



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

**EVALUACIÓN DE LOS UMBRALES DE PREFERENCIA Y
CONSUMO POR MOTIVACIÓN SENSORIAL DE CUATRO
AMINOÁCIDOS ESENCIALES EN POLLOS BROILER**

Arantxa Trinidad Vega Acevedo

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

FONDECYT N° 11190569

SANTIAGO, CHILE

2022



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

**EVALUACIÓN DE LOS UMBRALES DE PREFERENCIA Y
CONSUMO POR MOTIVACIÓN SENSORIAL DE CUATRO
AMINOÁCIDOS ESENCIALES EN POLLOS BROILER**

Arantxa Trinidad Vega Acevedo

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:	María Sol Morales S.

SANTIAGO, CHILE
2022

Agradecimientos y Dedicatoria

Agradecer en primer lugar a todos los profesores que forjaron mi vida estudiantil en la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

Un agradecimiento en especial para mi profesor guía, el Doctor Sergio Guzmán por su ayuda, preocupación y paciencia a lo largo del desarrollo de esta Memoria de Título. A su vez, también agradecer a mis profesores correctores, la Doctora Carolina Valenzuela y el Doctor Carlos Alvear por su excelente disposición en ayudarme y lograr hacer de mi trabajo lo mejor posible y a la Doctora María Sol Morales por su impecable dedicatoria y aportes para lograr sacar adelante y culminar con este arduo trabajo.

A mi madre, Consuelo, por brindarme su apoyo y cariño incondicional durante todos mis años de estudio. A mi padre, Juan, por siempre creer en mí y brindarme palabras de aliento a lo largo de mi carrera. A mis hermanos mayores, por ser mi ejemplo de perseverancia. A mi querida tía Dina por ser un pilar fundamental en mi educación desde muy temprana edad, por sus incontables consejos y sabiduría de vida entregada a mi persona y por siempre estar presente junto a mi familia. A todos ustedes muchas gracias por forjarme como individuo y ser un constante apoyo para lograr llegar a esta instancia.

Sería imposible no agradecer de igual forma a mis perros, a los presentes, Frida y Perri por siempre estar junto a mí y aportarme con la motivación necesaria para lograr culminar con este proceso y a los que se fueron en el camino, Soplador mi viejito compañero por más de 16 años y a Solito, que nos dejó muy pronto, pero que nuestros momentos juntos siempre prevalecerán en mis recuerdos. Y por supuesto, un agradecimiento especial, mención honorífica y dedicatoria de este trabajo a mi conejita, Calambrita, por llegar a mi vida en un momento bastante difícil y ayudarme a salir adelante, por sacarme sonrisas a diario y darme su amor incondicional.

Muchas gracias por acompañarme en este proceso de lograr cumplir uno de mis sueños de vida, ser Médica Veterinaria.

ÍNDICE DE CAPÍTULOS

1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	2
2.1 Percepción gustativa en pollos Broiler	2
2.2 Estudios de Preferencia.....	4
3. HIPÓTESIS	6
4. OBJETIVO GENERAL.....	6
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
5. MATERIALES Y MÉTODOS	7
5.1 Diseño Experimental.....	8
5.2 Ensayo.....	10
5.3 Peso Metabólico Promedio	10
5.3.1 Ponderación de Consumo por Peso Metabólico	11
5.4 Umbrales de Preferencia.....	11
5.5 Consumo por Motivación Sensorial	11
5.6 Análisis Estadístico.....	12
6. RESULTADOS	13
6.1 Resultados de Umbrales de Preferencia.....	13
6.1.1 Correlación entre Preferencia por Aminoácido y Concentración.....	14
6.2 Resultados de Consumo por Motivación Sensorial	15
7. DISCUSIÓN	17
8. CONCLUSIÓN.....	23
9. BIBLIOGRAFÍA	24
10. ANEXOS	26

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Distribución de corrales.	8
Figura 2. Distribución del ensayo.	9
Figura 3. Gráfico de barras de las preferencias de los pollos Broiler: (a) Soluciones de lisina; (b) Soluciones de metionina.	12
Figura 4. Gráfico de barras de las preferencias de los pollos Broiler: (a) Soluciones de treonina; (b) Soluciones de triptófano.	14
Tabla 1. Correlación entre los umbrales de preferencia y concentración.	14
Figura 5. Gráfico de barras del consumo por motivación sensorial de los pollos Broiler: (a) Soluciones de lisina; (b) Soluciones de metionina.	15
Figura 6. Gráfico de barras del consumo por motivación sensorial de los pollos Broiler: (a) Soluciones de treonina; (b) Soluciones de triptófano.	16

RESUMEN

El sabor umami es detectado por los pollos Broiler mediante sus papilas gustativas, que son las encargadas de detectar moléculas sensoriales como péptidos y aminoácidos, los que pueden generar un efecto positivo o negativo en su comportamiento alimentario. Es por esto que conocer la sensibilidad en los pollos ante compuestos de sabor umami es importante para producir alimentos en la industria avícola. En la presente Memoria de Título se evaluaron los umbrales de cuatro aminoácidos esenciales en pollos Broiler, así mismo, se evaluó la hipótesis de que la agregación de estos aminoácidos como compuesto saborizante tenía la capacidad de disminuir el consumo en las aves una vez percibido y que los umbrales de preferencia por los aminoácidos evaluados eran más bajos que los umbrales descritos previamente para otros compuestos de sabor umami conocidos. Para ello se utilizaron 64 pollos Ross 308 machos. Se asignaron al azar a la mitad de ellos para comenzar con el estudio en bajas concentraciones de los aminoácidos que iban de 0,1% a 1,5%, posteriormente dicha concentración aumentó para las otras aves en concentraciones de 2,0% a 3,5% hasta la finalización del ensayo a los 38 días. Los pollos presentaron su umbral de preferencia en las soluciones que contenían lisina y metionina en la concentración de 2,0% ($p = 0,0479$ y $0,0482$ respectivamente), por otro lado, se encontró una tendencia a la preferencia para la treonina en la concentración 3,5% ($p = 0,0581$) y para el triptófano solo se observó tendencia a la aversión en la concentración de 1,5% y 2,5% ($p = 0,0797$ y $0,0958$ respectivamente). Luego, se analizó el consumo motivado no encontrándose relacionado con la concentración de los umbrales de preferencia y, por lo tanto, la inclusión de aminoácidos en la cantidad preferida no se relacionó con un consumo elevado ni disminuido, sin embargo, la agregación de treonina a la concentración de 1,5% tenía tendencia a la aversión ($p = 0,0631$) y a su vez se relacionaba con una tendencia a un consumo disminuido ($p = 0,068$), sin embargo, estos no fueron resultados significativos que nos permitiesen sacar conclusiones precisas de ellos. Entonces, la inclusión de estos aminoácidos como compuesto saborizante podría llegar a modificar el comportamiento de consumo de los pollos de manera negativa, lo que reduce la aplicabilidad de esta suplementación en sistemas de producción avícola.

Palabras clave: Broiler, umbrales de preferencia, umami, aminoácido esencial, consumo por motivación sensorial, percepción del sabor.

ABSTRACT

Umami taste is detected by Broilers through their taste buds which are responsible for detecting sensory molecules such as peptides and amino acids, which can generate a positive or negative effect on their eating behavior. Knowledge in the chicken's sensitivity to umami compounds is important in the production of feedstuff in the poultry industry. In this study we evaluated the thresholds for four essential amino acids in Broilers, likewise, we tested the hypothesis that the aggregation of these amino acids as a flavoring compound had the ability to decrease consumption in the chickens once being perceived and that the preference thresholds for the evaluated amino acids were lower than previous reported thresholds for other umami compounds. Sixty-four Ross 308 male chickens were used. Half of them were randomly selected to start the study at low concentration of amino acids ranging from 0.1% to 1.5%, later, this concentration was increased for the other chickens in the study and ranged between 2.0% and 3.5% until the end of the test at 38 days old. The animals presented their preference threshold in the solutions containing lysine and methionine in the 2.0% concentration ($p = 0.0479$ & 0.0482 respectively), on the other hand, a tendency to preference was described for threonine at the 3.5% concentration ($p = 0.0581$) and in the case of tryptophan there was only described a tendency to aversion at the 1.5% and 2.5% concentration ($p = 0.0797$ & 0.0958 respectively). Then, we analyzed the sensory-motivated intake, and it was found not to be related to the thresholds previously described, therefore, the inclusion of amino acids in the preferred amount was not related to a higher or lower sensory-motivated intake, however, the inclusion of threonine at 1.5% concentration showed a tendency to aversion ($p = 0.0631$) as well as a lower or decreased sensory-motivated intake ($p = 0.068$), however, these were not significant results that would allow us to draw precise conclusions from them. Therefore, the inclusion of these essential amino acids as a flavoring compound could negatively modify the consumption behavior of chickens, which speaks against the practicality of this supplementation in the poultry production systems.

Key words: Broiler, preference thresholds, umami, essential amino acid, sensory-motivated intake, taste perception.

1. INTRODUCCIÓN

La elección y el consumo de alimentos en los animales depende en gran medida de la percepción del gusto. Las papilas gustativas son los órganos sensoriales periféricos del gusto y son esenciales para guiar a los animales a seleccionar y priorizar los alimentos y nutrientes a consumir. El consumo por motivación sensorial es generado gracias a los receptores orofaríngeos que captan las moléculas sensoriales de los alimentos, generando un efecto positivo o negativo sobre el comportamiento y el consumo de alimento por parte de los animales. Estudios previos indican que las especies aviares como los pollos Broiler tienen un sentido del gusto bien desarrollado, pudiendo distinguir al menos cinco sabores. Dentro de ellos encontramos al sabor umami, el cual está particularmente relacionado con la fracción proteica de la dieta, la detección de algunos L-aminoácidos, péptidos y otros productos relacionados con la degradación de proteínas (Roura *et al.*, 2013). Dicho sabor tiene la capacidad de influir en la ingesta y la palatabilidad de los alimentos ofrecidos. Esto brinda a los productores la posibilidad de mejorar la eficiencia de la industria avícola mediante la agregación de diferentes componentes a la dieta de los animales que sean capaces de aumentar la motivación por el consumo, y de esta forma, mejorar los parámetros productivos.

Como los animales no-humanos no son capaces de manifestar sus preferencias al consumir diferentes ingredientes de forma clara para las personas, se requiere realizar estudios de comportamiento alimentario para estudiar su percepción del gusto y palatabilidad (Dong, 2020). Los estudios de preferencia, donde se les presenta dos opciones de alimento a los animales seguido de una medición de la ingesta de cada alimento, son el método comúnmente utilizado para lograrlo. A pesar de que el sabor umami se ha considerado como un sabor atractivo de consumir, varias investigaciones indican que los pollos Broiler presentan una débil preferencia por soluciones de sabor umami, generando incluso aversiones por el sabor. En estudios de preferencia previos del sabor umami llevados a cabo en estas aves lo más utilizado son los saborizantes umami y su potenciador de sabor. Sin embargo, en la actualidad no existen estudios que apunten al efecto en específico de la incorporación de aminoácidos esenciales sobre las preferencias en estos animales, es por ello que la presente Memoria de Título tiene como objetivo evaluar los umbrales de preferencia y consumo por motivación sensorial de cuatro aminoácidos esenciales en pollos Broiler.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Percepción gustativa en pollos Broiler

En pollos Broiler, el sentido del gusto juega un papel importante en la detección de nutrientes y la elección del alimento (Yoshida, 2018). El gusto ha evolucionado en gran medida como un mecanismo para identificar compuestos nutritivos y es importante para detectar carbohidratos, aminoácidos (AAs), lípidos, sales y compuestos potencialmente tóxicos que sean nutricionalmente relevantes. Las diferencias de las especies en la percepción gustativa están íntimamente relacionadas con el nicho ecológico y la disponibilidad de alimentos. Dentro de esto, el sabor umami está particularmente relacionado con la proteína de la dieta y detección de algunos L-AAAs. Los pollos pueden adaptar rápidamente su comportamiento alimentario basándose en las señales gustativas y la proporción del número de papilas gustativas, ya que el volumen de su cavidad oral es proporcionalmente mayor que en la mayoría de los mamíferos (Roura *et al.*, 2013).

Según estudios con marcaje inmunohistoquímico contra marcadores moleculares en papilas gustativas realizados por Rajapaksha *et al.* (2016), los pollos Broiler en particular cuentan con aproximadamente 767 papilas gustativas distribuidas en el paladar y a lo largo de la cavidad oral. Dichas papilas gustativas permiten a los pollos Broiler responder a los sabores amargos, umami, ácidos, salados y a estímulos dulces altamente concentrados (Yoshida *et al.*, 2021a; Yoshida *et al.*, 2018; Cheled-Shoval *et al.*, 2017).

En particular, la percepción de compuestos de sabor umami está mediada por un receptor heterodimérico llamado T1R1/T1R3, el cual pertenece a la clase-C de los receptores acoplados a proteína-G (Dong, 2020; Yoshida *et al.*, 2015). Además, también se reconoce a los receptores metabotrópicos de glutamato tipo 1 y tipo 4, expresados en cerebro y cavidad oral (*brain-mGluR1*, *brain-mGluR4*, *taste-mGluR1* y *taste-mGluR4*, respectivamente; Yoshida *et al.*, 2015). Estos receptores de compuestos de sabor umami permiten reconocer productos relacionados con la degradación de proteínas, tales como AAs, péptidos y otras sustancias químicas (Dong, 2020). Daly *et al.* (2013) señalan que en mamíferos los receptores T1R1/T1R3 también son expresados en el intestino, y participan estimulando la secreción de colecistoquinina, donde su activación desencadena el reflejo peristáltico y de propulsión del

alimento. Considerando lo anterior, Yoshida *et al.* (2015) indicaron que los receptores del sabor umami expresados en el intestino de pollos también podían desempeñar un rol en la regulación de la secreción de hormonas intestinales, manteniendo la motilidad y regulando la defensa de la mucosa duodenal frente a estímulos ácidos. Dichos hallazgos aclaran que los receptores de compuestos de sabor umami pueden tener funciones de aplicación para regular la ingesta de alimentos y la salud intestinal mediante AAs luminales (Dong, 2020). Esto brinda la oportunidad a los productores de mejorar la eficiencia de la industria avícola (Dong, 2020; Yoshida *et al.*, 2015).

Yoshida *et al.* (2015) demostraron que la suplementación del alimento comercial con glutamato monosódico (MSG) y su potenciador de sabor inosina 5'-monofosfato disódico (IMP) provocaba un efecto sinérgico positivo a la ingesta de alimento en pollos, es decir, las aves prefirieron consumir alimento con la adición de MSG + IMP en lugar de alimentarse con MSG o IMP por sí solo. Por el contrario, Cheled-Shoval *et al.* (2017), realizaron un ensayo con MSG + IMP en soluciones de agua de bebida mediante estudios de preferencia en 6 horas sin obtener resultados significativos, y en 24 horas, donde estos animales prefirieron consumir agua por sobre el MSG, no siendo resultados concordantes con múltiples estudios hasta la fecha que asocian al sabor umami como un sabor atractivo de consumir.

Para el año 2018, Yoshida *et al.* confirmaron que los pollos eran capaces de responder de manera dosis-dependiente a la percepción de MSG + IMP, mediante un ensayo de 5 minutos con los compuestos disueltos en agua, sugiriendo que estas aves eran capaces de percibir dicho sabor en la cavidad oral independiente de los efectos post-ingestivos, además de indicar que dichos animales demostraban poca o ninguna preferencia por la solución de sabor umami con MSG + IMP en distintas concentraciones. A continuación, Yoshida *et al.* (2021b) observaron que los receptores T1R1 y T1R3 rara vez eran co-expresados juntos en las mismas células de papila gustativa de los pollos, diferente a lo que pasa en mamíferos, lo que podría estar relacionado con su débil preferencia conductual o aversión por soluciones de sabor umami, y a su vez describieron que aquellas papilas gustativas que expresaban los receptores T1R1, T1R3 y mGluRs estaban involucradas en la detección del sabor umami, mediante un ensayo con condicionamiento de aversión al sabor.

2.2 Estudios de Preferencia

Los animales no-humanos no pueden explicar sus preferencias gustativas cuando consumen diferentes ingredientes de los alimentos de forma clara para nuestra comprensión. Por lo tanto, se requieren estudios de comportamiento alimentario para medir las preferencias gustativas de los animales y estudiar su percepción del gusto y palatabilidad (Dong, 2020). En particular, las aves demuestran comportamientos característicos hacia estímulos gustativos aversivos, incluyendo movimiento persistente de la lengua y el pico, sacudir la cabeza y limpiarse el pico, sin embargo, no existe un repertorio conductual análogo en respuesta a los estímulos neutrales o preferidos en las aves (Rowland *et al.*, 2015).

Los estudios de preferencia o de doble elección son el método comúnmente utilizado para determinar las preferencias por los ingredientes alimentarios y las sustancias con potencial sávido (Dong, 2020). Los estudios de preferencia son pruebas convencionales donde se presentan dos opciones de dietas o soluciones de forma simultánea a animales de forma individual o agrupados, seguida de una comparación de las ingestas de ambas dietas en un tiempo determinado. Según Forbes (2010), la selección de uno de los alimentos se rige tanto por el grado de hambre que presente el animal como por la anticipación del mayor grado de confort o comodidad que generará comer este alimento por sobre el otro.

Para la identificación de umbrales en las especies aviares, se presenta normalmente al saborizante en soluciones de agua de bebida debido a la simplicidad que ofrece este medio para administrar concentraciones precisas del saborizante, además de la capacidad para medir de manera exacta su consumo (Cheled-Shoval *et al.*, 2017). Al respecto, Cheled-Shoval *et al.* (2017) describieron los umbrales de detección en pollos para MSG y su potenciador de sabor IMP, estableciendo como umbral para MSG por sí solo como ≥ 300 mM, para IMP por sí solo como indetectable entre 0,1–10 mM, y para MSG + IMP como ≥ 300 mM MSG, es decir, el umbral de detección de MSG no se vio influenciado con la adición de IMP, lo que difiere de los resultados obtenidos en estudios previos realizados en mamíferos. Adicionalmente, Yoshida *et al.* (2018) investigaron las respuestas de los pollos a AAs no esenciales L-alanina (L-Ala) y L-serina (L-Ser), ambos agonistas/ligandos del sabor umami, donde el consumo de 2,5% L-Ser + 0,25% IMP y 7,5% L-Ala no fue diferente al consumo de agua en las pruebas a corto plazo, pero se modificó ligeramente a los 5 minutos, y en el

caso de 7,5% L-Ala si hubo una diferencia significativa, donde las ingestas de la solución con sabor tendieron a ser más bajas que las de agua a los 5 minutos.

No obstante, a la fecha aún no existen estudios que evalúen la sensibilidad gustativa o umbrales de preferencia a la detección en particular de AAs esenciales en pollos Broiler. Debido al potencial del sabor umami para influir en la ingesta y posible palatabilidad de los alimentos en estos animales, es necesario realizar una mayor investigación sobre la percepción de diferentes AAs *in vivo* y evaluar su efecto sobre el consumo por motivación sensorial de los pollos. El presente Proyecto de Memoria de Título tiene como objetivo establecer los umbrales de sensibilidad a la incorporación de AAs esenciales mediante un estudio de preferencia, además de determinar el consumo por motivación sensorial de estas aves.

3. HIPÓTESIS

Los umbrales de preferencia por los aminoácidos esenciales lisina, metionina, treonina y triptófano son más bajos que los establecidos previamente para otros compuestos umami, y su incorporación disminuirá el consumo por motivación sensorial en pollos Broiler.

4. OBJETIVO GENERAL

Evaluar los umbrales de preferencia y el consumo por motivación sensorial de cuatro aminoácidos esenciales en pollos Broiler.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar los umbrales de preferencia por los aminoácidos esenciales lisina, metionina, treonina y triptófano en pollos Broiler.
2. Analizar el consumo por motivación sensorial por los aminoácidos esenciales lisina, metionina, treonina y triptófano en pollos Broiler.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la prueba se utilizaron 64 pollos Broiler machos de 1 día de edad (Ross 308), provenientes de una empresa comercial de pollos Broiler ubicada en la comuna de Pirque, Región Metropolitana. Las instalaciones empleadas para este ensayo fueron las correspondientes a la Unidad Experimental de Nutrición y Producción Avícola de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile (Unidad Avícola, Favet), las cuales cuentan con una estructura de galpón avícola tradicional, con 32 corrales de piso de 100 x 100 cm (Figura 1.), ventilación natural, calefacción mediante 8 campanas infrarrojas de gas y control de temperatura vía termostato. Los protocolos experimentales fueron previamente aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad de Chile (17018-VET-UCH).

Para el ensayo se agruparon a los pollos de a dos en cada corral, asignando a las parejas por estandarización de sus pesos ($n = 32$). Se les alimentó durante los primeros 23 días de vida con dieta comercial estándar inicial, formulada para satisfacer las necesidades nutricionales según indican los requerimientos nutricionales del NRC (1994) además de los requerimientos y estándares propios para la línea genética descritos por Aviagen (2019a) (Anexo 1.) el cual fue ofrecido *ad libitum* hasta la realización de las pruebas de preferencia. Desde el día 23 en adelante, los animales pasaron a una dieta de finalización, igualmente formulada para satisfacer las necesidades nutricionales propias de la línea genética (Anexo 2.). Las dietas ofrecidas fueron previamente donadas por la empresa Proa S.A y correspondían a dietas Broiler de la marca Champion[®], las cuales fueron sometidas a un análisis químico proximal (AQP, Anexo 3) para analizar el contenido de sus principales componentes. El agua de bebida igualmente estuvo disponible libremente hasta la realización de las pruebas de preferencia. Semanalmente, se llevó registro del peso vivo y consumo de alimento de los animales. El registro de mortalidades se llevó a cabo todos los días (no hubo mortalidades). Todos los registros fueron realizados en una base de datos de Microsoft Excel[®].

Aviagen (2019), teniendo como referencia a la lisina que corresponde al requerimiento nutricional más alto, específicamente en la etapa inicial (1,44%). Una vez completadas las primeras cuatro concentraciones para cada uno de los AAs esenciales, este era cambiado y se iniciaba nuevamente desde la concentración más baja a la más alta para el siguiente AAs esencial, logrando así someter a los animales a cuatro AAs esenciales en cuatro concentraciones distintas en los 16 días de la prueba inicial.

Para los siguientes 16 días de ensayo, las concentraciones a ofrecerse fueron incrementadas, ya que los resultados preliminares calculados con los datos obtenidos hasta la fecha indicaron que los umbrales de preferencia podrían encontrarse en concentraciones superiores a las evaluadas en un principio. A partir de esto las concentraciones aumentaron a 2,0%; 2,5%; 3,0%; 3,5% (Figura 2.b.).

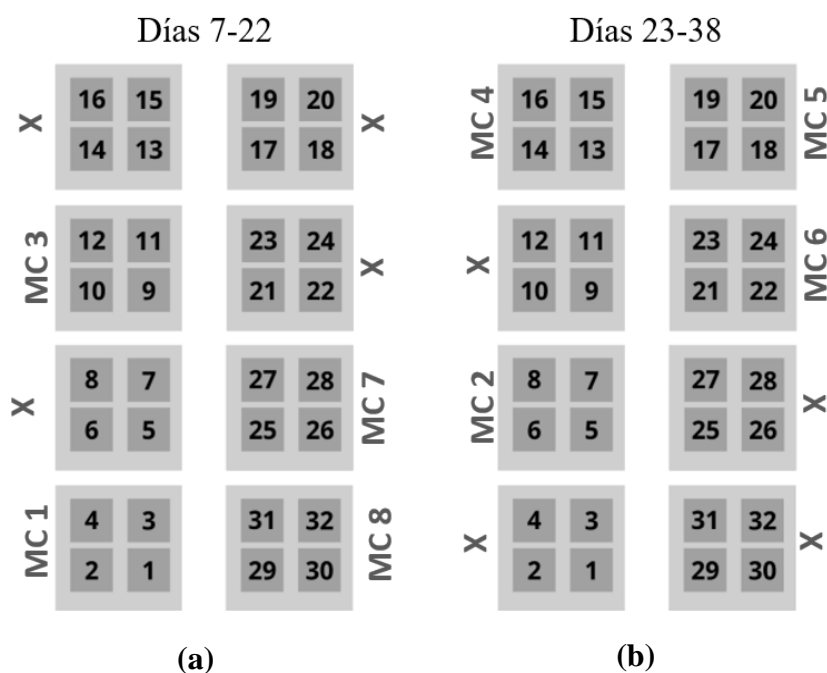


Figura 2. Distribución del ensayo. (a) Primera tanda 16 días de ensayo inicial para los MC 1, 3, 7 y 8. (b) Segunda tanda 16 días de ensayo final para los MC 2, 4, 5, 6. Las X representan aquellos macro corrales donde se evaluaba otro parámetro (Aceptabilidad) no descrito en este ensayo.

5.2 Ensayo

En primera instancia los animales eran sometidos a una hora de ayuno de agua y alimento. Dicho ayuno iniciaba a las 8:00 AM, iniciando la prueba a las 9:00 AM todos los días. Posteriormente, y conforme a lo descrito por Cheled-Shoval *et al.* (2017), para cada corral se ofrecieron dos bebederos idénticos, separados en 20 cm cada uno, donde uno contenía agua de bebida (control) y el otro la solución de agua con el AAs esencial disuelto (tratamiento) en la concentración correspondiente para cada día, cambiándose de posición derecha-izquierda cada bebedero a diario con la finalidad de reducir la preferencia de consumo de agua en cierto lado de la jaula que podrían llegar a presentar algunas aves. Se registraban los pesos de los bebederos con solución antes de poner en marcha la prueba. Los animales tenían a su disposición ambos bebederos durante cuatro horas, finalizando por lo tanto la prueba diariamente a las 13:00 PM. Al finalizar los bebederos eran nuevamente pesados para registrar el rechazo de las soluciones. Posteriormente, se calculaba el consumo (Oferta – Rechazo = Consumo) de cada una de las soluciones ofrecidas.

5.3 Peso Metabólico Promedio

Con los registros semanales del peso de cada ave se calculaba posteriormente la ganancia de peso diaria aproximada entre cada medición del peso vivo. Con ello se obtenían los pesos metabólicos diarios aproximados de cada animal, lo que permitía concluir el peso metabólico promedio de cada corral o pareja de pollos (Anexo 4; Anexo 5.) para posteriormente utilizar esta medición en la ponderación de consumo por peso metabólico. Para el cálculo del Peso Metabólico Promedio ($P Mb \bar{X}$) se utilizó la siguiente formula:

$$\frac{((\text{Peso } \bar{X} \text{ (grs)})^{-0,75})}{1000}$$

Donde: $\text{Peso } \bar{X}$ = Peso Promedio Diario.

5.3.1 Ponderación de Consumo por Peso Metabólico

Una vez calculado el consumo diario de cada solución ofrecida, este resultado era ponderado por el peso metabólico promedio correspondiente a cada día. Esto con el fin de hacer más equiparables las eventuales diferencias en los consumos que pudiesen generarse debido únicamente al tamaño o peso de los animales (capacidad de consumo), y no que estuviesen asociadas necesariamente a las propiedades sensoriales de los compuestos ofrecidos, en este caso, los AAs esenciales. Para dicha ponderación se utilizaba la siguiente fórmula:

$$\frac{(\text{Consumo } \bar{X} \text{ (grs)})}{P \text{ Mb } \bar{X}}$$

5.4 Umbrales de Preferencia

La preferencia se calculó como el porcentaje de solución de aminoácido esencial consumido sobre el total del líquido consumido en el ensayo mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Consumo de solución de AAs esencial}}{\text{Consumo de solución de AAs esencial} + \text{Consumo de agua}} \times 10$$

La preferencia por cada AAs esencial era posteriormente comparada con el valor neutral de preferencia de 50% (sin preferencia). Finalmente se determinó como umbral de preferencia o sensibilidad a la solución de AAs esencial de menor concentración en alcanzar una preferencia significativamente mayor que 50%.

5.5 Consumo por Motivación Sensorial

El consumo por motivación sensorial es una medida complementaria al porcentaje de preferencia y puede añadir información fundamental acerca del potencial para mejorar el apetito por compuestos gustativamente activos como los AAs esenciales, ya que los umbrales de preferencia o sensibilidad no necesariamente se relacionan con una alta ingesta, y en dicho

caso, el análisis del consumo por motivación sensorial es útil para discernir sobre cual compuesto tiene mayor capacidad para brindar un aumento efectivo en la eficiencia alimentaria de la industria avícola.

El consumo por motivación sensorial de un compuesto se definió como la cantidad de solución de prueba consumida por sobre el agua, y se calculó como una sustracción directa del consumo del bebedero de tratamiento (solución de AAs esencial) menos el consumo del bebedero control (agua). Aquellas concentraciones que alcanzaron un valor de consumo por motivación sensorial significativamente mayor que 0 (valor neutro, sin consumo) fueron utilizadas para definir el consumo por motivación sensorial para cada compuesto o AAs esencial.

5.6 Análisis Estadístico

Los datos obtenidos en las pruebas de umbrales de preferencia y de consumo por motivación sensorial fueron analizados a través de Test *t* de Student mediante el procedimiento MEANS de SAS (versión 9.0, SAS Institute; Cary, EE. UU.). Los valores fueron comparados con el valor neutro de preferencia (neutro = 50%) y el control negativo (0 = no consumo) para los umbrales de preferencia y consumo por motivación sensorial, respectivamente. Seguido de un análisis de correlación para umbrales de preferencia y concentración. Para todos los análisis se consideró un nivel de significación α de 0,05, y valores entre $0,05 < p < 0,1$ fueron considerados como tendencia a la significación.

6. RESULTADOS

6.1 Resultados de Umbrales de Preferencia

Se entiende como umbral de preferencia a la concentración mínima de AAs en alcanzar una preferencia significativamente mayor al 50%. En este caso, el umbral de preferencia para el aminoácido esencial lisina fue determinado en la concentración 2,0% en los pollos (61,51% de preferencia, $p = 0,0479$; Figura 3.a). El umbral de preferencia para el aminoácido esencial metionina fue igualmente determinado en la concentración 2,0% (62.49% de preferencia, $p = 0,0482$; Figura 3.b).

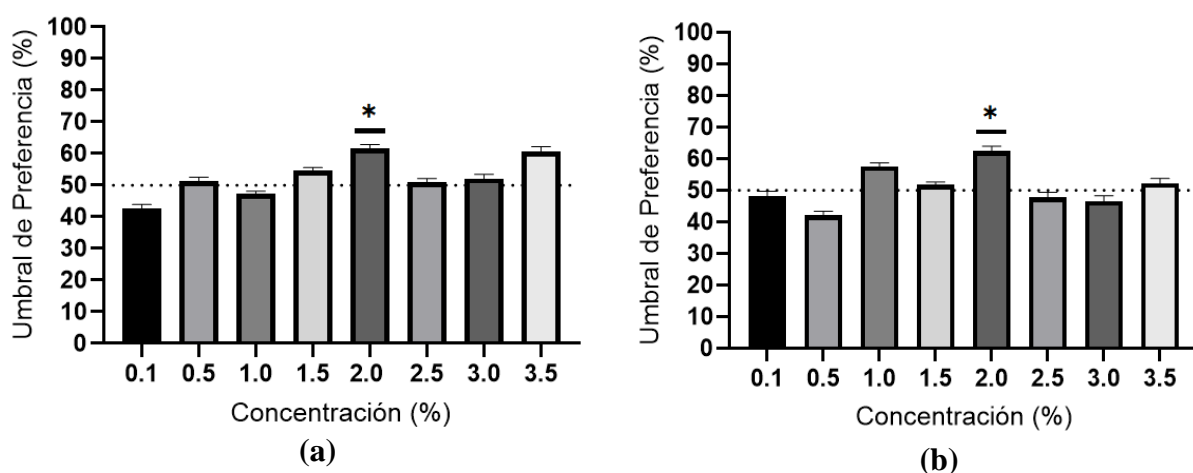


Figura 3. Gráfico de barras de las preferencias de los pollos Broiler: (a) Soluciones de lisina; (b) Soluciones de metionina. La línea punteada representa el valor neutral, sin preferencia de 50%. Los asteriscos (*) destacan los valores de preferencia significativos ($p < 0,05$) mayores a 50%.

Por otro lado, no se obtuvo un resultado con significancia estadística para el aminoácido esencial treonina en las concentraciones evaluadas en este ensayo, sin embargo, hubo una tendencia a la significación (valor entre $0,05 < p < 0,1$) en la concentración 1,5% (44,03% de aversión, $p = 0,0631$; Figura 4.a) y 3,5% (59,21% de preferencia, $p = 0,0581$; Figura 4.a). En el caso del aminoácido esencial triptófano tampoco se encontró significancia en las concentraciones evaluadas, pero hubo una tendencia a la significación (valor entre $0,05 < p < 0,1$) para la concentración 1,5% (43,76% de aversión, $p = 0,0797$; Figura 4.b) y 3,5% (37,72% de aversión, $p = 0,0958$; Figura 4.b).

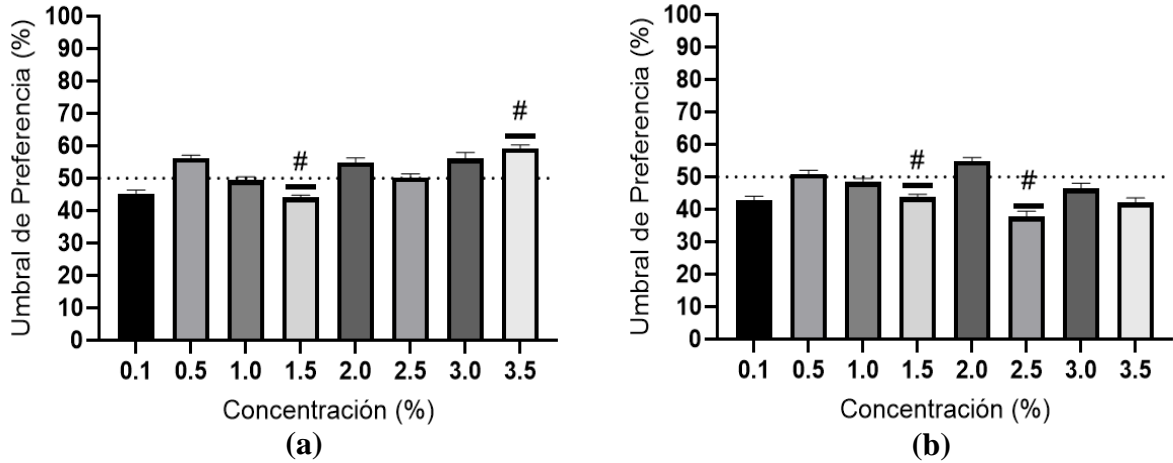


Figura 4. Gráfico de barras de las preferencias de los pollos Broiler: (a) Soluciones de treonina; (b) Soluciones de triptófano. La línea punteada representa el valor neutral, sin preferencia de 50%. Los asteriscos (*) destacan los valores de preferencia significativos ($p < 0,05$) mayores a 50%. Los hashtags (#) destacan los valores con tendencia a la significación ($0,05 < p < 0,1$).

6.1.1 Correlación entre Preferencia por Aminoácido y Concentración

A continuación, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson (Valor de r ; Tabla 1) para ver si existía asociación entre el valor de preferencia del aminoácido y la concentración en la cual era ofrecido. Sin embargo, al calcular la significancia (p -valor) de dicho valor se determinó que los resultados obtenidos no eran estadísticamente significativos ($p > 0,05$), por lo tanto, no fue posible indicar que existía correlación, y, por lo tanto, no había una asociación entre ambas variables evaluadas.

	Concentración	
Preferencia	Valor de r	p -Valor
Lisina	0,6705	0,0688
Metionina	0,1386	0,7434
Treonina	0,5833	0,1290
Triptófano	-0,2692	0,5192

Tabla 1. Correlación entre los umbrales de preferencia y concentración.

6.2 Resultados de Consumo por Motivación Sensorial

El consumo motivado para el aminoácido esencial lisina se detectó a 3,5% de concentración ($p = 0,0134$; Figura 5.a), con una tendencia a la significación en la concentración 1,5% ($p = 0,0989$; Figura 5.a). El consumo motivado por el aminoácido esencial metionina no fue detectado en las concentraciones evaluadas (Figura 5.b). Solo se detectó una tendencia a la significación para el aminoácido esencial treonina en las concentraciones 1,5% y 3,5% ($p = 0,0680$ y $0,0641$ respectivamente; Figura 6.a). Del mismo modo solo se detectó una tendencia a la significación para el aminoácido esencial triptófano en la concentración 2,5% ($p = 0,0522$; Figura 6.b).

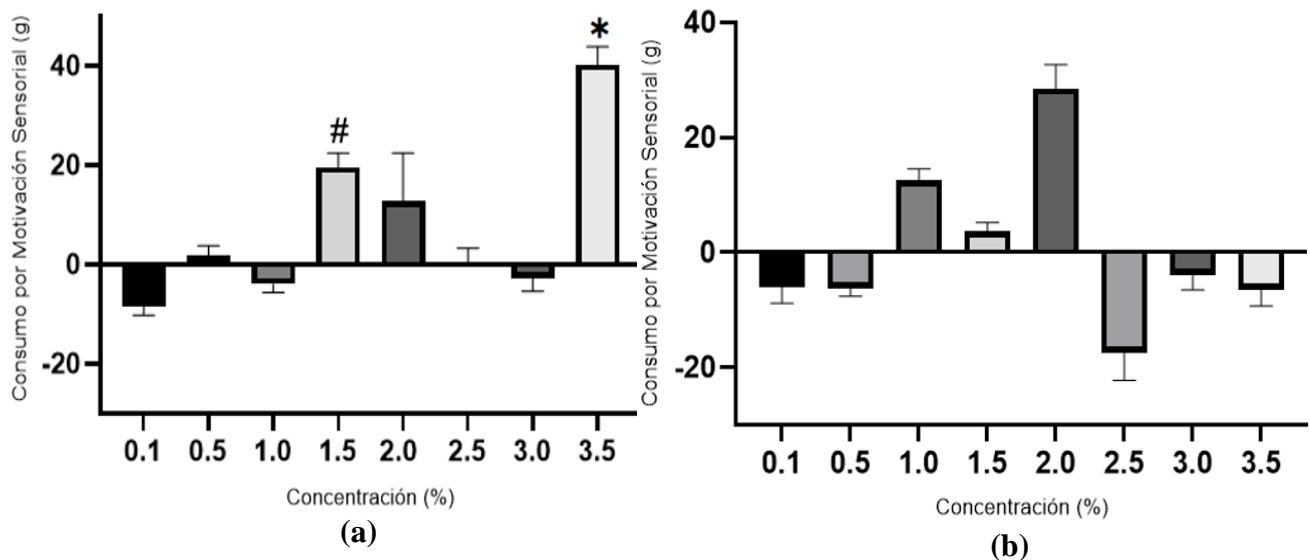


Figura 5. Gráfico de barras del consumo por motivación sensorial de los pollos Broiler: **(a)** Soluciones de lisina; **(b)** Soluciones de metionina. Los asteriscos (*) destacan los valores significativamente ($p < 0,05$) mayores que el control negativo (no consumo). Los hashtags (#) destacan los valores con tendencia a la significación ($0,05 < p < 0,1$).

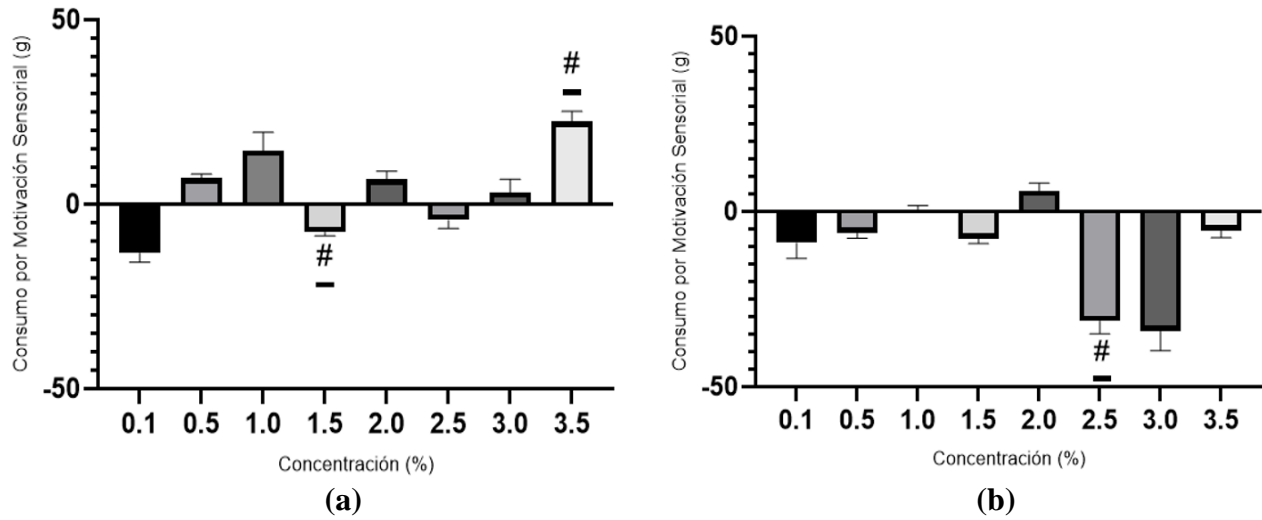


Figura 6. Gráfico de barras del consumo por motivación sensorial de los pollos Broiler: **(a)** Soluciones de treonina; **(b)** Soluciones de triptófano. Los asteriscos (*) destacan los valores significativamente ($p < 0,05$) mayores que el control negativo (no consumo). Los *hashtags* (#) destacan los valores con tendencia a la significación ($0,05 < p < 0,1$).

7. DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluaron los umbrales de preferencia para cuatro aminoácidos esenciales en pollos Broiler utilizando una prueba de doble elección en soluciones, asimismo se realizó un análisis del consumo por motivación sensorial. En ello, se evidenciaron tanto preferencias como aversiones a los distintos aminoácidos empleados como compuestos sápidos además de un incremento o disminución del consumo por motivación sensorial que varió según la concentración de aminoácidos evaluada.

Varios estudios previos han descrito los umbrales de preferencia para otros compuestos de sabor umami como MSG, IMP y algunos aminoácidos no esenciales. Dichos estudios han indicado principalmente una aversión a estos sabores sápidos (Yoshida *et al.*, 2018; Cheled-Shoval *et al.*, 2017), contrario a lo visto en mamíferos, donde el sabor umami mejora la palatabilidad de los alimentos. Es conocido que los pollos cuentan con la capacidad de percibir el sabor umami a nivel de cavidad oral (Yoshida *et al.*, 2018). Sobre esto, Rajapaksha *et al.* (2016) indicaron que los pollos en general cuentan con unas 767 papilas gustativas distribuidas en su mayoría el epitelio del paladar y en la base de la cavidad oral anterior a la glándula mandibular con escasa cantidad en la punta de la lengua y que varían en cantidad dependiendo de la raza, edad y sexo de las aves. Con base en lo anteriormente descrito, se definió como hipótesis de estudio el que los umbrales de preferencia por los aminoácidos esenciales evaluados serían más bajos que los establecidos previamente para otros compuestos de sabor umami y que, asimismo, su incorporación disminuiría el consumo por motivación sensorial en los pollos Broiler.

Como primer objetivo específico para este trabajo se definieron los umbrales de preferencia para los aminoácidos esenciales lisina y metionina en la concentración estadísticamente significativa de 2,0%, por otra parte, para los otros dos aminoácidos esenciales evaluados en el presente trabajo, treonina y triptófano, solo se hallaron tendencia a la significancia estadística, para preferencia en el caso de la treonina en la concentración 3,5%, y una tendencia a la aversión para la concentración 1,5%, en el caso del triptófano se describió la tendencia a la aversión en la concentración 2,5%. Por lo tanto, considerando al umbral de preferencia como el porcentaje mínimo de agregación en alcanzar un resultado

estadísticamente significativo diferente del 50%, solo se logró definir los umbrales de preferencia para la lisina y metionina.

Respecto a otros compuestos de sabor umami evaluados previamente en pollos, Cheled-Shoval *et al.* (2017) indicaron que el umbral de preferencia del MSG se encontraba en 300 mM de concentración, y que la incorporación de IMP no disminuía dicho umbral, contrario a lo que indicaba Yoshida *et al.* (2015) donde se definió que existía un efecto sinérgico, positivo a la ingesta de alimento al añadir ambos compuestos juntos. Estas diferencias pudiesen haberse visto reflejadas debido a que en ambos estudios se utilizaron diferentes mecanismos de entrega del compuesto sensorialmente activo, donde Yoshida *et al.* (2015) lo entregaban mediante la dieta seca, y Cheled-Shoval *et al.* (2017) optaron por entregarlo mediante soluciones. A pesar de que ambos mecanismos son igualmente válidos para la realización de los estudios, en el caso particular del presente ensayo los compuestos sensoriales fueron entregados en soluciones de agua, esto porque el agua representa un medio insípido, que facilitaba la administración de concentraciones precisas del compuesto saborizante y permitía medir su consumo de manera exacta, sin la influencia de sabor propios de los ingredientes de la dieta. Misma forma de entrega de los compuestos saborizantes fue realizada por Cheled-Shoval *et al.* (2017) y Yoshida *et al.* (2018), ambos resultando en una aversión hacia los saborizantes sápidos utilizados en cada trabajo. En el ensayo de Yoshida *et al.* (2018) evaluaron otro compuesto de sabor umami, en este caso los ligandos del receptor del sabor, L-alanina y L-serina, identificándose el umbral de preferencia de L-alanina en 7,5%. Por lo tanto, los umbrales de preferencia definidos en el presente trabajo resultaron ser más bajos que los descritos previamente para otros compuestos de sabor umami; MSG y L-alanina

Como segundo objetivo específico planteado en la presente memoria de Título, se optó por analizar el consumo por motivación sensorial de los animales a la incorporación de estos aminoácidos esenciales como compuestos sensorialmente activos. Obteniéndose de ello que los consumos significativamente altos no se relacionaban con los umbrales de preferencia previamente descritos. Para la lisina el consumo fue significativamente mayor en la concentración 3,5%, para la metionina no se encontró significancia entre los consumos para las concentraciones evaluadas en el ensayo, por otro lado, en el caso de la treonina solo se

evidenció tendencia a la significancia en las concentraciones 1,5% para un menor consumo del compuesto, lo que se condice con la tendencia a la aversión descrita previamente para dicha concentración, también hubo una tendencia en la concentración 3,5% de treonina para un mayor consumo, sin embargo, al ser solo tendencias no es posible indicar conclusiones de estos resultados, del mismo modo el triptófano tampoco obtuvo consumos significativamente elevados, obteniéndose solo una tendencia hacia un menor consumo del aminoácido en la concentración 2,5%. Considerando los valores de umbral de preferencia obtenidos previamente podemos indicar que no necesariamente este valor se ve traducido en un mayor consumo, es decir, el mismo compuesto a la misma concentración no promueve un consumo significativamente mayor que el neutro o sin consumo. Por lo tanto, el cálculo del consumo por motivación sensorial resultó ser importante pues complementa el resultado obtenido para los umbrales de preferencia y al analizarlo podemos indicar que efectivamente no se observó un consumo sensorialmente distinto para lisina y metionina en la concentración 2,0%, cálculo que no ha sido realizado previamente en otros estudios de umbrales de preferencia para compuestos de sabor umami en pollos Broiler.

Para continuar, es importante destacar la duración del estudio, la cual puede determinar cambios importantes en las cantidades consumidas. En el presente trabajo las soluciones estuvieron a disposición de los animales durante 4 horas. En el caso del ensayo realizado por Yoshida *et al.* (2018) su trabajo se realizó a corto plazo, en 5 minutos. Contrario al caso de Cheled-Shoval *et al.* (2017) donde la duración del estudio de umbrales de preferencia se llevó a cabo en 6 y 24 horas. De esto es relevante indicar la activación de procesos post-ingesta, que son capaces de intervenir en el consumo de los animales, en particular debido a la presencia de receptores de compuestos de sabor umami T1R1/T1R3 presentes a lo largo del sistema gastrointestinal de las aves que al detectar aminoácidos y otras señales químicas regulan la secreción de hormonas intestinales, mantienen la motilidad intestinal y sirven como mediador de la defensa de la mucosa (Dong, 2020), al igual que lo descrito previamente en mamíferos por Daly *et al.* (2013). Por otro lado, Forbes (2010) indicó que en pruebas cortas el animal puede solo tener tiempo para consumir el alimento preferido, sin considerar que si la prueba hubiese sido más larga podría haber consumido algo del otro alimento entregado. Es por ello que el tiempo de duración del ensayo pudo haber afectado los resultados obtenidos.

Asimismo, es importante considerar el tiempo de ayuno al cual fueron sometidos los animales, ya que el objetivo de este es aumentar el consumo de los compuestos evaluados. En el estudio presentado en este trabajo fue de 1 hora para agua y alimento. Por el contrario, Yoshida *et al.* (2015) sometieron a las aves a ayunos más largos de 17 horas para pruebas en dieta seca y Yoshida *et al.* (2018) describieron una deprivación de agua de casi 24 horas para la realización de pruebas en soluciones. No existiendo una estandarización para la realización de este tipo de ensayo. Por lo tanto, los resultados obtenidos pudieron verse influenciados por factores como el mecanismo de entrega del compuesto sensorialmente activo y tiempos de ayuno o prueba diferentes. Asimismo, se recalca el hecho de que a pesar de que MSG, L-Alanina y los aminoácidos esenciales evaluados en el presente trabajo son considerados como compuestos de sabor umami, en si todos representan activos diferentes, motivo por el cual también pudieron verse diferenciados los resultados entre sí.

De la presente investigación, se destaca que a pesar de que los animales contaban con 5 horas de deprivación de alimento para la realización de las pruebas, los pesos obtenidos hasta el día 38 en promedio fueron de 2498 gr, mientras que el rendimiento esperado para pollos Ross 308 machos hasta tal día es de 2701 gr según lo indicado para la línea genética (Aviagen, 2019b). A pesar de la deprivación alimentaria que pudiese ser considerada importante por el régimen alimentario al cual se exponen regularmente estas aves en la industria avícola, los pesos conseguidos en promedio fueron esperables considerando las condiciones de manejo y estrés a los cuales se vieron sometidos los animales, incluyendo las fluctuaciones de temperatura del galpón, la cantidad de animales por corral y el tipo de dieta entregada la cual cumple con los requisitos mínimos para una dieta de Broiler. Adicionalmente, se destaca que en la realización del ensayo no hubo mortalidades ni patologías asociadas en los animales.

Las aves en el presente trabajo fueron alimentadas con dietas comerciales formuladas para cubrir todos los requerimientos nutricionales mínimos indicados para la línea genética. Sobre esto, Rowland *et al.* (2015) postularon que los pollos tienen la capacidad de ajustar su consumo de alimento para compensar deficiencias dietarias en aminoácidos esenciales, y que, por ejemplo, pollos sometidos a una deficiencia dietaria de metionina muestran una clara preferencia por soluciones con metionina. De esto podemos inferir que, en caso de realizar ensayos con dietas en deficiencia aminoacídica, los umbrales de preferencia o sensibilidad

por los aminoácidos esenciales descritos en este proyecto debiesen verse disminuidos, y el consumo por motivación sensorial por las soluciones con aminoácido aumentarían. Sin embargo, se requieren estudios para comprobar dichos postulados. De ello también se indica la relevancia de efectuar un perfil de aminoácidos totales a las dietas entregadas a los animales de estudio; análisis que no pudo ser efectuado en este trabajo y, en consecuencia, representó una limitante de este. En el caso del ensayo descrito en este proyecto, se opta por incluir aminoácidos esenciales en concentraciones superiores a las requeridas por la línea genética, y, por lo tanto, al contar con la determinación específica de la cantidad de cada aminoácido en las dietas podríamos haber evaluado la cantidad adicional proporcionada, entregando información fundamental para generar una relación con la productividad de los animales y permitiéndonos generar conclusiones más certeras.

Para continuar, es importante recalcar que se evaluaron grupos de pollos diferentes en la segunda tanda del ensayo, a mayores concentraciones. A pesar de todos los cambios metabólicos y diferencias en las necesidades nutricionales que pudiesen presentar estas aves al tener más días de vida, siguen siendo pollos jóvenes (38 días) y, por lo tanto, la maduración de las papilas gustativas y con ello, posibles cambios en la sensibilidad o preferencia no debiesen ser tan diferentes a lo evaluado en el primer grupo de aves. Sobre lo anteriormente expuesto se recalca también que para comparar los consumos entre un grupo de pollos y otro previamente, los valores fueron ponderados por el peso metabólico diario de los animales para así hacer comparables los consumos entre, por ejemplo, un animal de 7 días con uno de 35 días de vida. Asimismo, se indica que los 64 pollos utilizados en el presente trabajo fueron sometidos a un régimen de aminoácidos esenciales en las ocho concentraciones descritas, por lo tanto, las papilas gustativas de las aves fueron madurando junto a la utilización de los mismos compuestos sensorialmente activos. A pesar de que en un principio se evaluaron variables diferentes entre grupos, tal como aceptabilidad; no descrita en la presente Memoria de Título, y, por otro lado, los umbrales de preferencia y consumo por motivación sensorial. Sin embargo, en futuros ensayos pudiese ser necesario el priorizar usar a los mismos animales durante todo el transcurso de la investigación, con el fin de evitar cualquier cambio o diferencias en la sensibilidad y/o preferencia que genere la edad de los animales evaluados y que pudiese afectar a los resultados obtenidos.

Futuras investigaciones son necesarias para dilucidar la funcionalidad de todos los receptores de compuestos de sabor umami en las aves, ya que es sabido que pueden brindar una mejora en la industria avícola (Dong, 2020; Yoshida *et al.*, 2015). Así mismo, evaluar los umbrales de sensibilidad o preferencia por dichos compuestos brinda el conocimiento de los requerimientos mínimos necesarios para la activación de los receptores asociados a la percepción del sabor en las papilas gustativas y a su vez, genera una base de entendimiento sobre la funcionalidad y activación de los receptores de compuestos de sabor umami extraorales cuyas funciones de regulación de ingesta, motilidad y salud intestinal son relevantes para potencialmente mejorar el rendimiento alimentario de los pollos Broiler, lo que actualmente requiere mayor estudio para su entendimiento y aprovechamiento en la generación de nuevas estrategias alimentarias en la producción avícola, ya que saber lo que un animal perciba como buen o mal sabor nos ayudara a proveerles de alimentos más palatables y quizás más nutritivos.

8. CONCLUSIÓN

Del presente trabajo de Memoria de Título se concluye que los umbrales de preferencia por los cuatro aminoácidos esenciales estudiados en pollos Broiler son efectivamente menores a los descritos en otros estudios para otros compuestos de sabor umami. Por otra parte, su incorporación no tiene la capacidad de reducir significativamente consumo por motivación sensorial. Es por ello que la hipótesis planteada en el trabajo se rechaza, puesto que el consumo no disminuyó significativamente con la agregación de aminoácidos esenciales, como se había planteado en primera instancia.

Se recomienda realizar estudios que evalúen el cambio en la sensibilidad o umbral de preferencia por los aminoácidos esenciales en dietas con deficiencia aminoacídica, con la finalidad de entender con mayor profundidad el funcionamiento y activación de los receptores de compuestos de sabor umami a nivel oral, y así mismo, confirmar la adaptación alimentaria basada en el déficit nutricional o aminoacídico de los pollos.

9. BIBLIOGRAFÍA

- AVIAGEN.** 2019a. POLLO DE ENGORDE ROSS: Especificaciones de Nutrición. 10 p.
- AVIAGEN.** 2019b. POLLO DE ENGORDE ROSS: ROSS 308 ROSS 308 FF Objetivos de rendimiento. 15 p.
- CHELED-SHOVAL, S.; REICHER, N.; 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(7):2206-2218.
- DALY, K.; AL-RAMMAHI, M.; MORAN, A.; MARCELLO, M.; NINOMIYA, Y.; SHIRAZI-BEECHEY, S.** 2013. Sensing of amino acids by the gut-expressed taste receptor T1R1-T1R3 stimulates CCK secretion. *Am. J. Physiol. Gastrointest.* 304(3):G271-G282.
- DONG, B.** 2020. Molecular characterization and expression of umami receptors T1R1/T1R3 in broiler chickens. Thesis Master of Science. Winnipeg, Canada. University of Manitoba, Department of Animal Science. 99 p.
- FORBES, J.** 2010. Palatability: principles, methodology and practice for farm animals. *CAB Rev: Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutr. Nat. Resour.* 5(52):1-15.
- NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL.** 1994. Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition, 1994. 9ª ed. The National Academies Press. Washington DC, Estados Unidos. 176 p.
- RAJAPAKSHA, P.; WANG, Z.; VENKATESAN, N.; TEHRANI, K.; PAYNE, J.; SWETENBURG, R.; KAWABATA, F.; TABATA, S.; MORTENSEN, L.; STICE, S.; BECKSTEAD, R.; LIU, H.** 2016. Labeling and analysis of chicken taste buds using molecular markers in oral epithelial sheets. *Sci. Rep.* 6:1-10.
- ROURA, E.; BALDWIN, M.; KLASING, K.** 2013. The avian taste system: Potential implications in poultry nutrition. *Anim. Feed. Sci. Tech.* 180(1-4):1-9.
- ROWLAND, H.; ROCKWELL, M.; JIANG, P.; REED, D.; BEUCHAMP, G.** 2015. Comparative Taste Biology with Special Focus on Birds and Reptiles. **In:** Handbook of Olfaction and Gustation. 3ª ed. Wiley Blackwell. Hoboken, Estados Unidos. pp. 957-982.

YOSHIDA, Y.; KAWATABA, F.; NISHIMURA, S.; TABATA, S. 2015. Expressions of multiple umami taste receptors in oral and gastrointestinal tissues, and umami taste synergism in chickens. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 466(3):346-349.

YOSHIDA, Y.; KAWABATA, F.; NISHIMURA, S.; TABATA, S. 2018. Short-term perception of and conditioned taste aversion to umami taste, and oral expression patterns of umami taste receptors in chickens. *Physiol. Behav.* 191:29-36.

YOSHIDA, Y.; KAWABATA, F.; TABATA, S.; AGGREY, S.; REKAYA, R.; LIU, H. 2021a. Evolvement of taste sensitivity and taste buds in chickens during selective breeding. *Poult. Sci.* 100(6):101113.

YOSHIDA, Y.; KAWABATA, F.; NISHIMURA, S.; TABATA, S. 2021b. The umami receptor T1R1-T1R3 heterodimer is rarely formed in chickens. *Sci. Rep.* 11(12318).

10. ANEXOS

Anexo 1: 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%

Anexo 2: 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.

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

Anexo 3. Análisis Químico Proximal

AQP	DIETA INICIAL	DIETA FINAL
Humedad	11,1	11,3
Materia Seca	88,9	88,7
Proteína Total	22,9	18,1
Fibra Cruda	3,4	4,3
Extracto Etéreo	3,8	4,9
Extracto No Nitrogenado	53,7	55,0
Cenizas	5,1	6,4

Anexo 4. Pesos vivos promedio de pareja de aves evaluadas los días 1-22

Corral	D1	D7	D14	D22
1	52,0	152,5	375,5	917,6
2	57,0	154,5	388,5	829,6
3	56,0	169,5	443,0	973,3
4	59,0	162,5	406,0	971,5
9	50,5	141,5	401,5	969,4
10	54,5	158,0	477,5	1034,5
11	54,5	131,5	419,5	1013,8
12	54,5	136,0	421,5	1018,4
25	59,0	158,0	458,5	969,9
26	55,0	146,5	467,0	989,9
27	56,5	166,5	484,0	1104,6
28	56,5	165,5	431,0	968,4
29	53,5	148,0	440,0	1045,4
30	48,0	145,0	421,0	917,8
31	53,0	143,0	455,5	1060,5
32	51,0	137,5	454,5	922,7

Anexo 5. Pesos vivos promedio de pareja de aves evaluadas los días 23-38

Corral	D23	D28	D35	D38
5	1148,1	1541,0	2165,0	2432,4
6	1093,6	1512,5	2298,0	2634,6
7	895,4	1269,0	2047,0	2380,4
8	1079,9	1416,0	2371,5	2781,0
13	1074,9	1549,5	2261,0	2565,9
14	980,1	1369,0	2059,0	2354,7
15	1022,3	1318,0	1921,0	2179,4
16	1040,4	1457,5	2103,5	2380,4
17	966,3	1297,0	2014,5	2322,0
18	1119,9	1618,5	2538,5	2932,8
19	1052,1	1427,5	2085,0	2366,8
20	945,9	1235,5	1904,5	2191,2
21	1059,2	1513,5	2259,0	2578,5
22	1099,9	1544,5	2391,5	2754,5
23	1122,6	1529,0	2230,0	2530,4
24	1083,4	1452,0	2253,5	2597,0

