coding of satiety states. *Neuron* **51**:483–494. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.07.009>, PMID: 16908413
- de Lafuente V**, Romo R. 2005. Neuronal correlates of subjective sensory experience. *Nature Neuroscience* **8**:1698–1703. DOI: <https://doi.org/10.1038/nn1587>, PMID: 16286929

- Di Lorenzo PM**, Victor JD. 2003. Taste response variability and temporal coding in the nucleus of the solitary tract of the rat. *Journal of Neurophysiology* **90**:1418–1431. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.00177.2003>, PMID: 12966173
- Di Lorenzo PM**, Leshchinskiy S, Moroney DN, Ozdoba JM. 2009. Making time count: functional evidence for temporal coding of taste sensation. *Behavioral Neuroscience* **123**:14–25. DOI: <https://doi.org/10.1037/a0014176>, PMID: 19170426
- Engel AK**, Fries P, Singer W. 2001. Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top-down processing. *Nature Reviews Neuroscience* **2**:704–716. DOI: <https://doi.org/10.1038/35094565>, PMID: 11584308
- Epstein RA**, Patai EZ, Julian JB, Spiers HJ. 2017. The cognitive map in humans: spatial navigation and beyond. *Nature Neuroscience* **20**:1504–1513. DOI: <https://doi.org/10.1038/nn.4656>, PMID: 29073650
- Erickson RP**. 2001. The evolution and implications of population and modular neural coding ideas. *Progress in Brain Research* **130**:9–29. PMID: 11480291
- Feierstein CE**, Quirk MC, Uchida N, Sosulski DL, Mainen ZF. 2006. Representation of spatial goals in rat orbitofrontal cortex. *Neuron* **51**:495–507. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.06.032>, PMID: 16908414
- Field DJ**. 1994. What Is the Goal of Sensory Coding? *Neural Computation* **6**:559–601. DOI: <https://doi.org/10.1162/neco.1994.6.4.559>
- Fletcher ML**, Ogg MC, Lu L, Ogg RJ, Boughter JD. 2017. Overlapping representation of primary tastes in a defined region of the gustatory cortex. *The Journal of Neuroscience* **37**:7595–7605. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0649-17.2017>, PMID: 28674169
- Frank S**, Kullmann S, Veit R. 2013. Food related processes in the insular cortex. *Frontiers in Human Neuroscience* **7**:499. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnhum.2013.00499>, PMID: 23986683
- Gardner MP**, Fontanini A. 2014. Encoding and tracking of outcome-specific expectancy in the gustatory cortex of alert rats. *Journal of Neuroscience* **34**:13000–13017. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1820-14.2014>, PMID: 25253848
- Green DM**, Swets JA. 1966. *Signal Detection Theory and Psychophysics*. Oxford England: John Wiley. ISBN: 0882751395
- Gutierrez R**, Carmena JM, Nicolelis MA, Simon SA. 2006. Orbitofrontal ensemble activity monitors licking and distinguishes among natural rewards. *Journal of Neurophysiology* **95**:119–133. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.00467.2005>, PMID: 16120664
- Gutierrez R**, Simon SA, Nicolelis MA. 2010. Licking-induced synchrony in the taste-reward circuit improves cue discrimination during learning. *Journal of Neuroscience* **30**:287–303. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0855-09.2010>, PMID: 20053910
- Gutierrez R**, Simon SA. 2013. Increases in Spike Timing Precision Improves Gustatory Discrimination upon Learning. In: Di Lorenzo PM, Victor JD (Eds). *Spike Timing Mechanisms and Function*. First Edition. CRC Press. p. 321–342. ISBN: 978-1-4398-3815-0
- Gutierrez-Barragan D**, Basson MA, Panzeri S, Gozzi A. 2018. Oscillatory brain states govern spontaneous fMRI network dynamics. *bioRxiv*. DOI: <https://doi.org/10.1101/393389>
- Hanamori T**. 2001. Effects of various ion transport inhibitors on the water response in the superior laryngeal nerve in rats. *Chemical Senses* **26**:897–903. DOI: <https://doi.org/10.1093/chemse/26.7.897>, PMID: 11555484
- Hirokawa J**, Vaughan A, Kepecs A. 2017. Categorical Representations Of Decision-Variables. *bioRxiv*. DOI: <https://doi.org/10.1101/135707>
- Jarvis MR**, Mitra PP. 2001. Sampling properties of the spectrum and coherency of sequences of action potentials. *Neural Computation* **13**:717–749. DOI: <https://doi.org/10.1162/089976601300014312>, PMID: 11255566
- Jezzini A**, Caruana F, Stoianov I, Gallese V, Rizzolatti G. 2012. Functional organization of the insula and inner perisylvian regions. *PNAS* **109**:10077–10082. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1200143109>, PMID: 22647599
- Jezzini A**, Mazzucato L, La Camera G, Fontanini A. 2013. Processing of hedonic and chemosensory features of taste in medial prefrontal and insular networks. *Journal of Neuroscience* **33**:18966–18978. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2974-13.2013>, PMID: 24285901
- Jo S**, Jung MW. 2016. Differential coding of uncertain reward in rat insular and orbitofrontal cortex. *Scientific Reports* **6**:24085. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep24085>, PMID: 27052943
- Jones LM**, Fontanini A, Katz DB. 2006. Gustatory processing: a dynamic systems approach. *Current Opinion in Neurobiology* **16**:420–428. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.conb.2006.06.011>, PMID: 16842991
- Katz DB**, Simon SA, Nicolelis MA. 2001. Dynamic and multimodal responses of gustatory cortical neurons in awake rats. *The Journal of Neuroscience* **21**:4478–4489. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-12-04478.2001>, PMID: 11404435
- Katz DB**, Simon SA, Nicolelis MA. 2002. Taste-specific neuronal ensembles in the gustatory cortex of awake rats. *The Journal of Neuroscience* **22**:1850–1857. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-05-01850.2002>, PMID: 11880514
- Kennerley SW**, Wallis JD. 2009. Encoding of reward and space during a working memory task in the orbitofrontal cortex and anterior cingulate sulcus. *Journal of Neurophysiology* **102**:3352–3364. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.00273.2009>, PMID: 19776363
- Kolb B**, Sutherland RJ, Whishaw IQ. 1983. A comparison of the contributions of the frontal and parietal association cortex to spatial localization in rats. *Behavioral Neuroscience* **97**:13–27. DOI: <https://doi.org/10.1037/0735-7044.97.1.13>, PMID: 6838719

- Kusumoto-Yoshida I**, Liu H, Chen BT, Fontanini A, Bonci A. 2015. Central role for the insular cortex in mediating conditioned responses to anticipatory cues. *PNAS* **112**:1190–1195. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1416573112>, PMID: 25583486
- Lemon CH**. 2015. Perceptual and neural responses to sweet taste in humans and rodents. *Chemosensory Perception* **8**:46–52. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12078-015-9177-8>, PMID: 26388965
- Lipton PA**, Alvarez P, Eichenbaum H. 1999. Crossmodal associative memory representations in rodent orbitofrontal cortex. *Neuron* **22**:349–359. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)81095-8](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)81095-8), PMID: 10069340
- Livneh Y**, Ramesh RN, Burgess CR, Levandowski KM, Madara JC, Fenselau H, Goldey GJ, Diaz VE, Jikomes N, Resch JM, Lowell BB, Andermann ML. 2017. Homeostatic circuits selectively gate food cue responses in insular cortex. *Nature* **546**:611–616. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature22375>, PMID: 28614299
- Lyall V**, Heck GL, DeSimone JA, Feldman GM. 1999. Effects of osmolarity on taste receptor cell size and function. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* **277**:C800–C813. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1999.277.4.C800>
- MacDonald CJ**, Meck WH, Simon SA, Nicolelis MA. 2009. Taste-guided decisions differentially engage neuronal ensembles across gustatory cortices. *Journal of Neuroscience* **29**:11271–11282. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1033-09.2009>, PMID: 19741134
- Maffei A**, Haley M, Fontanini A. 2012. Neural processing of gustatory information in insular circuits. *Current Opinion in Neurobiology* **22**:709–716. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.conb.2012.04.001>, PMID: 22554880
- Maier JX**, Katz DB. 2013. Neural dynamics in response to binary taste mixtures. *Journal of Neurophysiology* **109**:2108–2117. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.00917.2012>, PMID: 23365178
- Meyers EM**. 2013. The neural decoding toolbox. *Frontiers in Neuroinformatics* **7**:8. DOI: <https://doi.org/10.3389/fninf.2013.00008>, PMID: 23734125
- Moskowitz HR**. 1971. The sweetness and pleasantness of sugars. *The American Journal of Psychology* **84**:387–405. DOI: <https://doi.org/10.2307/1420470>, PMID: 5142585
- Nerad L**, Ramírez-Amaya V, Ormsby CE, Bermúdez-Rattoni F. 1996. Differential effects of anterior and posterior insular cortex lesions on the acquisition of conditioned taste aversion and spatial learning. *Neurobiology of Learning and Memory* **66**:44–50. DOI: <https://doi.org/10.1006/nlme.1996.0042>, PMID: 8661250
- Nogueira R**, Abolafia JM, Drugowitsch J, Balaguer-Ballester E, Sanchez-Vives MV, Moreno-Bote R. 2017. Lateral orbitofrontal cortex anticipates choices and integrates prior with current information. *Nature Communications* **8**:14823. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms14823>, PMID: 28337990
- Olshausen BA**, Field DJ. 2004. Sparse coding of sensory inputs. *Current Opinion in Neurobiology* **14**:481–487. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.conb.2004.07.007>, PMID: 15321069
- Parkes SL**, Bradfield LA, Balleine BW. 2015. Interaction of insular cortex and ventral striatum mediates the effect of incentive memory on choice between goal-directed actions. *Journal of Neuroscience* **35**:6464–6471. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4153-14.2015>, PMID: 25904797
- Parkes SL**, Ravassard PM, Cerpa JC, Wolff M, Ferreira G, Coutureau E. 2018. Insular and Ventrolateral Orbitofrontal Cortices Differentially Contribute to Goal-Directed Behavior in Rodents. *Cerebral Cortex* **28**:2313–2325. DOI: <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx132>, PMID: 28541407
- Peng Y**, Gillis-Smith S, Jin H, Tränkner D, Ryba NJ, Zuker CS. 2015. Sweet and bitter taste in the brain of awake behaving animals. *Nature* **527**:512–515. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature15763>, PMID: 26580015
- Perez IO**, Villavicencio M, Simon SA, Gutierrez R. 2013. Speed and accuracy of taste identification and palatability: impact of learning, reward expectancy, and consummatory licking. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **305**:R252–R270. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00492.2012>, PMID: 23678029
- Pfaffmann C**, Frank M, Norgren R. 1979. Neural mechanisms and behavioral aspects of taste. *Annual Review of Psychology* **30**:283–325. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.ps.30.020179.001435>, PMID: 109033
- Pritchard TC**, Edwards EM, Smith CA, Hilgert KG, Gavlick AM, Maryniak TD, Schwartz GJ, Scott TR. 2005. Gustatory neural responses in the medial orbitofrontal cortex of the old world monkey. *Journal of Neuroscience* **25**:6047–6056. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0430-05.2005>, PMID: 15987934
- Riceberg JS**, Shapiro ML. 2017. Orbitofrontal Cortex Signals Expected Outcomes with Predictive Codes When Stable Contingencies Promote the Integration of Reward History. *The Journal of Neuroscience* **37**:2010–2021. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2951-16.2016>, PMID: 28115481
- Roesch MR**, Taylor AR, Schoenbaum G. 2006. Encoding of time-discounted rewards in orbitofrontal cortex is independent of value representation. *Neuron* **51**:509–520. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.06.027>, PMID: 16908415
- Rolls ET**, Sienkiewicz ZJ, Yaxley S. 1989. Hunger Modulates the Responses to Gustatory Stimuli of Single Neurons in the Caudolateral Orbitofrontal Cortex of the Macaque Monkey. *European Journal of Neuroscience* **1**:53–60. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1989.tb00774.x>, PMID: 12106174
- Rolls ET**, Yaxley S, Sienkiewicz ZJ. 1990. Gustatory responses of single neurons in the caudolateral orbitofrontal cortex of the macaque monkey. *Journal of Neurophysiology* **64**:1055–1066. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.1990.64.4.1055>, PMID: 2258734
- Rolls ET**. 2004. The functions of the orbitofrontal cortex. *Brain and Cognition* **55**:11–29. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0278-2626\(03\)00277-X](https://doi.org/10.1016/S0278-2626(03)00277-X), PMID: 15134840
- Rosen AM**, Di Lorenzo PM. 2012. Neural coding of taste by simultaneously recorded cells in the nucleus of the solitary tract of the rat. *Journal of Neurophysiology* **108**:3301–3312. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.00566.2012>, PMID: 23019002

- Roussin AT**, D'Agostino AE, Fooden AM, Victor JD, Di Lorenzo PM. 2012. Taste coding in the nucleus of the solitary tract of the awake, freely licking rat. *Journal of Neuroscience* **32**:10494–10506. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1856-12.2012>, PMID: 22855799
- Schuck NW**, Wilson RC, Niv Y. 2018. A state representation for reinforcement learning and decision-making in the orbitofrontal cortex. *bioRxiv*. DOI: <https://doi.org/10.1101/210591>
- Schultz W**, Dayan P, Montague PR. 1997. A neural substrate of prediction and reward. *Science* **275**:1593–1599. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.275.5306.1593>, PMID: 9054347
- Scott TR**, Plata-Salaman CR, Smith VL, Giza BK. 1991. Gustatory neural coding in the monkey cortex: stimulus intensity. *Journal of Neurophysiology* **65**:76–86. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.1991.65.1.76>, PMID: 1999734
- Spector AC**, Klumpp PA, Kaplan JM. 1998. Analytical issues in the evaluation of food deprivation and sucrose concentration effects on the microstructure of licking behavior in the rat. *Behavioral Neuroscience* **112**:678–694. DOI: <https://doi.org/10.1037/0735-7044.112.3.678>, PMID: 9676983
- Spector AC**, Smith JC. 1984. A detailed analysis of sucrose drinking in the rat. *Physiology & Behavior* **33**:127–136. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(84\)90023-4](https://doi.org/10.1016/0031-9384(84)90023-4), PMID: 6505048
- Stalnaker TA**, Berg B, Aujla N, Schoenbaum G. 2016. Cholinergic interneurons use orbitofrontal input to track beliefs about current state. *The Journal of Neuroscience* **36**:6242–6257. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0157-16.2016>, PMID: 27277802
- Stapleton JR**, Lavine ML, Wolpert RL, Nicolelis MA, Simon SA. 2006. Rapid taste responses in the gustatory cortex during licking. *Journal of Neuroscience* **26**:4126–4138. DOI: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0092-06.2006>, PMID: 16611830
- Stüttgen MC**, Schwarz C, Jäkel F. 2011. Mapping spikes to sensations. *Frontiers in Neuroscience* **5**:125. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2011.00125>, PMID: 22084627
- Sutton RS**, Barton AG. 1998. *Reinforcement Learning: An Introduction*. Cambridge, Massachusetts: The MIT Press. ISBN: 0-262-19398-1
- Tapper DN**, Halpern BP. 1968. Taste stimuli: a behavioral categorization. *Science* **161**:708–710. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.161.3842.708>, PMID: 5664512
- Thorpe SJ**, Rolls ET, Maddison S. 1983. The orbitofrontal cortex: neuronal activity in the behaving monkey. *Experimental Brain Research* **49**:93–115. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00235545>, PMID: 6861938
- Tremblay L**, Schultz W. 1999. Relative reward preference in primate orbitofrontal cortex. *Nature* **398**:704–708. DOI: <https://doi.org/10.1038/19525>, PMID: 10227292
- Uchida N**, Mainen ZF. 2003. Speed and accuracy of olfactory discrimination in the rat. *Nature Neuroscience* **6**:1224–1229. DOI: <https://doi.org/10.1038/nn1142>, PMID: 14566341
- Veldhuizen MG**, Babbs RK, Patel B, Fobbs W, Kroemer NB, Garcia E, Yeomans MR, Small DM. 2017. Integration of sweet taste and metabolism determines carbohydrate reward. *Current Biology* **27**:2476–2485. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.07.018>, PMID: 28803868
- Verhagen JV**, Kadohisa M, Rolls ET. 2004. Primate insular/opercular taste cortex: neuronal representations of the viscosity, fat texture, grittiness, temperature, and taste of foods. *Journal of Neurophysiology* **92**:1685–1699. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.00321.2004>, PMID: 15331650
- Villavicencio M**, Moreno MG, Simon SA, Gutierrez R. 2018. Encoding of sucroses palatability in the nucleus accumbens shell and its modulation by exteroceptive auditory cues. *Frontiers in Neuroscience* **12**:265. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00265>, PMID: 29780300
- Wang L**, Gillis-Smith S, Peng Y, Zhang J, Chen X, Salzman CD, Ryba NJP, Zuker CS. 2018. The coding of valence and identity in the mammalian taste system. *Nature* **558**:127–131. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0165-4>, PMID: 29849148
- Wu A**, Dvoryanchikov G, Pereira E, Chaudhari N, Roper SD. 2015. Breadth of tuning in taste afferent neurons varies with stimulus strength. *Nature Communications* **6**:8171. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms9171>, PMID: 26373451
- Yamamoto T**, Matsuo R, Kiyomitsu Y, Kitamura R. 1989. Taste responses of cortical neurons in freely ingesting rats. *Journal of Neurophysiology* **61**:1244–1258. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.1989.61.6.1244>, PMID: 2746324
- Yaxley S**, Rolls ET, Sienkiewicz ZJ. 1990. Gustatory responses of single neurons in the insula of the macaque monkey. *Journal of Neurophysiology* **63**:689–700. DOI: <https://doi.org/10.1152/jn.1990.63.4.689>, PMID: 2341869
- Yin A**, Tseng PH, Rajangam S, Lebedev MA, Nicolelis MAL. 2018. Place cell-like activity in the primary sensorimotor and premotor cortex during monkey whole-body navigation. *Scientific Reports* **8**:9184. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27472-4>, PMID: 29907789
- Zocchi D**, Wennemuth G, Oka Y. 2017. The cellular mechanism for water detection in the mammalian taste system. *Nature Neuroscience* **20**:927–933. DOI: <https://doi.org/10.1038/nn.4575>, PMID: 28553944
- Zohary E**, Shadlen MN, Newsome WT. 1994. Correlated neuronal discharge rate and its implications for psychophysical performance. *Nature* **370**:140–143. DOI: <https://doi.org/10.1038/370140a0>, PMID: 8022482