



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EVALUACIÓN CONDUCTUAL DE UN MODELO DE
PREFERENCIAS GUSTATIVAS EN POLLOS BROILER**

VICTORIA ANDREA PHILP SALGADO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal

PROFESOR GUÍA: SERGIO ALEJANDRO GUZMÁN PINO
Universidad de Chile

Financiamiento: U-INICIA N° UI-010/19 y FONDECYT N° 11190569

SANTIAGO, CHILE

2022



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**EVALUACIÓN CONDUCTUAL DE UN MODELO DE
PREFERENCIAS GUSTATIVAS EN POLLOS BROILER**

Victoria Andrea Philp Salgado

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Fomento de la
Producción Animal

NOTA FINAL:

Firma

Profesor Guía: Sergio Guzmán P.

Profesora Correctora: Carolina Valenzuela V.

Profesor Corrector: Juan Ignacio Egaña M.

SANTIAGO, CHILE

2022

Agradecimientos

Me gustaría agradecer a mi familia por todo el apoyo brindado durante esta etapa y toda mi vida. En especial a mi mamá María Victoria, a mi hermana Camila, y a la más importante, mi abuelita Texia, por su paciencia, amor, dedicación y enseñanzas que resultaron fundamentales para culminar este proceso.

Infinitas gracias también a mi Profesor Guía, Dr. Sergio Guzmán, quien confió en mí y a los profesores correctores; Dra. Carolina Valenzuela y Dr. Juan Ignacio Egaña.

A mi compañera de tesis Geraldine Muñoz y a Paloma Cordero por su apoyo en la realización de este trabajo.

CONTENIDO

<u>1. RESUMEN</u>	1
<u>2. ABSTRACT</u>	2
<u>3. INTRODUCCIÓN</u>	3
<u>4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	4
<u>4.1. Factores que influyen en el consumo de alimento y agua en pollos broiler</u>	4
<u>4.2. Metodologías de medición de preferencias gustativas en pollos broiler</u>	6
<u>5. HIPÓTESIS</u>	8
<u>6. OBJETIVO GENERAL</u>	8
<u>7. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</u>	8
<u>8. MATERIALES Y MÉTODOS</u>	9
<u>8.1. Modelo de preferencias utilizando matriz de agua</u>	10
<u>8.2. Modelo de preferencias utilizando matriz de alimento</u>	11
<u>8.3. Registro y análisis de videgrabaciones</u>	11
<u>8.4. Análisis estadístico</u>	13
<u>9. RESULTADOS</u>	14
<u>9.1. Resultados: Factores Principales</u>	18
<u>9.2. Resultados: Interacciones entre Factores Principales:</u>	23
<u>10. DISCUSIÓN</u>	28
<u>11. CONCLUSIONES</u>	32
<u>12. BIBLIOGRAFÍA</u>	33
<u>14. ANEXO: Dietas broiler estándar iniciales y finales</u>	36

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Diseño experimental 2 x 2 x 4 x 4 x 2.....	10
Figura 2: Efecto de la Edad en Pollos broilers durante Pruebas de preferencias en pollos broiler.....	19
Figura 3: Efecto de Matriz de entrega de compuestos utilizadas en Pruebas de Preferencias en pollos broiler.....	20
Figura 4: Efecto del Número de Pollos dispuestos por corral en Pruebas de Preferencias realizadas en pollos broiler.....	21
Figura 5: Efecto de los compuestos utilizados en Pruebas de Preferencias realizadas en pollos.....	22
Figura 6: Efecto del momento en que se presentan los compuestos en Pruebas de Preferencias realizadas en pollos broiler.....	23
Figura7: Efecto de la interacción entre los factores principales: Edad* Matriz de Entrega* Número de Pollos en Pruebas de Preferencias.....	25
Figura 8: Efecto de la interacción entre los factores principales: Edad* Matriz de Entrega* Número de Pollos* Hora en Pruebas de Preferencias realizadas en pollos broiler.....	27

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Factores Principales e interacciones del Modelo estadístico.....	14
Tabla 2: Componentes del Modelo estadístico.....	15
Tabla 3: Análisis de Varianza para el Tiempo de Permanencia.....	15
Tabla 4: Análisis de Varianza para el Número de <i>bouts</i>	16
Tabla 5: Análisis de Varianza para la Duración de <i>bouts</i>	17
Tabla 6: Análisis de Varianza para el Número de picoteos	18

1. RESUMEN

La nutrición y alimentación juegan un rol fundamental para el éxito en la industria avícola, en ésta, los pollos broiler tienen a disposición una sola dieta, pudiendo escoger la cantidad de alimento consumida, pero no los nutrientes específicos según sus propiedades sensoriales. Estudios previos han documentado el desarrollo de pruebas de doble elección, no obstante, estos ensayos se han centrado únicamente en el consumo, sin considerar el estudio de la conducta alimentaria. La presente Memoria de Título analizó el comportamiento alimentario de 96 pollos broiler macho durante pruebas de preferencias. Éstas se realizaron en la Unidad Experimental de Nutrición y Producción Avícola de FAVET, locación en la que se ubicaron cámaras de grabación al efecto. Las aves se dividieron en dos bandas de 48 animales, pruebas de preferencias duraron 42 días cada una. El diseño experimental de cada prueba evaluó variables como el número de pollos por corral (uno o dos pollos), la edad de los pollos (7-23 días o 26-42 días), la matriz de entrega de los compuestos (agua o afrechillo de trigo), el compuesto (L-lisina, MSG, Sacarosa o Carbonato de Calcio), concentración de los compuestos y tiempo de grabación de los videos (inicial/ final). Cada video registró los siguientes parámetros: tiempo de permanencia, número de *bouts*, duración del *bout* y número de picoteos en comederos/bebederos que contenían el compuesto a probar. Los resultados demostraron que pollos de 7-23 días interactúan más con los compuestos ofrecidos que aquellos de 26-42 días ($p < 0.0001$). Por otro lado, los corrales con dos aves presentan mayor es interacciones en relación a aquellos con una sola ($p < 0.0001$). En cuanto a la matriz, solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el número de *bout*, siendo mayor para la matriz agua ($p < 0.0001$), y respecto del número de picoteos, éste fue mayor en afrechillo de trigo ($p < 0.0001$). Los compuestos utilizados en el estudio no afectaron a ninguno los parámetros medidos ($p > 0.3868$). Se concluye que la edad, el número de pollos por corral, la matriz de entrega de compuestos, y el tiempo transcurrido de pruebas de preferencia influyen en el comportamiento alimentario de las aves durante el desarrollo de preferencias o doble elección.

Palabras Claves: conducta alimentaria, duración de *bouts*, pruebas de preferencias, pollo broiler, número de *bouts*, número de picoteos, tiempo de permanencia,

2. ABSTRACT

Nutrition and feeding play a fundamental role for success in the poultry industry. In the poultry industry, broiler chickens have only one diet available to them, and they can choose the amount of feed consumed, but not the specific nutrients according to their sensory properties. Previous studies have documented the development of double choice test; however, these trials have only focused on consumption, without considering the study of feeding behaviour. The present study analysed the feeding behaviour of 96 male broiler chickens during preference trials. These were conducted Poultry Nutrition and Production Experimental Unit, FAVET, where recording cameras were set up for this purpose. The birds were divided into two bands of 48 animals, preference tests lasted 42 days each. The experimental design of tests evaluated variables such as number of chicks per pen (one or two chicks), age of chicks (7-23 days or 26-42 days), compound delivery matrix (water or ground wheat), compound (L-lysine, MSG, Sucrose or Calcium Carbonate), compound concentration and video recording time (initial/ final). Each video recorded the following parameters: time of approach, number of bouts, bout duration and pecking number in feeders/ drinkers containing the compound to be tested. The results showed that chickens aged 7-23 days interacted more with the compounds offered than those aged 26-42 days ($p < 0.0001$). On the other hand, the pens with two birds presented higher interactions in relation to those with only one ($p < 0.0001$). Regarding the matrix, statistically significant differences were only found for the number of bouts, being greater for the water matrix ($p < 0.0001$), and according to pecking number, this was greater in ground wheat ($p < 0.0001$). Compounds used in the study did not affect any of the parameters measured ($p > 0.3868$). It is concluded that age, the number of chickens per pen, the compound delivery matrix, and the time of preference tests influence the feeding behaviour of the birds during the development of preferences or double choice.

Key words: bout duration, bout number, broiler chicken, double choice trials, feeding behaviour, pecking number, time of approach.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial la carne de pollo es una de las más producidas y consumidas por la población (FAO, 2020). Chile no es diferente al resto del mundo, en donde se estima que el 44% del consumo de carnes, corresponde a la carne de pollo (Chile Carnes, 2021). Por otro lado, debido al aumento de la población mundial, acompañado de un mayor poder adquisitivo, la industria avícola continúa creciendo para satisfacer el aumento demanda de proteína animal. Es por ello, que este sector está en una constante búsqueda de nuevas tecnologías para hacer una producción más eficiente, rentable y sostenible.

En la actualidad, la mayor parte de la de carne de pollo es producida bajo sistemas de confinamiento intensivo con altos niveles de tecnificación. Ello, sumado al uso de aves especializadas, y a un arduo trabajo de selección genética, ha permitido obtener animales con una alta tasa de crecimiento y depósito muscular. En dicho contexto, la alimentación juega un rol clave dentro de la industria avícola, pues se debe proporcionar una dieta de buena calidad, y a la vez de bajo costo. Dentro de los planteles, por regla general, a las aves sólo se les ofrece una dieta única según los requerimientos nutricionales de su etapa productiva. Por consiguiente, el ave puede elegir la cantidad de alimento que consumirá, sin embargo, no puede seleccionar ningún ingrediente o nutriente específico en base a sus propiedades sensoriales, efectos post-ingestivos, o resultados metabólicos.

Al momento de tomar la decisión sobre qué y cuanto consumir entran en juego distintos elementos, ya sean ambientales, sociales o propios del alimento. El estudio sobre la conducta alimentaria de las aves, y los factores que influyen en esta, podrían orientar a la industria para optimizar el uso de recursos. Así, dentro de la literatura se han documentado algunas pruebas respecto a elección de dietas en pollos broiler. Estas han considerado distintas variables y se han centrado fundamentalmente en el consumo de alguna sustancia o compuesto, pero, hasta el momento, poco se ha considerado el estudio de la conducta de las aves con mayor detalle. Por medio de esta Memoria de Título buscó analizar cómo se comportan las aves cuando son sometidas a pruebas de preferencias gustativas, en cuanto a variables como la forma de entrega del compuesto, la edad y el número de aves por corral.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. Factores que influyen en el consumo de alimento y agua en pollos broiler

El estudio de la conducta alimentaria y de bebida en las aves de corral sería de gran utilidad, en cuanto a la eficiencia de utilización de recursos y salud de los animales (Li *et al.*, 2021). Diversos estudios han demostrado que el comportamiento de alimentación y de bebida se ve influenciado por estímulos externos. Estos pueden provenir del ambiente, prácticas de manejo y sistemas de crianza (Li *et al.*, 2021). También, por otro lado, existen factores sensoriales que incluyen el reconocimiento del alimento por medio del sentido olfatorio, gustativo y la vista, luego la ingestión y prehensión del alimento, y finalmente los cambios que ocurren en el tracto gastrointestinal (Ferket y Gernat, 2006).

Los factores ambientales más importantes son la temperatura y densidad. Se ha visto que los pollos broiler disminuye el consumo de alimento cuando es expuestos a altas temperaturas y también reduce el consumo de proteína (Syafwan *et al.*, 2012). En cuanto a la densidad, en se ha visto también que presentan facilitación social. Esto corresponde a la iniciación o incremento en la frecuencia de una conducta en respuesta de otros animales en el mismo comportamiento (Collins y Sumter, 2007). De hecho, se ha documentado que un pollo gasta menos tiempo en un comedero cuando está solo, *versus* cuando está en compañía (Collins y Sumter, 2007). Por otra parte, Li *et al.* (2021) analizaron al efecto que causa el tamaño de los comederos en la conducta alimentaria, en donde el efecto social fue relevante ya que al tener la posibilidad de ver a otros pollos comiendo, se incentivó el consumo de los que no lo estaban haciendo.

A nivel individual, el consumo de alimento depende de la edad, en los animales más jóvenes se ha visto un menor consumo debido al tamaño y falta de madurez del sistema digestivo (Classen, 2017). Por otro lado, el apetito juega un rol fundamental, ya que sin este no habría consumo. Las regiones cerebrales encargadas de la regulación del apetito son el núcleo arcuato, que secreta neuropéptidos en respuesta a estímulos y la región lateral de hipotálamo, que es influenciada por factores hormonales y circuitos neuronales, como lo es el eje microbiota-intestino-cerebro (te Pas *et al.*, 2020).

Por otro lado, las características organolépticas del alimento también influyen en el consumo, dentro de las cuales está la forma y textura, además del aroma y sabor. El sistema olfativo y gustativo han sido estudiados en aves y cumplen un rol clave para su supervivencia pues a través de ellos se puede obtener información de los nutrientes presentes en los alimentos (Lui *et al.*, 2018; Gomez y Celii, 2008). El sistema olfativo contiene complejas redes neuronales que actúan a desde la mucosa nasal, activadas por moléculas volátiles, hasta el bulbo olfatorio del sistema nervioso central (Gomez y Celii, 2008; te Pas *et al.*, 2020). Por otra parte, el sistema gustativo en aves ha sido cuestionado a lo largo de años. Esto se debe a que las papilas gustativas se presentan en menor cantidad y en una disposición diferente a las demás especies, encontrándose en su mayoría en el epitelio del paladar blando, rodeando la salida de la glándula maxilar, en la faringe, laringe, epiglotis, y en menor proporción en la base de la lengua (Liu *et al.*, 2018).

Las distintas modalidades gustativas se identifican con distintos nutrientes. Por ejemplo, el sabor umami se asocia al glutamato monosódico (MSG) y otros L-aminoácidos, mientras que dulce se asocia a azúcares simples como la sacarosa (Roura *et al.*, 2013). Las aves serían capaces de discriminar entre el MSG y otros L- aminoácidos. A su vez, existen estudios que develan cierta preferencia por dietas suplementadas con estos aminoácidos, comparándolas con dietas deficientes en metionina, lisina y triptófano (Roura *et al.*, 2013). Por otra parte, Yoshida *et al.* (2018) demostraron que puede generarse una aversión a soluciones que contengan compuestos de sabor umami, afirmando que estos animales son capaces de percibir este sabor.

En los pollos broiler, los azúcares no resultarían de importancia, pues a diferencia de otras especies, no son una fuente de energía relevante, incluso se cree que podría generar aversión, según lo señalado en el estudio de Cheled-Shoval *et al.* (2017). Por medio de una prueba de doble elección, que los pollos prefirieron el agua en vez de la solución a 1000 mM, tras 24 horas de ofrecidas ambas soluciones. Esta respuesta podría estar asociada a que las aves contarían con una menor cantidad de receptores que capten el sabor dulce (Cheled-Shoval *et al.*, 2017).

Por otro lado, si bien el calcio no es un sabor completamente aceptado como tal, se ha demostrado que las aves tienen un alto requerimiento nutricional de este mineral (Tordoff,

2001). Éste se encuentra principalmente en conchas, huesos y arena. En los casos de deficiencia de calcio, se ha evidenciado una preferencia en gallinas por dietas que presentan un mayor porcentaje de este mineral frente a otras de menor cantidad (Roura *et al.*, 2013).

3.2. Metodologías de medición de preferencias gustativas en pollos broiler

Actualmente en la literatura hay pocos trabajos que traten sobre las preferencias gustativas en pollos broiler. Es más, éstos se enfocaron en las características organolépticas de la dieta, así como la dureza del pellet entregado, estudiado por Bouvarel *et al.* (2009). A su turno, Herrera *et al.* (2017) realizaron un estudio sobre la influencia del tamaño de las partículas del alimento en dietas a base de maíz y cebada. Dicha investigación concluyó que no solo influye el tamaño de las partículas, sino también el cereal del cual se compone la dieta.

Uno de los primeros trabajos en acercarse al tema utilizando un método de doble elección o preferencias en pollos es Jacobs *et al.* (1957). Éste consistió en la utilización de distintas soluciones con sacarosa, sacarina y agua, donde quedó demostrado que los animales preferían la sacarosa en vez de la sacarina. Más adelante, Yoshida *et al.* (2015) investigaron sobre el sabor umami y la expresión genética de estos receptores en distintos tejidos. Usando modelo de doble elección, adicionaron distintas concentraciones de MSG y la sal de inosina monofosfato 5' (IMP) como realzador dentro del alimento. Dispusieron grupos compuestos entre 8 a 12 pollitos de 1 día en un corral para 5 pruebas distintas, las cuales variaron en las concentraciones de MSG e IMP utilizadas. Los autores evidenciaron un aumento del consumo del alimento incorporado con 0,5% de MSG más 0,05% de IMP *versus* el alimento control.

Continuando con la misma línea investigativa, Cho *et al.* (2016) desarrollaron un modelo de preferencias en gallinas ponedoras. Para ello, utilizaron 96 aves de 20 semanas de edad en jaulas individuales. Cada jaula contó con dos comederos, en el cual uno de ellos contuvo el compuesto gustativamente activo a probar, y el otro solo alimento, estando presentes por 7 horas. Se evaluó L-alanina (Ala), carbonato de calcio (CaCO₃), cloruro de sodio (NaCl) y MSG. Por otro lado, también se evaluó la forma de entrega del compuesto, este podía estar mezclado en afrechillo de trigo o almidón. Se observó preferencia por afrechillo de trigo sobre almidón como matriz de entrega, una preferencia hacia Ala, y aversión hacia

carbonato de calcio, reflejado en una disminución de su consumo. Finalmente, no se evidenciaron preferencias por NaCl ni MSG. Además, en este estudio se concluyó que, tras una hora de ser presentado los alimentos, ya se había establecido una preferencia.

Un año más tarde, Cheled-Shoval *et al.* (2017) desarrollaron un modelo de doble elección que buscó esclarecer las preferencias de los pollos entre distintos compuestos (sacarosa, MSG e hidroclorehidrato de quinina (QH)) a distintas concentraciones. Como conclusión se obtuvo que a concentración de 0.3mM de QH generó rechazo en las aves, prefiriendo el agua destilada. Para MSG ocurrió lo mismo a concentraciones de 500Mm, y para sacarosa a 1000 mM. A diferencia de las pruebas anteriores, en este trabajo la matriz de entrega de los compuestos fue agua de bebida. Los pollos de un día fueron ubicados en grupos de a tres, y se utilizaron 150 animales.

En el mismo año, Iqbal *et al* (2017) publicaron un estudio en donde los sabores evaluados estuvieron mezclados en el alimento, se testeó NaCl, MSG, ácido cítrico (CA) y Ala, cada uno en tres concentraciones distintas. Se utilizaron 224 pollos, se ubicaron en grupos de 4, en pareja o en solitario. Finalmente se evidenció el rechazo del CA en concentración de para uno y dos pollos. Para MSG se detectó el rechazo en concentraciones de 1% y 10 % en para ambos casos. Para NaCl y Ala en un 10%. Como conclusión, dicho estudio estableció que se pueden determinar preferencias mediante una prueba de doble elección. A su vez, los autores concluyeron que la cantidad de animales por corral no influyó en el consumo, por otra parte, fue señalado que hubo un bajo consumo de afrechillo de trigo, en general, por parte de las aves. Cabe destacar que, a diferencia de las pruebas anteriores, en este experimento fue incluida la variable de animales por corral.

Si bien existen estudios que demuestren que las aves tienen la capacidad de elegir entre distintos compuestos y mostrar preferencias gustativas, todos estos se basan en la medición de consumo y preferencia, y no es considerada la interacción que existe entre el animal y su entorno. En este trabajo se buscó examinar cómo se comportan los broiler al ser expuestos a una prueba de doble elección, por medio del registro y análisis de videograbaciones. Además, en esta Memoria se unificaron los trabajos anteriores, considerando como variables el número de animales, matriz de entrega y edad de las aves al momento de una prueba de preferencia.

4.

HIPÓTESIS

Existen diferencias en el comportamiento de pollos broiler al ser expuestos a pruebas de preferencias gustativas. Los animales adultos interactúan más con los compuestos ofrecidos cuando se encuentran en parejas y estos son entregados en agua, en comparación con aves jóvenes, solas y ofertadas con una matriz sólida.

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar un modelo de preferencias gustativas en pollos broiler comerciales según edad, número de animales por corral y matriz de entrega, mediante el análisis de videograbaciones.

6. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analizar el efecto de la edad de pollos broiler en sus interacciones con compuestos gustativamente activos.
2. Analizar el efecto del número de pollos broiler realizando pruebas de preferencias en su interacción con compuestos gustativamente activos.
3. Analizar el efecto de la matriz de entrega del compuesto gustativamente activo en el comportamiento de Pollos broiler durante pruebas de preferencias.

7.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los procedimientos se llevaron a cabo en la Unidad Experimental de Nutrición y Producción Avícola de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile. Esta instalación tiene una estructura convencional, con ventilación natural y un total de 32 corrales de piso. Cuenta con campanas de gas con control de temperatura por termostato. Los protocolos experimentales fueron aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad de Chile (certificado N°19320-VET-UCH).

Se utilizaron un total de 96 pollos broiler machos (Ross 308), adquiridos de una empresa avícola comercial ubicada en la comuna de Pirque, Región Metropolitana. Se realizaron dos pruebas (dos bandas), similares en cuanto a diseño experimental. Cada prueba contó con 48 pollitos cada una. En cada una, se destinaron por bloques al azar 16 corrales conteniendo un pollo, y los otros 16 corrales conteniendo una pareja de estos. El tiempo experimental en cada prueba fue de 42 días, similar al ciclo productivo del broiler.

Los pollos de 1 día fueron adquiridos y transportados desde la empresa avícola a la Unidad Experimental, donde fueron pesados y distribuidos de acuerdo a un proceso de homogenización de peso según la repartición antes mencionada (uno o dos pollos por corral). Durante los primeros siete días, las aves se adaptaron a las condiciones del galpón, y fueron alimentadas con una dieta inicial comercial acorde a los requerimientos nutricionales del pollo broiler según NRC (1994) y según el manual de la línea genética (Aviagen, 2019), además de agua de bebida *ad libitum*. En el día 23, se cambió a una dieta final la cual también será una dieta comercial balanceada de acuerdo con los requerimientos de los pollos (véase anexo).

A partir del día 7 de ensayo, los 32 corrales fueron asignados al azar a un diseño factorial $2 \times 2 \times 2 \times 4 \times 4 \times 2$, considerando la cantidad de pollos por corral (1 pollo vs. 2 pollos), la edad de los pollos (jóvenes (7- 23 días) vs. adultos (26- 42 días), y la matriz de entrega de los compuestos gustativamente activos (agua vs. afrechillo de trigo), el compuesto y su concentración (4 concentraciones distintas) y 2 videos diarios. Por lo tanto, a partir de ese momento, la mitad de los corrales ($n = 16$) se utilizaron para evaluar pruebas de preferencias entre los días 7 a 23, y la otra mitad ($n = 16$) para realizar los mismos procedimientos, pero entre los días 26 a 42. Dentro de los 16 corrales de pollos jóvenes o

adultos, en 8 de ellos se evaluarán los compuestos disueltos en agua; y en los 8 corrales restantes se proporcionarán los mismos pero mezclados en afrechillo de trigo (**Figura 1**).

1. Edad	 Joven (7-23 días)	 Adulto (26 -42 días)
2. Aves por corral	 Solo o en pareja	 Solo o en pareja
3. Matriz de entrega	  Agua o afrechillo de trigo	  Agua o afrechillo de trigo
4. Compuesto	MSG, L-Lisina, Carbonato de calcio o Sacarosa	MSG, L-Lisina, Carbonato de calcio o Sacarosa
5. Concentración	MSG: 1 mM, 75 mM, 150 mM y 300 mM L-lisina: 0,1%, 1%, 3,5% y 7%. Sacarosa: 1 mM, 50mM, 100mM y 200 mM Carbonato de calcio: 0,1%, 1%, 5% y 10%	MSG: 1 mM, 75 mM, 150 mM y 300 mM L-lisina: 0,1%, 1%, 3,5% y 7%. Sacarosa: 1 mM, 50mM, 100mM y 200 mM Carbonato de calcio: 0,1%, 1%, 5% y 10%
6. Hora	 Inicio/ Final	 Inicio/ Final

Para el modelo de preferencias, se utilizaron cuatro compuestos representativos de distintas modalidades gustativas, en cuatro distintas concentraciones. Como representante del sabor umami, se utilizó MSG en concentraciones de 1 mM, 75 mM, 150 mM y 300 mM. Dentro de este mismo sabor, se utilizó también L-lisina en concentraciones de 0,1%, 1%, 3,5% y 7%. Como representante del sabor dulce, se utilizó sacarosa en 1 mM, 50 mM, 100 mM y 200 mM. Finalmente, CaCO₃ como representante del sabor cálcico al 0,1%, 1%, 5% y 10%.

En cuanto a los compuestos, estos fueron adquiridos desde distintas empresas. La sacarosa con formato de 1 kg, y se utilizó azúcar común. Los demás compuestos fueron adquiridos en formato de 25 kg. La lisina utilizada fue adquirida desde Veterquímica S.A., el MSG fue adquirido desde Prinal S.A, y el carbonato de calcio obtenido desde la empresa Proa S.A.

7.1. Modelo de preferencias utilizando matriz de agua

De conformidad a la metodología descrita por Cheled-Shoval *et al.* (2017), en cada corral se ofreció dos bebederos idénticos, separados por 20 cm., los cuales uno contenía agua, y el otro contenía el compuesto gustativamente activo a evaluar disuelto. En el otro extremo del corral, se mantuvo ofrecido el comedero estándar con la dieta correspondiente según la

etapa de desarrollo del broiler. Cada combinación de los distintos compuestos, en las diferentes concentraciones, fueron cambiadas cada día, por lo que las pruebas de preferencia duraron en total 16 días (4 distintos compuestos \times 4 distintas concentraciones = 16 pruebas compuesto \times concentración). Las pruebas comenzaron cada día a las 9 de la mañana, y tuvieron una duración total de 8 horas, terminando a las 5 de la tarde. A las 8 de la mañana, los bebederos que no formaron parte de las pruebas se retiraron antes de comenzarla, completando una hora de ayuno de agua.

7.2. Modelo de preferencias utilizando matriz de alimento

Siguiendo la metodología de Yoshida *et al.* (2015) y Cho *et al.* (2016), en cada corral se ofrecieron dos comederos idénticos, separados por 20 cm., los cuales uno contuvo solo afrechillo de trigo, y el otro el compuesto gustativamente activo a evaluar mezclado con afrechillo. En el otro extremo del corral estaba disponible el bebedero. Cada combinación de los distintos compuestos, en las diferentes concentraciones, fueron cambiadas cada día, por lo que las pruebas de preferencia duraron en total 16 días (4 distintos compuestos \times 4 distintas concentraciones = 16 pruebas compuesto \times concentración). Las pruebas comenzaron cada día a las 9 de la mañana, y tuvieron una duración total de 8 horas, terminando a las 5 de la tarde. A las 8 de la mañana, los comederos que no formaron parte de las pruebas fueron retirados antes de comenzarla, completando una hora de ayuno de alimento.

7.3. Registro y análisis de videograbaciones

En cada corral se dispuso una cámara deportiva Microlab® 4K, ubicada en la parte superior de cada corral, y cuyo ángulo de observación permitió registrar ambos comederos o bebederos ofrecidos, según corresponda. Las videograbaciones tuvieron una resolución de 1080 megapíxeles y 720 fps. Se realizaron dos registros diarios de 10 minutos de duración, uno al comienzo, es decir, a las 9 de la mañana; y una segunda grabación a las 4 de la tarde, una hora antes de terminar los ensayos. Cada video fue almacenado en un disco duro externo Toshiba® de 2 TB para su posterior análisis. La visualización de las videograbaciones se realizó mediante el reproductor multimedia VideoLan VLC, y las observaciones se registraron en una base de datos en Microsoft Excel. Una vez realizadas y registradas todas las videograbaciones, la base de datos final tuvo un total de 3072

observaciones, correspondiente a la totalidad de los pollos en los corrales por día (96 pollos × 16 días × 2 videos diarios). Los parámetros que se consideraron para el análisis, tomando como base el trabajo de Shynkaruk, *et al.* (2019), fueron los siguientes:

- a) Inicio y término de la videograbación: se consideró el inicio del registro en el momento en que ambas opciones de preferencia (comederos o bebederos) estuvieron al alcance de las aves, y el observador no estuviese en el corral. El término serán 10 minutos transcurrido ese tiempo.
- a) Tipo de preferencia: solo se registraron las interacciones de las aves con el comedero/bebedero conteniendo el compuesto gustativamente activo. No se registraron las interacciones con el comedero/bebedero neutro conteniendo sólo afrechillo de trigo/agua.
- b) Tiempo de permanencia: tiempo en que un pollo broiler se encuentra en el borde del comedero/bebedero mirándolo. Inicia cuando el pollo se acerca a la fuente ofrecida para consumir y finaliza cuando éste se da vuelta, se aleja o se echa.
- c) Duración del *bout*: corresponde al tiempo en que el pollo se encuentra comiendo o bebiendo y que entre cada picoteo no hayan transcurrido más de 10 segundos.
- d) Número de *bouts*: cantidad de *bouts* registrados dentro del tiempo de permanencia.
- e) Número de picoteos: Cantidad de picoteos que realiza un pollo a la fuente ofrecida de afrechillo de trigo o agua, el pollo debe encontrarse al borde del comedero o bebedero y con la cabeza hacia abajo. Inicia cuando el pollo baja la cabeza con un movimiento de martillo y la vuelve a subir. En el caso del agua, tras bajar la cabeza mira hacia arriba y vuelve a ponerla en la posición original.

Tras el registro en la planilla Excel de todos los videos y todas las observaciones, cada corral contó con un valor para cada variable en la grabación inicial y otro para la grabación final. En los corrales que hubo una pareja se promediaron los valores obtenidos de ambos pollos, obteniendo un total de 2048 datos. Finalmente, todos estos datos fueron tabulados para su posterior análisis estadístico.

7.4. Análisis estadístico

Las variables registradas (tiempo de permanencia, número de *bouts*, duración de *bouts* y número de picoteos) fueron analizadas con ANOVA utilizando el procedimiento GLM del software estadístico SAS (versión 9.0, SAS Institute; Cary, EE. UU.). El modelo estadístico consideró como factores principales la edad de las aves (jóvenes, 7 - 23 días; o adultos, 26-42 días), número de pollos por corral (1 pollo o 2 pollos), matriz de entrega de compuestos (agua o afrechillo de trigo), compuesto utilizado (MSG, lisina, sacarosa o carbonato de calcio), el momento en que fue registrado el video (al inicio o final del día) y todas aquellas interacciones posibles entre los factores nombrados anteriormente que tuviesen alguna relevancia biológica.

Los valores promedio se compararon por medio de *LSMeans* con el ajuste de Tukey, y el nivel α para la determinación de significancia fue 0,05.

8.

RESULTADOS

En una primera etapa, se realizó un análisis de varianza para cada una de las variables, el cual estuvo compuesto por los 5 factores principales (Edad, Matriz, N° de pollos, Compuesto y Hora), junto a 26 posibles interacciones entre estos factores, pudiendo ser dobles (entre dos factores), triples (entre tres factores), cuádruples (entre cuatro factores) o quintuples (entre 5 factores) (ver Tabla 1).

Tabla 1: Factores Principales e interacciones entre los factores

Factores Principales e Interacciones entre ellos			
Factores Principales	Edad	Triples	Edad * Matriz * N° de pollos
	Matriz		Edad * Matriz * Hora
	N° de pollos		Edad * Matriz * Compuesto
	Compuesto		Edad * N° de pollos * Compuesto
	Hora		Edad * N° de pollos * Hora
Dobles	Edad*Matriz		Edad * Compuesto * Hora
	Edad* N° de pollos		Matriz * N° de pollos * Compuesto
	Edad*Compuesto		Matriz * N° de pollos * Hora
	Edad*Hora		Matriz * Compuesto * Hora
	Matriz* N° de pollos		N° de pollos*Compuesto * Hora
	Matriz* Compuesto	Cuádruples	Edad * Matriz * N° de pollos * Compuesto
	Matriz* Hora		Edad*Matriz * N° de pollos * Hora
	N° de pollos* Compuesto		Edad*N° de pollos* Compuesto *Hora
	N° de pollos* Hora		Edad* Matriz* Compuesto * Hora
	Compuesto*Hora		Matriz* N° de pollos* Compuesto* Hora
	Quíntuple	Edad * Matriz * N° de pollos *Compuesto* Hora	

Luego, para ajustar de mejor manera el modelo estadístico, se consideraron los 5 factores principales y aquellas interacciones que mostraron alguna diferencia significativa ($p \leq 0.05$), obteniendo un modelo para cada una de las variables. Este se compuso por los 5 factores principales y aquellas interacciones que presentaran diferencia significativa ($p \leq 0.05$). A continuación, se mostrará cual fue el modelo estadístico final para cada una de las 5 variables con los factores principales y las interacciones con algún nivel de significancia (ver tabla 2).

Tabla 2: Componentes del modelo estadístico.

Componentes del modelo estadístico	Tiempo de permanencia	Número de bouts	Duración de bouts	Picoteos
Edad	X*	X*	X*	X*
Matriz	*	X*	*	X*
N° Pollos	X*	X*	X*	X*
Compuesto	*	*	*	*
Hora	X	X	X	X
Edad* Matriz	X	X	X	X
Edad* N° pollos	X	X	X	X
Matriz* N° pollos	X	X	X	X
Edad* Hora				X
N° Pollos* Hora	X		X	X
Matriz *Hora		X		X
Edad *Matriz* N° Pollos	X	X	X	X
Edad* Matriz* Hora	X		X	X
Edad * N° Pollos* Hora	X			X
Matriz* N° Pollos* Hora	X		X	X
Edad* Matriz* N° Pollos* Hora	X		X	X

(*) representan los factores principales. (X) representa diferencias significativas.

Los modelos estadísticos para cada variable fueron los siguientes:

- a) Tiempo de Permanencia: el modelo estadístico se compone por la edad con ($p > 0.0001$), matriz ($p = 0.1255$), número de pollos ($p > 0.0001$), compuesto ($p = 0.8778$) y hora ($p > 0.0001$) como factores principales. Además, entre las interacciones dobles entre factores se encuentran: Edad *Matriz ($p > 0.0001$), Edad* N° de pollos ($p > 0.0001$), Matriz * N° de pollos ($p > 0.0001$) y N° pollos * Hora ($p = 0.003$). Dentro de las interacciones triples se encuentra Edad*Matriz* N° pollos ($p > 0.0001$), Edad* Matriz*Hora ($p = 0.0063$), Edad* N° Pollos *Hora ($p = 0,0004$) y Matriz* N° pollos *Hora ($p = 0,0108$). Finalmente, una interacción cuádruple, compuesta por la interacción Edad*Matriz* N° pollos* Hora ($p = 0.008$) (ver Cuadro 3).

Tabla 3: ANDEVA: Tiempo de permanencia.

Tiempo de permanencia	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F -Value	Pr > f
Edad	1	102796.5409	102796.5409	28.65	<0.0001*
Matriz	1	8428.2162	8428.2162	2.35	0.1255
N° Pollos	1	117265.0566	117265.0566	32.69	<0.0001*
Compuesto	3	2440.1995	813.3998	0.23	0.8778

Hora	1	243703.6343	243703.6343	67.93	<0.0001*
Edad* Matriz	1	176497.3846	176497.3846	49.2	<0.0001*
Edad* N° pollos	1	94736.6457	94736.6457	26.41	<0.0001*
Matriz* N° pollos	1	70290.4937	70290.4937	19.59	<0.0001*
N° Pollos* Hora	1	47827.0566	47827.0566	13.33	0.0003*
Edad *Matriz* N° Pollos	1	84577.0913	84577.0913	23.58	<0.0001*
Edad* Matriz* Hora	1	26802.1189	26802.1189	7.47	0.0063*
Edad * N° Pollos* Hora	1	44832.2697	44832.2697	12.5	0.0004*
Matriz* N° Pollos* Hora	1	23351.1411	23351.1411	6.51	0.0108*
Edad* Matriz* N° Pollos*Hora	1	25306.8649	25306.8649	7.05	0.008*

(*) Superíndice indica diferencia significativa.

b) Número de *bouts*: El modelo estadístico se compuso por los 5 factores principales: la edad ($p < 0.0001$), matriz ($p < 0.0001$), N° de pollos ($p < 0.0001$), compuesto ($p = 0.3868$), y hora ($p < 0.0001$). Dentro de las interacciones hay cuatro interacciones dobles y una triple: Edad*Matriz ($p < 0.0001$), Edad *N° de pollos ($p < 0.0001$), Matriz*N° de pollos ($p < 0.0001$), Matriz*Hora ($p < 0.0001$) y Edad*Matriz*Hora ($p < 0.0001$).

Tabla 4: ANDEVA: Número de *bouts*.

Número de <i>bouts</i>	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F Value	Pr> f
Edad	1	5.4265365	5.4265365	22.33	<0.0001*
Matriz	1	19.24436223	19.24436223	79.2	<0.0001*
N° Pollos	1	6.58785094	6.58785094	27.11	<0.0001*
Compuestos	3	0.73709729	0.2456991	1.01	0.3868
Hora	1	12.68106457	12.68106457	52.19	<0.0001*
Edad* Matriz	1	14.97393712	14.97393712	61.62	<0.0001*
Edad* N° pollos	1	5.48574949	5.48574949	22.58	<0.0001*
Matriz* N° pollos	1	3.08784262	3.08784262	12.71	0.0004*
Matriz *Hora	1	1.48352244	1.48352244	6.11	0.0136*
Edad *Matriz* N° Pollos	1	4.04431653	4.04431653	16.64	<0.0001*

(*) Superíndice representa diferencia significativa.

c) Duración de *bouts*: Este modelo estadístico estuvo conformado por los factores principales, edad ($p < 0.0001$), matriz ($p=0.4754$), N° de pollos ($p < 0.0001$),

compuesto ($p=0.9063$), y hora ($p < 0.0001$). También interacciones dobles, dentro de las que se encuentran: Edad*Matriz ($p < 0.0001$), Edad *N° de pollos ($p < 0.0001$), Matriz*N° de pollos ($p < 0.0001$), N° de pollos* Hora ($p=0.103$). Asimismo, se encuentran interacciones triples, como: Edad *Matriz * N° de pollos ($p < 0.0001$), Edad*Matriz* Hora ($p=0,0231$), Matriz* N° Pollos*Hora ($p=0.0134$). Finalmente, una interacción cuádruple Edad*Matriz*N° pollos* Hora ($p=0.0005$) (ver Tabla 5).

Tabla 5: ANDEVA: Duración de *bouts*.

Duración de <i>bouts</i>	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F Value	Pr> f
Edad	1	75308.1314	75308.1314	22.63	<0.0001*
Matriz	1	1695.4968	1695.4968	0.51	0.4754
N° Pollos	1	60123.5361	60123.5361	18.07	<0.0001*
Compuestos	3	1851.1146	617.0382	0.19	0.9063*
Hora	1	198494.7538	198494.7538	59.66	<0.0001*
Edad* Matriz	1	108392.5476	108392.5476	32.58	<0.0001*
Edad* N° pollos	1	54389.0995	54389.0995	16.35	<0.0001*
Matriz* N° pollos	1	57160.4882	57160.4882	17.18	<0.0001*
N° Pollos* Hora	1	21925.2636	21925.2636	6.59	0.0103*
Edad *Matriz* N° Pollos	1	76922.51	76922.51	23.12	<0.0001*
Edad* Matriz* Hora	2	25129.7417	12564.8709	3.78	0.0231*
Matriz* N° Pollos* Hora	1	20379.0553	20379.0553	6.12	0.0134*
Edad* Matriz* N° Pollos*Hora	2	50698.8766	25349.4383	7.62	0.0005*

(*) Superíndice representa diferencia significativa.

d) Número de picoteos: El modelo estadístico se compone por los 5 factores principales, que son la edad ($p < 0.0001$), Matriz ($p < 0.0001$), N° de pollos ($p < 0.0001$), Compuesto ($p=0.7827$), y Hora ($p < 0.0001$). Se consideraron 6 interacciones dobles, dentro de las cuales se encuentran; Edad* Matriz ($p < 0.0001$), Edad* N °pollos ($p < 0.0001$), Matriz* N° pollos ($p < 0.0001$), Edad* Hora ($p=0,0036$), N° Pollos* Hora ($p= 0.0017$) y Matriz *Hora ($p < 0.0001$). Dentro de las interacciones entre 3 factores se encontraron: Edad *Matriz* N° Pollos ($p < 0.0001$), Edad* Matriz* Hora ($p=0.002$), Edad * N° Pollos* Hora ($p=0.0002$) y Matriz* N° Pollos* Hora ($p=0.0016$). Finalmente se obtuvo una interacción cuádruple, que corresponde a Edad* Matriz* N° de pollos * Hora ($p=0.0003$).

Tabla 6: ANDEVA: Número de picoteos.

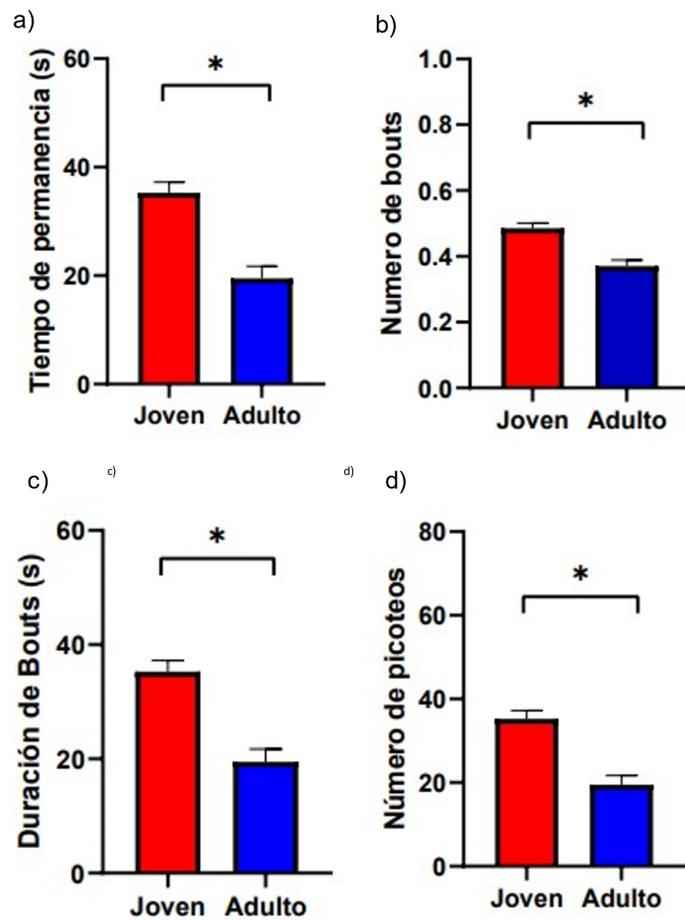
Número de picoteos	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F Value	Pr> f
Edad	1	204918.4266	204918.4266	40.14	<0.0001*
Matriz	1	367301.2026	367301.2026	71.96	<0.0001*
N° Pollos	1	131021.5051	131021.5051	25.67	<0.0001*
Compuesto	3	5495.4986	1831.8329	0.36	0.7827
Hora	1	186722.8518	186722.8518	36.58	<0.0001*
Edad* Matriz	1	231656.5837	231656.5837	45.38	<0.0001*
Edad* N° pollos	1	171902.6155	171902.6155	33.68	<0.0001*
Matriz* N° pollos	1	127167.415	127167.415	24.91	<0.0001*
Edad* Hora	1	43393.4185	43393.4185	8.5	0.0036*
N° Pollos* Hora	1	50332.2996	50332.2996	9.86	0.0017*
Matriz *Hora	1	112213.4099	112213.4099	21.98	<0.0001*
Edad *Matriz* N° Pollos	1	164572.107	164572.107	32.24	<0.0001*
Edad* Matriz* Hora	1	48746.6881	48746.6881	9.55	0.002*
Edad * N° Pollos* Hora	1	72026.7935	72026.7935	14.11	0.0002*
Matriz* N° Pollos* Hora	1	51078.749	51078.749	10.01	0.0016*
Edad* Matriz* N° Pollos*Hora	1	67595.704	67595.704	13.24	0.0003*

(*) Superíndice representa diferencia estadísticamente significativa.

A continuación, se analizarán cada uno de los factores para cada variable, posterior se analizarán las interacciones.

8.1. Resultados: Factores Principales

-Edad: Se encontraron diferencias significativas para las cuatro variables. Para el tiempo de permanencia (Figura 2a), se observaron diferencias significativas entre los dos grupos, siendo mayor en grupo de los jóvenes en contraste con el grupo adulto ($p<0.0001$). Para el Número de *bouts*, también se encontraron diferencias significativas (Figura 2b), obteniendo mayor cantidad para los jóvenes ($p<0.0001$). Del mismo modo, la duración de *bouts* (Figura 2c), se registraron *bouts* más extensos en el grupo de los jóvenes ($p<0.0001$). Finalmente, el número de picoteos (Figura 2d) fue mayor en el grupo de los jóvenes ($p<0.0001$) al comparar con grupo adulto.



1. Matriz: El tiempo de permanencia ($p=0,1255$) (Figura 3a) y la duración de *bouts* ($p=0.4754$) (Figura 3b) no se vieron afectadas por el tipo de matriz en que los compuestos fueron entregados, sin embargo, se encontraron diferencias significativas para el número de *bouts* ($p<0.0001$), siendo mayor cuando el compuesto fue ofrecido en agua (Figura 3c). Por otra parte, la cantidad de picoteos fue mayor en la matriz de afrechillo ($p<0.0001$) que en el agua (Figura 3d).

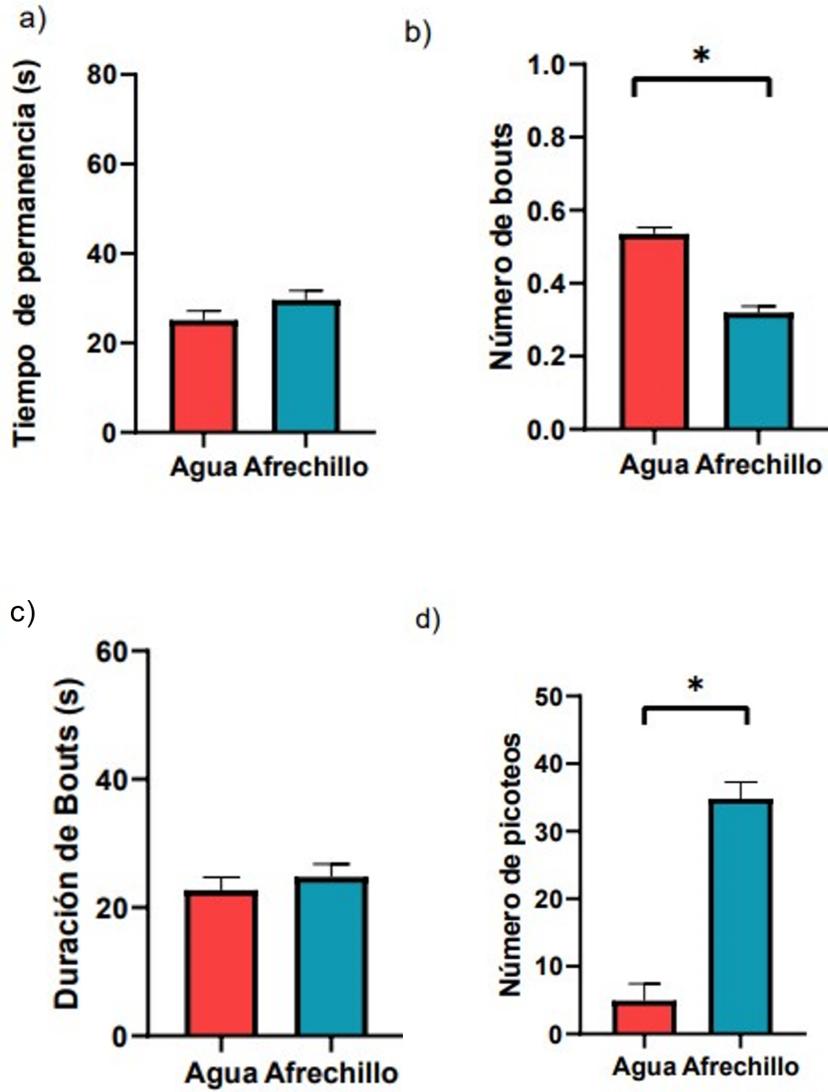
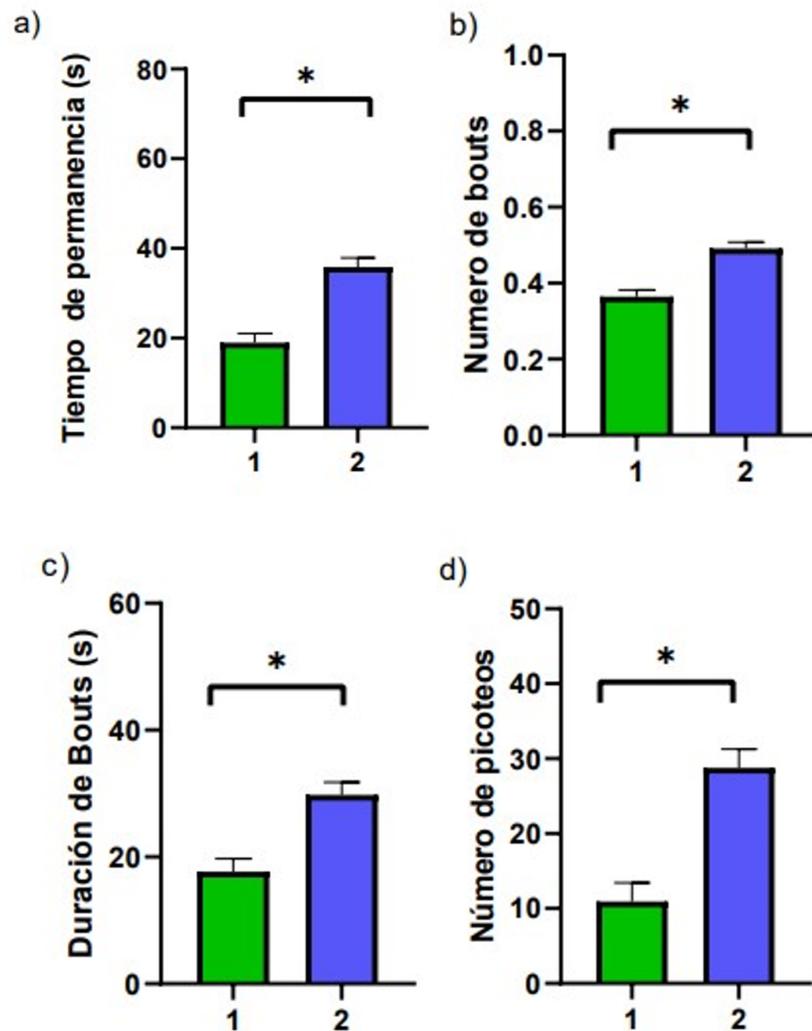


Figura 3: Efecto de Matriz de entrega de compuestos utilizadas en Pruebas de Preferencias en pollos broiler en: a) Tiempo de Permanencia; b) Número de *bouts*; c) Duración de *bouts*; d) Número de picoteos. Superíndice (*) indica diferencias significativas entre matriz agua y matriz afrechillo de trigo.



una de las

Figura 4: Efecto del Número de Pollos dispuestos por corral en Pruebas de Preferencias realizadas en pollos broiler en: a) Tiempo de Permanencia; b) Número de *bouts*; c) Duración de *bouts*; d) Número de picoteos. Superíndice (*) indica diferencias significativas entre 1 o 2 pollos por corral.

variables. En el tiempo permanencia se registraron mayores estadías en aquellos corrales compuestos por una pareja de pollos en comparación a aquellos corrales con un individuo ($p < 0.0001$) (Figura 4a). Del mismo modo, el número de *bouts*

($p < 0.0001$) (Figura 4b), duración de *bouts* ($p < 0.0001$) (Figura 4c) y número de picoteos ($p < 0.0001$) (Figura 4d).

4. Compuestos: No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para ninguna de las variables; para el tiempo de permanencia el valor $p = 0.8778$ (Figura a), número de *bouts* ($p = 0.3868$) (Figura b), duración de *bouts* ($p = 0.9063$) (Figura c) y número de picoteos ($p = 0.7827$) (Figura d).

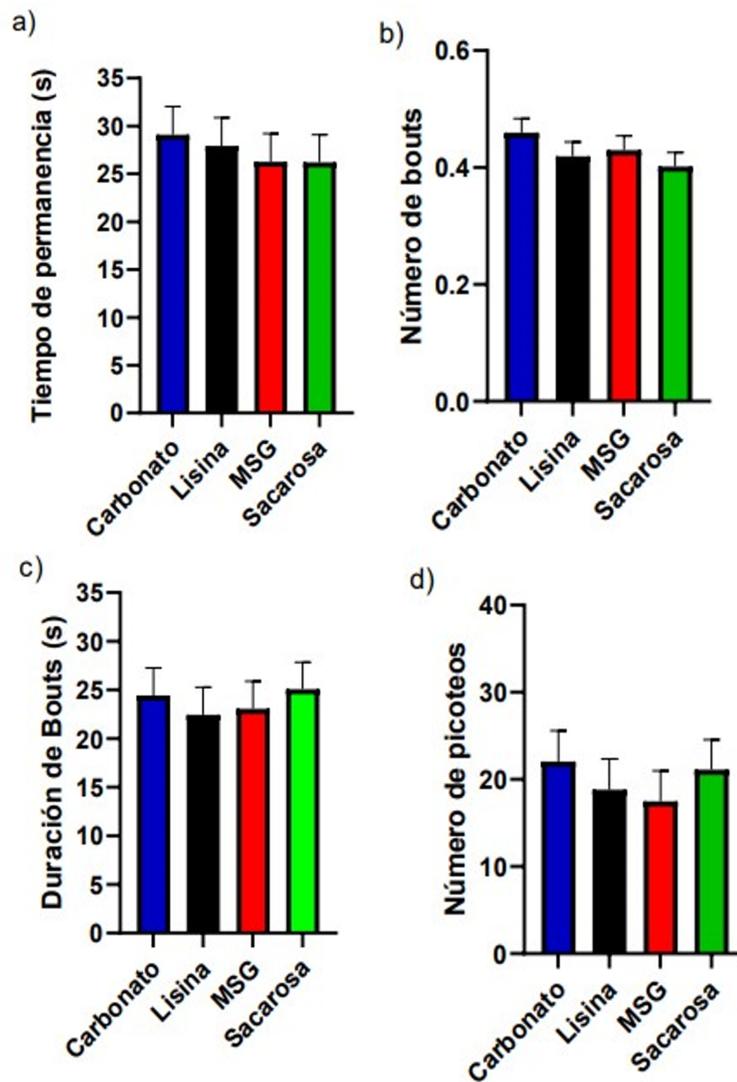
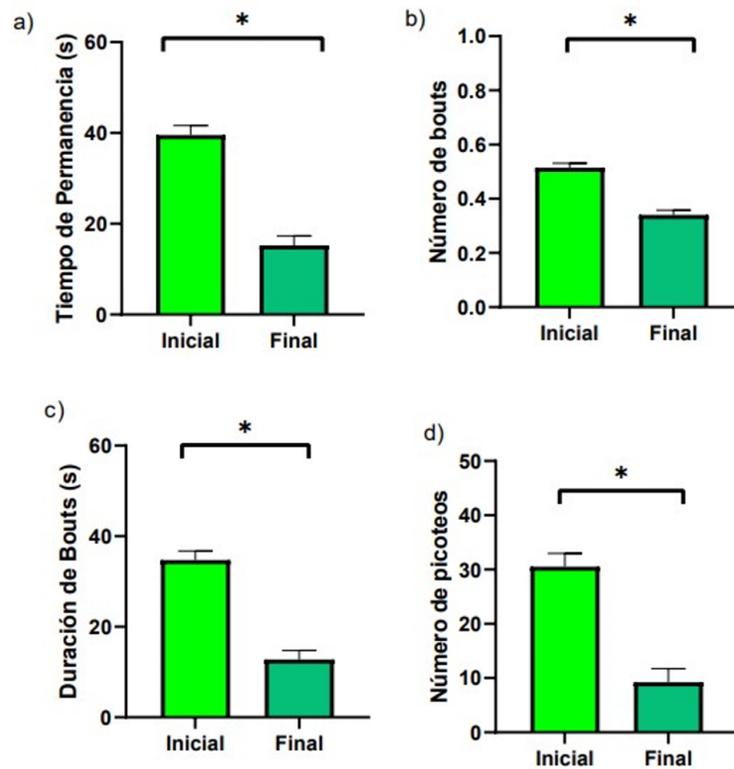


Figura 5: Efecto de los compuestos utilizados en Pruebas de Preferencias realizadas en pollos broiler en: a) Tiempo de Permanencia; b) Número de *bouts*; c) Duración de *bouts*; d) Número de picoteos.

5. Hora: El tiempo de permanencia fue mayor en la grabación inicial en comparación a la grabación tomada al final de las pruebas ($p < 0.0001$) (Figura 6a), ocurrió lo mismo para la duración de *bouts* ($p < 0.0001$) (Figura 6b). De igual forma se observó un mayor número de picoteos (Figura 6c) y número de *bouts* ($p < 0.0001$) (Figura 6d) en la grabación inicial en comparación a la grabación final.



8.2.

Figura 6: Efecto del momento en que se presentan los compuestos en Pruebas de Preferencias realizadas en pollos broiler en: a) Tiempo de Permanencia; b) Número de *bouts*; c) Duración de *bouts*; d) Número de picoteos. Superíndice (*) indica diferencias significativas entre grabación inicial y grabación realizada al final de las pruebas de preferencias.

Resultados: Interacciones entre Factores Principales:

Dentro de las interacciones entre los factores principales, se seleccionaron dos combinaciones. Una triple, que corresponde a Edad * Matriz * Número de pollos, la cual contesta la hipótesis de este estudio. Además de una interacción cuádruple, que corresponde a Edad* Matriz*Número de pollos* Hora la cual sintetiza de mejor manera los resultados obtenidos en este estudio.

1. Interacción Edad* Matriz* Número de pollos: Esta interacción fue estadísticamente significativa para las cuatro variables observadas en los videos. En cuanto al tiempo de permanencia, se observó una mayor duración en aquellos corrales compuestos por dos pollos jóvenes cuya matriz fue afrechillo de trigo (Figura 7a), observándose diferencias significativas en el corral compuesto por un pollo joven con esta misma matriz (p

<0.0001). También se encontraron diferencias significativas entre los corrales conformados por dos pollos adultos con matriz afrechillo ($p < 0.0001$). Finalmente, del mismo modo, se encontraron diferencias significativas en aquellos corrales compuestos por dos pollos jóvenes con distinta matriz, siendo mayor en afrechillo de trigo ($p < 0.0001$).

En el número de *bouts* fue mayor en aquellos corrales compuestos por dos pollos jóvenes con matriz afrechillo (Figura 7b) en comparación con dos pollos adultos con esta matriz ($p < 0.0001$) y en aquellos corrales compuestos por un pollo joven con matriz afrechillo ($p < 0.0001$). Por otro lado, se observaron diferencias significativas entre corrales compuestos por 1 pollo joven con matriz agua *versus* una pareja de jóvenes con esta misma matriz ($p = 0.0087$), sin embargo, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los corrales conformados por pollos adultos con matriz agua ($p = 0.5558$).

La duración de los *bouts*, al igual que en las otras variables fue mayor en corrales por dos pollos jóvenes con matriz afrechillo (Figura 7c), en comparación a corrales de jóvenes conformados por 1 pollo con esta misma matriz ($p < 0.0001$), también hubo diferencias entre los corrales de 2 pollos joven con matriz agua ($p < 0.0001$) y entre una pareja de pollos adultos con matriz afrechillo ($p < 0.0001$).

Finalmente, para el número de picoteos, se observó una mayor cantidad de estos en corrales conformados por dos pollos jóvenes con matriz afrechillo (Figura 7d), en comparación a aquellos corrales por 1 pollo joven con esta misma matriz ($p < 0.0001$), también fue mayor la cantidad de picoteos en este primer tipo de corral en paralelo a una pareja de pollos adultos con afrechillo ($p < 0.0001$). También se observaron diferencias significativas entre joven y adulto para una pareja en matriz afrechillo ($p < 0.0001$).

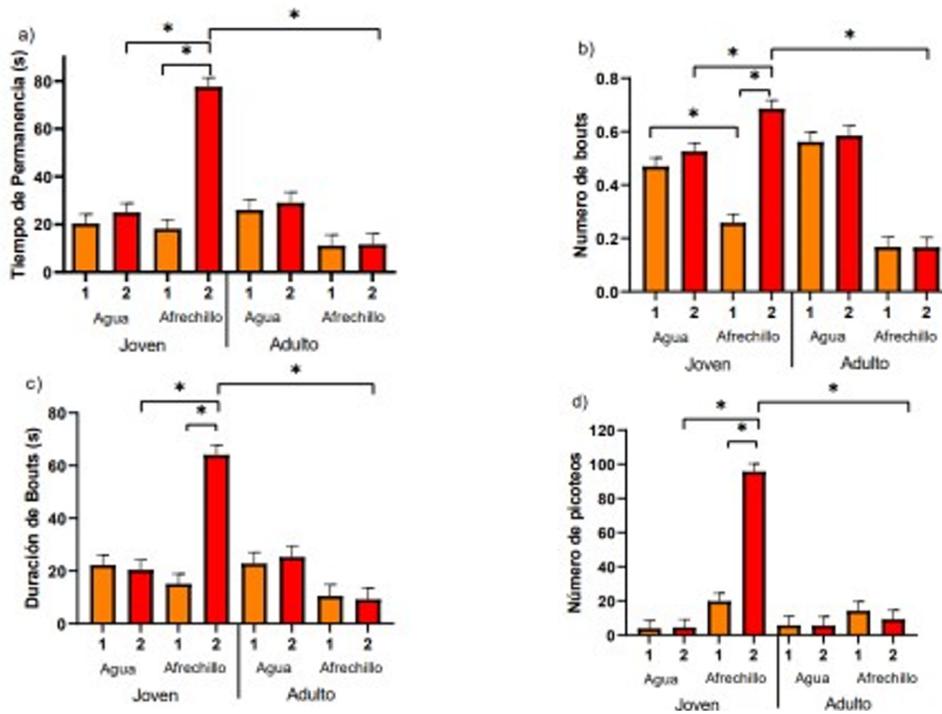


Figura7: Efecto de la interacción entre los factores principales: Edad* Matriz de Entrega* Número de Pollos en Pruebas de Preferencias realizadas en pollos broiler en: a) Tiempo de Permanencia; b) Número de *bouts*; c) Duración de *bouts*; d) Número de picoteos. Superíndice (*) indica diferencias significativas.

2. Interacción Edad* Matriz* Número de pollos *Hora: Esta interacción fue estadísticamente significativa para el tiempo de permanencia ($p=0.0098$), duración de *bouts* ($p=0.0113$) y número de picoteos ($p=0.0004$), sin embargo, no se encontraron diferencias significativas para el número de *bouts* ($p=0.2469$).

Se observó un mayor tiempo de permanencia en aquellos corrales compuestos por dos pollos jóvenes con matriz afrechillo en la grabación inicial al comparar este mismo tipo de corral, pero en la grabación final ($p < 0.0001$). También se observaron diferencias significativas en los videos obtenidos al inicio entre los corrales compuestos por dos pollos jóvenes con matriz afrechillo y corrales con pareja de pollos adultos con la misma matriz ($p < 0.0001$). Solo en las grabaciones realizadas al final del día se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los corrales con dos pollos jóvenes con afrechillo y dos pollos adultos con afrechillo ($p=0.0053$) (Figura 8a).

En la duración de *bouts* (Figura 8b), al igual que en la variable anterior, se observó una mayor duración de estos en corrales compuestos por dos pollos jóvenes con matriz afrechillo al inicio del día de pruebas en comparación a este mismo corral, pero en la grabación al final del día ($p < 0.0001$). También se observaron diferencias significativas en los corrales con una pareja de pollos con matriz afrechillo entre joven y adulto en la grabación inicial ($p < 0.0001$) y la grabación final ($p < 0.0001$), obteniendo *bouts* más largos en el grupo de jóvenes. Dentro de las parejas jóvenes se encontraron diferencias significativas entre las dos matrices en la grabación inicial, siendo mayor para el afrechillo de trigo que para el agua ($p < 0.0001$), sin embargo, no hubo diferencias significativas en las grabaciones finales ($p=0.2009$). Del mismo modo se encontraron diferencias significativas dentro del grupo de los jóvenes con afrechillo en la cantidad de pollos por corral, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre los corrales con 1 pollo versus 2 pollos en la grabación inicial ($p < 0.0001$), pero no en las grabaciones finales ($p=0.4409$).

En cuanto al número de picoteos (Figura 8c), hubo una mayor cantidad de picoteos para aquellos corrales compuestos por dos pollos jóvenes con matriz afrechillo en la grabación inicial, existiendo diferencias estadísticamente significativas para este mismo corral en la grabación final ($p < 0.0001$). En cuanto a la edad, solo se encontraron diferencias para la matriz afrechillo con una pareja de aves en ambas grabaciones (primera ($p < 0.0001$) y

segunda grabación $p= 0.0083$). En cuanto a la matriz, solo hubo diferencias en el grupo de los jóvenes con 2 pollos en la grabación inicial ($p < 0.0001$), pero no en la grabación final ($p=0.0015$).

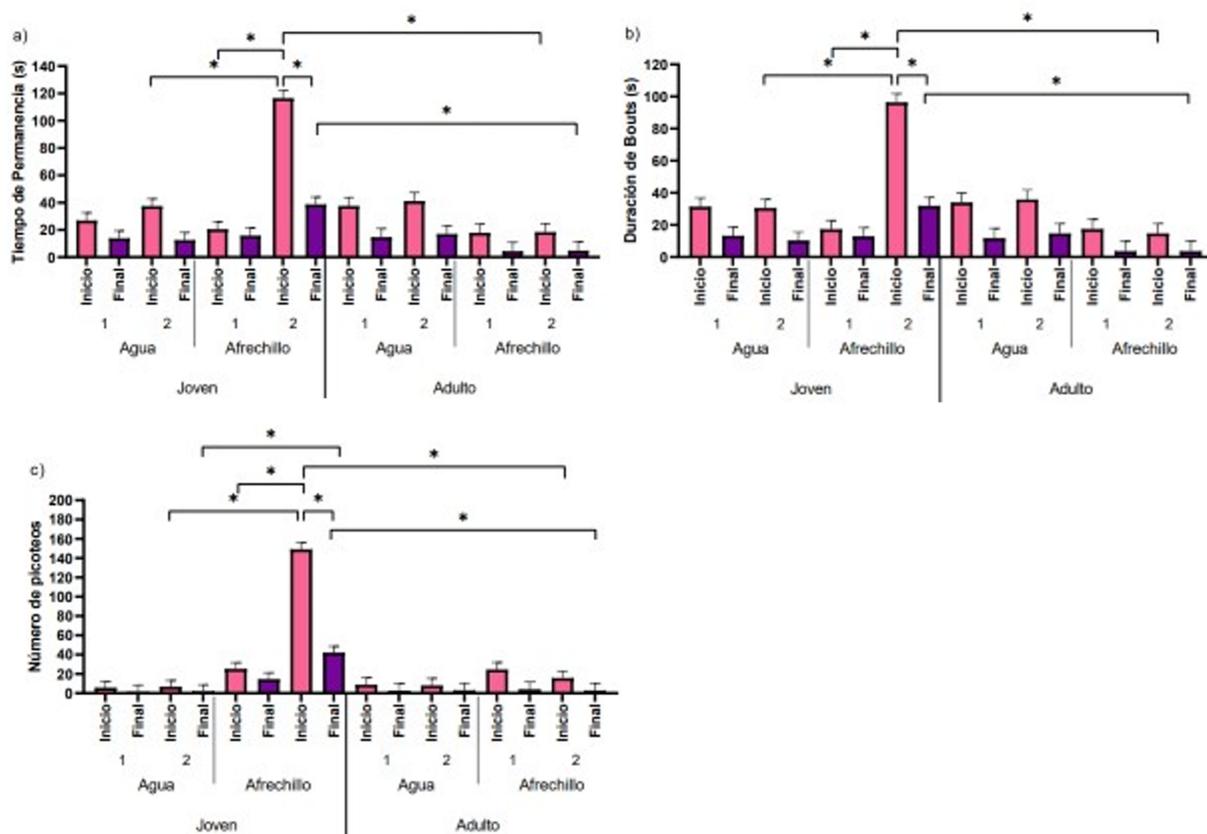


Figura 8: Efecto de la interacción entre los factores principales: Edad* Matriz de Entrega* Número de Pollos* Hora en Pruebas de Preferencias realizadas en pollos broiler en: a) Tiempo de Permanencia; b) Número de *bouts*; c) Número de picoteos. Superíndice (*) indica diferencias significativas.

9. DISCUSIÓN

El presente estudio evaluó la conducta alimentaria de pollos broiler durante pruebas de preferencias, considerando diferentes factores de manera simultánea: número de pollos, matriz de entrega, edad de las aves, compuesto, hora y las posibles combinaciones entre ellas. Además, se utilizaron cuatro compuestos distintos representantes de distintos sabores; umami, dulce y calcio. Se realizaron dos grabaciones; una al comienzo de las pruebas y otra una hora antes del término de las mismas. En los videos se registraron las interacciones de los pollos broiler con los comederos o bebederos, en su caso, que contenían los compuestos gustativamente activos, utilizando cuatro parámetros descritos previamente por Shynkaruk *et al.* (2019): tiempo de permanencia, número de *bouts*, duración de *bouts* y número de picoteos. Dentro de dichos parámetros, y de acuerdo a la capacidad de cada compuesto de incentivar o promover el consumo de las aves, se esperaba que hubiese un mayor tiempo de permanencia dentro de la grabación, además que la duración de los *bouts* fuera similares al primer parámetro, de manera de tener menor cantidad de *bouts* y que hubiese la mayor cantidad de picoteos.

Con respecto al primer Objetivo Específico, se buscó analizar el efecto de la edad de los pollos broiler durante las pruebas de preferencia. El grupo de los jóvenes demostró una mayor actividad, registrando un mayor tiempo de permanencia, número de bouts, duración de bouts y cantidad de picoteos. Cabe mencionar que, si bien la literatura pretérita sobre preferencias gustativas en pollos broiler no se analiza el efecto de la edad de las aves, el estudio de Aldridge *et al.* (2021) sobre conducta alimentaria concluyó que pollos de 14 días visitaron más los comederos y bebederos, en relación a pollos de 21 y de 40 días, lo que es coincidente con lo observado en la presente investigación, en donde las mayores interacciones con comederos o bebederos con compuestos gustativamente activos se registraron en el grupo de los jóvenes. Por otro lado, en el estudio de Shynkaruk *et al.* (2019), se concluyó que a medida que aumenta la edad, los pollos visitan menos los comederos, pero se quedan más tiempo, obteniendo más cantidad de *bouts* y mayores intervalos entre *bouts*. No obstante, dichos resultados no son comparables con este estudio, puesto que fueron obtenidos tras la medición de un comportamiento de 24 horas, a diferencia de la presente investigación, en que se efectuaron dos mediciones de diez minutos cada una, sin que se midiera el registro de intervalo entre *bouts*.

En cuanto al segundo Objetivo Específico, éste buscó determinar el efecto de la cantidad de pollos por corral, resultando que los corrales con dos animales registran mayor actividad que aquellos con una sola ave. Al respecto, el estudio de Iqbal *et al* (2017) es el único que considera esta variable para pruebas de doble elección, señalando que la cantidad de aves por grupo no afecta los resultados, lo que difiere de lo advertido en el presente estudio. Por otro lado, en la publicación de Collins y Sumter (2007), se mencionó la presencia de facilitación social en pollos. En efecto, el estudio anteriormente citado postula que ante la presencia de más animales que estén realizando alguna actividad, incentiva el inicio de la misma, lo que incide en una mayor frecuencia de la alimentación y consumo de agua, fenómeno que podría explicar las mayores interacciones de los corrales en parejas apreciadas en el presente estudio, en relación a los corrales con un solo sujeto. Asimismo, Li *et al.* (2019) demostraron que la probabilidad de que un pollo visite el comedero aumenta al ver más animales consumiendo alimento, lo que concuerda con los resultados obtenidos.

Respecto al tercer Objetivo Específico, relativo al efecto de la matriz de entrega de los compuestos gustativamente activos, se obtuvo que dicho factor sólo fue relevante para el número de *bouts* y número de picoteos registrados. Así, se obtuvo mayor cantidad de *bouts* en aquellos corrales con matriz agua, pero más picoteos en corrales ofrecidos con afrechillo de trigo. Esto puede sugerir que la matriz en que se aportan los compuestos no es relevante para estudios de comportamiento en pruebas de preferencias. No obstante, es importante mencionar que no existen trabajos previos que comparen matrices sólidas y líquidas en pruebas de preferencias que puedan corroborar nuestros resultados. Sin perjuicio de ello, en el trabajo de Cho *et al.* (2016), se evaluaron dos matrices sólidas, dentro de las cuales las aves mostraron preferencias por el afrechillo de trigo por sobre el almidón de maíz. Más adelante, Iqbal *et al.* (2017) señalaron que el consumo de afrechillo fue bajo en general dentro de sus pruebas de preferencias, lo que podría diferir en el presente estudio, ya que, en general, nuestros resultados demuestran que podría haber un mayor interés por el afrechillo, que por el agua. Por otra parte, solo Cheled-Shoval y colaboradores (2017) han utilizado agua como matriz de entrega.

Además de los factores ya abordados, este estudio analizó el efecto de los compuestos gustativamente activos utilizados. Se utilizaron cuatro compuestos representantes de distintas modalidades. Para el sabor umami se utilizó L-lisina y MSG, para el sabor dulce se utilizó sacarosa, y como representante del calcio se ocupó carbonato de calcio. Cada uno de ellos fue utilizado en cuatro concentraciones distintas, las que fueron aumentando de manera progresiva. De los resultados no se advierte que éstos hayan incidido en alguno de los parámetros medidos, a saber, tiempo de permanencia, número de bouts, duración de bout y número de picoteos, no obstante, éste podría influir el parámetro de consumo, estándar que no corresponde al presente estudio.

También se analizó el efecto del tiempo transcurrido en la prueba de preferencia, para ello, se registraron dos grabaciones; una al comienzo de las pruebas de preferencias, que capturó el primer acercamiento de las aves a los comederos o bebederos dispuestos; y otra una hora antes del término de las pruebas diarias. En las grabaciones iniciales se aprecia una mayor actividad que en la segunda, circunstancia que puede obedecer al término de la restricción alimentaria o de agua a la que fueron sometidas las aves como parte del diseño experimental. En cuanto a los efectos del ayuno en el comportamiento de los pollos, Fondevila *et al.* (2020) señala que los pollos broiler, luego de terminado un período de ayuno, aumentan el consumo de alimento, lo que se manifiesta en estancias más largas en los comederos; también concluye que los pollos broiler tienen la capacidad de modificar su conducta alimentaria en base a los periodos de ayuno, lo que ocurrió en el presente estudio, viéndose reflejado en una mayor actividad en la grabación inicial.

Es menester hacer presente que la comparación de los resultados obtenidos en este estudio con estudios de doble elección es del todo compleja puesto que la literatura existente dice relación únicamente con el consumo de algún compuesto mezclado en agua o en alimento, sin analizar la conducta de las aves durante las pruebas. En cambio, el presente trabajo considera distintas variables de manera simultánea (edad, tipo de matriz de entrega, número de pollos, distintos compuestos y hora), lo que no había sido realizado hasta la fecha. Sin perjuicio de ello, cabe mencionar que, al remitirnos a los estudios previos sobre conducta alimentaria, se aprecia que los resultados obtenidos en el presente trabajo son concordantes con ellos.

Considerando lo anteriormente expuesto, la importancia de este trabajo radica en que ha quedado demostrado que existen mayores interacciones con comederos o bebederos en etapas iniciales en el ciclo productivo de pollos broiler, y con más de un ave. Dato que resulta de gran utilidad para la industria avícola, y a partir del cual resulta aconsejable que en la realización de futuras investigaciones que busquen la integración de algún aditivo o nuevo producto, éstas se realicen en etapas iniciales del ciclo, con más de un animal y mezclado en alimento.

10. CONCLUSIONES

De la presente Memoria de Título se puede concluir que la edad, el número de pollos por corral, la matriz de entrega de compuestos y el tiempo transcurrido de pruebas de preferencia influyen en el comportamiento alimentario de las aves durante este tipo de pruebas. Así, se demostró que pollos jóvenes (7-23 días de vida), alojados en parejas, con matriz de afrechillo de trigo y al comienzo de las pruebas de preferencia tuvieron mayores interacciones con los comederos o bebederos que contuvieron el compuesto gustativamente activo. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis planteada en este estudio.

A modo de cierre, es importante hacer hincapié en la relevancia que tendrán de los resultados obtenidos en el presente trabajo en futuras investigaciones sobre la incidencia de algún aditivo o ingrediente en la dieta de los pollos broiler y sus efectos, ya que se podrá tener por sentado que las mayores interacciones se producen al inicio del ciclo, con más de un ave, mezclados en el alimento y con ayuno previo, antecedentes que sin duda optimizan, agilizan y harán que la investigación se lleve a cabo de una manera más eficiente. Por lo mismo, y atendida la trascendencia de los datos obtenidos se torna conveniente la realización de más estudios sobre cómo es el comportamiento de aves broiler en pruebas de preferencias, que puedan corroborar la información obtenida. También sería interesante poder contrastar los parámetros que se utilizaron en este estudio con el consumo de los compuestos.

11. BIBLIOGRAFÍA

ALDRIDGE, D. J.; KIDD, M. T.; SCANES, C. G. 2021. Eating, drinking and locations of broiler chickens reared under commercial conditions with supplementary feeder line lighting. *J Appl Poult Res.* 30 (3):100-167.

AVIAGEN. 2019. Manual de Manejo del Pollos de Engorde Ross.

BOUVAREL, I.; CHAGNEAU, A.; LECUELLE, S.; LESCOAT, P.; FERREIRA, G.; DUVAUX-PONTER, C.; LETERRIER, C. 2009. Feed composition and hardness interact in preference and intake in chickens. *Appl. Anim. Behav. Sci.* (118): 62-68.

CHILECARNES. 2021. Compendio estadístico: Enero- Diciembre 2020. Chile. [en línea]. <<http://www.chilecarne.cl/documentos/compendio-chilecarne-semester-i-2020/>>. [consulta: 22-06-2021].

CHELED-SHOVAL, S.; REICHER, N.; NAAMA, NIV, M.; UNI, Z. 2017. Detecting thresholds for bitter, umami, and sweet tastants in broiler chicken using a 2-choice test method. *Poult. Sci.* (96): 2206-2218.

CHO, S.; KIM, J.; ROURA, E. 2016. A new double choice model developed in laying hens reveals high performance for L-alanine. **In:** 27th Annual Australian Poultry Science Symposium. Sydney, Australia. February 14th- 17th, 2016. The Poultry Research Foundation- The World's Poultry Science Association. pp 95.

CLASSEN, H. 2017. Diet energy and feed intake in chicken behaviour. *Anim. Feed. Sci. Technol.* (233): 13-21.

COLLINS, L.; SUMPTER, D. 2007. The feeding dynamics of broiler chickens. *J. R. Soc. Interfac.* (4): 65-72.

FERKET, P.; GERNAT, A. 2006. Factors that affect feed intake of meat birds: a review. *Int J Poult Sci.* (10): 905- 911.

- FONDEVILA, G.; ARCHS, J. L.; CÁMARA, L.; DE JUAN, F.; MATEOS, G.** 2020. The length of the feed restriction period affects eating behaviour, growth performance, and the development of the proximal part of the gastrointestinal tract of young broilers. *Poult. Sci.* 99 (2): 1010-1018.
- GOMEZ, G.; CELII, A.** 2008, The peripheral olfactory system of the domestic chicken: Physiology and development. *Brain. Res. Bull.* 76(3): 208-216.
- HERRERA, J., SALDAÑA, B., GUZMÁN, P., IBÁÑEZ, M. A., MANDALAWI, H., CÁMARA, L., & MATEOS, G. G.** 2018. Particle size affects short-term preference behavior of brown-egg laying hens fed diets based on corn or barley. *Poult. Sci.* (97): 1324–1333.
- IQBAL, A.; NAVARRO, M.; ROURA, E.** 2017. Effectiveness of a double choice test to assess dietary taste preferences in broiler chickens. **In:** 28th Annual Australian Poultry Science Symposium. Sydney, Australia. February 13th- 15th, 2017. The Poultry Research Foundation- The World's Poultry Science Association. pp 243.
- JACOBS, H.; SCOTT, M.** 1975. Factors mediating food and liquid intake in chickens. implication on poultry nutrition. *Poult. Sci.* (36) 8- 15
- LI, G.; ZHAO, Y.; PURSEWELL, J.; MAGEE, C.** 2021. Effects of feeder space on broiler feeding behaviors. *Poult. Sci.* (100):1-10
- LIU, H.; RAJAPAKSHA, P.; WANG, Z.; KRAMER, N.; BRETT, J.** 2018. An Update on the Sense of Taste in Chickens: A Better Developed System than Previously Appreciated. *J. Nutr. Food. Sci.* (8)1-12.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL.** 1994. Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition, 1994. Washington, DC: The National Academies Press.
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACION Y AGRICULTURA.** 2020. Producción y Productos avícolas. [en línea] < <http://www.fao.org/poultry-production-products/production/es/>> [consulta: 22-06-2021]

ROURA, E.; BALWIN, M.; KLASING, K.; 2013. The avian taste system: Potential implications in poultry nutrition. *Anim. Feed. Sci. Technol.* (180):1-9.

TE PAS, M.; BORG, R.; BUDDIGER, N.; WOOD, B.; REBEL, J.; VAN KRIMPEN, M.; CALUS, M.; PARK, J.; SCHOKKER, D. 2020. Regulating appetite in broilers for improving body and muscle development- a Review. *J. Anim. Physio. Anim. Nutr.* (104) 1819- 1934.

TORDOFF, E. 2001. Calcium: Taste, Intake, and Appetite. *Physiol. Rev.* 81(4) 1567-1697.

SHYNKARUK, T.; CLASSEN, H.; CROWE, T.; SCHWEAN-LARDNER, K. 2019. The impact of dark exposure on broiler feeding behaviour and weight of gastrointestinal tract segment contents. *Poult. Sci.* (98) 2448-2458.

SYAFWAN S.; WERMINK G.; KWAKKEL, R.; VERSTEGEN, M. 2012. Dietary self-selection by broilers at normal and high temperature changes feed intake behavior, nutrient intake, and performance. *Poult. Sci.* 91(3):537-549.

YOSHIDA, YUTA; KAWABATA, Y; KAWABATA, F; NISHIMURA, K.; TABATA, S. 2015. Expressions of multiple umami taste receptors in oral and gastrointestinal tissues, and umami taste synergism in chickens. *Mol. Cell. Biol. Res. Commun.* (114):88-95.

12.

13. ANEXO: Dietas broiler estándar iniciales y finales

Dieta broiler inicial:

Ingrediente	Porcentaje de inclusión
Maíz grano	55,4%
Afrecho de soya 47	27%
Afrechillo de trigo	5%
Afrecho Raps	4%
Gluten meal 60	3%
Aceite de oleína	1,65%
Conchuela gruesa	1,40%
Fosfato dicálcico	1,18%
Coccidiostato	0,5%
Micofix plus ₁	0,5%
Sal común	0,44%
Lisina	0,22%
Metionina	0,21%
Mix vitamínico – mineral – fitasa ₂	0,20%
Formicit dry ₃	0,10%

Dieta broiler final:

Ingrediente	Porcentaje de inclusión
Maíz grano	63%
Afrecho de soya 47	19,2%
Afrecho Raps	7%
Afrechillo de trigo	5%
Aceite de oleína	2%
Conchuela gruesa	1,60%
Fosfato dicálcico	0,71%
Coccidiostato	0,5%
Micofix plus ₁	0,5%
Sal común	0,40%
Metionina	0,31%
Mix vitamínico – mineral – fitasa ₂	0,20%
Lisina	0,16%
Formicit dry ₃	0,10%

¹Micofix plus: Aditivos, Solución Integral para Micotoxinas (Virbac).

²(Nucleo Plin 307) Contiene por kilo de premezcla: 4.000.000 UI de Vit. A; 1.250.000 UI de Vit. D3; 7.500 UI de Vit. E; 750 mg de K3; 750 mg de Vit. B1; 2,5 g de Vit. B2; 17,5 g de Niacina; 6,6 g de Pantotenato de Calcio; 1250 mg de Vit. B6; 6 mg de Vit. B12; 500 mg de Ac. Fólico; 50 mg de Biotina; 199,8 g de Colina; 12,5 g Hierro; 35 g de Manganeso; 30 g de Zinc; 3 g de Cobre; 75 mg de Selenio; 50 g de Antox; 250 mg de Yodo; 50 g de Hostazym X; 25 g de Optiphos G.

³Formicit Dry: Aditivo Nutricional, Preservante anti-salmonella sp, para conservación de alimentos (Veterquímica SA).