

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE ZOOTECNIA



**“EFECTO DE UNA HARINA DE MEZCLA DE ALGAS SOBRE LA
MORFOMETRÍA INTESTINAL Y ÓSEA EN POLLOS DE
ENGORDE”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE

INGENIERO ZOOTECNISTA

TERESA ROXANA CUSIHUAMAN BELLIDO

LIMA-PERÚ

2024

**La UNALM es titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación
(Art. 24 - Reglamento de Propiedad Intelectual)**

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

FACULTAD DE ZOOTECNIA

**“EFECTO DE UNA HARINA DE MEZCLA DE ALGAS
SOBRE LA MORFOMETRÍA INTESTINAL Y ÓSEA EN
POLLOS DE ENGORDE”**

Presentado por:

TERESA ROXANA CUSIHUAMAN BELLIDO

Tesis para optar el título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

Sustentada y aprobada ante el siguiente Jurado:

Mg. Sc. Víctor Vergara Rubín
Presidente

Mg. Sc. Pedro Ciriaco Castañeda
Miembro

M.V. Aída Cordero Ramírez
Miembro

Ph.D. Carlos Vílchez Perales
Asesor

DEDICATORIA

Este logro se lo dedico a mi mamá Antolina, por toda la comprensión, cariño, paciencia y apoyo incondicional.

A mis hermanos José, María y Carmen por su apoyo en mi desarrollo académico y alentarme a cumplir mis objetivos. A mis sobrinas por darme esos momentos de alegría cuando más lo necesitaba.

A mi abuelito Julio, mi papá Valentín y mi hermano Luis, aunque partieron pronto, sé que estuvieron conmigo, acompañándome antes, durante y después de la sustentación y lo seguirán haciendo en cada momento.

AGRADECIMIENTO

A Dios por permitirme llegar a este momento y culminar satisfactoriamente esta investigación.

Al Dr. Carlos Vílchez Perales, por su orientación académica y apoyo profesional.

Al Dr. Otto Zea Mendoza por sus aportes brindados a este trabajo.

A la empresa PSW por la confianza depositada en mi persona y financiar esta investigación.

A mi familia por todo el cariño y respaldo que me han dado todos estos años.

A José Solano por su apoyo incondicional, comprensión, alentarme a seguir adelante y brindarme todo su cariño.

A Carmen Silva por brindarme su gran amistad, confianza, consejos y ayuda constante.

A la Universidad Nacional Agraria La Molina, por darme la oportunidad de formarme como profesional.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	2
	2.1.Aspectos generales de las algas	2
	2.1.1. Clasificación	2
	2.1.2. Valor nutritivo y composición química de las algas	5
	2.2.Efecto de las algas sobre la morfometría intestinal.....	8
	2.3.Efecto de las algas sobre la morfometría ósea	11
III.	METODOLOGÍA.....	14
	3.1.Lugar y duración	14
	3.2.Instalaciones, materiales y equipos	14
	3.3.Producto evaluado	15
	3.4.Tratamientos.....	15
	3.5.Alimentación	15
	3.6.Animales experimentales	15
	3.7.Manejo sanitario.....	18
	3.8.Procedimiento para la medición de la morfometría intestinal.....	18
	3.8.1. Mediciones realizadas	19
	3.9.Procedimiento para la medición de la morfometría ósea	20
	3.9.1. Indicadores analizados	20
	3.10. Diseño estadístico.....	22
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
	4.1.Morfometría de las vellosidades intestinales.....	23
	4.2.Morfometría e indicadores de mineralización ósea de las tibias.....	27
	4.3.Porcentaje de ceniza y resistencia ósea de las tibias	29
V.	CONCLUSIONES.....	32
VI.	RECOMENDACIONES	33
VII.	BIBLIOGRAFÍA.....	34
VIII.	ANEXOS.....	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación de las algas	3
Tabla 2: Composición porcentual y valor nutricional calculado de las dietas experimentales de Inicio (1 a 10 días de edad)	16
Tabla 3: Composición porcentual y valor nutricional calculado de las dietas experimentales de crecimiento (11 a 21 días de edad)	17
Tabla 4: Efecto de inclusión de diferentes niveles de harina de alga sobre la altura, ancho, área de vellosidad, profundidad de cripta y relación altura con profundidad de cripta de las vellosidades intestinales del yeyuno	24
Tabla 5: Características morfométricas e indicadores de mineralización ósea de las tibias de pollos de carne de 21 días de edad alimentados con diferentes niveles de harina de algas	28
Tabla 6: Efecto de diferentes niveles de harina de algas sobre el porcentaje de ceniza y la resistencia de la tibia en pollos de 21 días de edad	30

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Comportamiento morfométrico intestinal de pollos de carne alimentados con dietas de diferentes niveles de reemplazo de harina de algas (Período de 1 a 21 días de edad).....	56
Anexo 2: Comportamiento morfométrico óseo y peso en tibias de pollos de carne alimentados con dietas de diferentes niveles de reemplazo de harina de algas (Período de 1 a 21 días de edad)	58
Anexo 3: Índice de Seedor, índice de Quetelet e índice de robusticidad en tibia	60
Anexo 4: Resistencia y porcentaje de ceniza en tibia.....	62

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de la inclusión de una harina de mezcla de algas en la dieta sobre la morfometría intestinal, morfometría ósea, indicadores de mineralización ósea, porcentaje de ceniza y resistencia ósea de tibias de pollos de engorde de 21 días de edad. Se emplearon 432 pollos BB machos de la línea comercial Ross 308 distribuidos al azar en seis tratamientos con seis repeticiones. Los tratamientos evaluados fueron los siguientes: T1, dieta control (sin harina de algas, HA); T2, dieta con inclusión de 0.1% de HA; T3, dieta con inclusión de 0.2% de HA; T4, dieta con inclusión de 0.3% de HA; T5, dieta con inclusión de 0.4% de HA; T6, dieta con inclusión de 0.5% de HA. El alimento y el agua fueron ofrecidos *ad libitum*. A los 21 días de edad, se sacrificaron doce animales por tratamiento para coleccionar muestras histológicas de yeyuno, para posteriormente determinar la morfometría intestinal; al mismo tiempo, se coleccionaron muestra de hueso tibia para luego determinar medidas morfométricas, indicadores de mineralización ósea, porcentaje de cenizas y resistencia ósea. Los resultados mostraron que el uso del harina de algas no afectaron ($P>0.05$) la longitud, ancho, área de vellosidad y profundidad de cripta; de igual manera, no afecto las medidas del largo, ancho y peso de la tibia, índice de Seedor, índice de Quetelet, índice de Robusticidad, porcentaje de ceniza y resistencia ósea. Se concluye que la morfometría intestinal, morfometría ósea, indicadores de mineralización, porcentaje de ceniza y resistencia ósea de pollos de 21 días de edad, no fueron influenciados por los tratamientos dietarios.

Palabras clave: harina de algas, pollos de engorde, morfometría intestinal, morfometría ósea.

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the effect of the inclusion of a seaweed mixture flour in the diet on intestinal morphometry, bone morphometry, bone mineralization indicators, ash percentage and bone resistance of tibias of 21-day-old broiler chickens. . old. 432 male BB chickens from the commercial line Ross 308 were used, randomly distributed in six treatments with six repetitions. The treatments evaluated were the following: T1, control diet (without algae meal, HA); T2, diet including 0.1% HA; T3, diet including 0.2% HA; T4, diet including 0.3% HA; T5, diet including 0.4% HA; T6, diet with inclusion of 0.5% HA. Food and water were offered ad libitum. At 21 days of age, twelve animals per treatment were sacrificed to collect histological samples of the jejunum, to subsequently determine intestinal morphometry; At the same time, tibia bone samples were collected to later determine morphometric measurements, bone mineralization indicators, ash percentage and bone resistance. The results showed that the use of seaweed meal did not affect ($P>0.05$) the length, width, villus area and crypt depth; Likewise, it does not affect the measurements of the length, width and weight of the tibia, Seedor index, Quetelet index, Robustness index, ash percentage and bone resistance. It is concluded that intestinal morphometry, bone morphometry, mineralization indicators, ash percentage and bone resistance of 21-day-old chickens were not influenced by dietary treatments.

Key words: seaweed meal, broilers, intestinal morphometry, bone morphometry.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha visto un aumento en la demanda de consumo de carne de pollo a nivel mundial, el cual se ve relacionado con el aumento de los ingresos y las tasas de crecimiento poblacional. De esta forma, se prevé que en los próximos 10 años la demanda de carne de ave incrementará hasta 145 Mt (FAO, 2020).

La producción avícola, se ve limitada por los costos de alimentación que representan hasta 70 u 80% de los costos de producción, motivo por el cual se buscan recursos alimenticios alternativos, que mejoren la eficiencia productiva y establezcan una reducción de los costos para sustituir de manera parcial a insumos convencionales.

Las algas marinas son una rica fuente de nutrientes: polisacáridos complejos, polifenoles, ácidos grasos omega 3, vitaminas y minerales. Son estudiadas por sus propiedades prebióticas, antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatorios e inmunomoduladores. El efecto prebiótico presente en las algas favorece el desarrollo intestinal garantizando una mayor integridad de la mucosa y el mantenimiento de la microbiota, además de aumentar la tasa de absorción de minerales. Por lo cual, las algas podrían ser usadas en la alimentación de pollos de engorde, considerando que posee alta disponibilidad al tratarse de un recurso abundante en las costas del mar peruano de fácil extracción y procesamiento. Al respecto, se ha elaborado una harina constituida por algas verdes y pardas del cual aún se desconoce sus efectos a nivel intestinal y óseo.

Ante lo expuesto, la presente investigación tiene como objetivo determinar el efecto de la inclusión de una harina de mezcla de algas en la dieta, sobre la morfometría intestinal, morfometría ósea, indicadores de mineralización ósea, porcentaje de ceniza y resistencia ósea en pollos de engorde de 21 días de edad.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Aspectos generales de las algas

Las algas marinas son un grupo amplio y complejo que constituye aproximadamente entre 25000 y 30000 especies diferentes, siendo los mayores productores de biomasa en el medio marino. A su vez son base de la cadena alimenticia y de gran importancia por su apoyo a la diversidad marina. Son organismos autótrofos, carecen de raíces, tallos y hojas verdaderas, existen en diversos tamaños, colores y composición. Las algas se caracterizan por presentar altas tasas de producción, adaptabilidad a distintas condiciones ambientales y su presencia en cualquier medio acuático donde exista una fuente de carbono, nutrientes, luz suficiente, junto con un intervalo apropiado de temperatura. Se pueden encontrar en las profundidades marinas, estuarios, adherido a piedras, corales muertos, conchas y donde la marea es baja (Hasan & Chakrabarti, 2009; El Gamal, 2010; Corino *et al.*, 2019; Salehi *et al.*, 2019; López *et al.*, 2020).

2.1.1. Clasificación

Taxonómicamente, las algas marinas están clasificadas en tres grupos: algas rojas (rodofitas), algas marrones o pardas (phaeophytas), algas verdes (chlorofitas), tal como se muestra en la Tabla 1. Esta clasificación se da por el pigmento que se encuentra presente en sus células (Mc Artain *et al.*, 2007; Rajapakse & Kim, 2011; Quitral *et al.*, 2012; Salehi *et al.*, 2019).

Tabla 1: Clasificación de las algas

Clasificación	Nombre común	Pigmentos	Ejemplo
Clorophyta	Algas verdes	Clorofilas a y b, xantofilas (luteína, violaxantina, neoxantina y enteroxantina)	<i>Ulva spp.</i> , <i>Codium spp.</i>
Phaeophyta	Algas pardas	Xantofilas (fucoxantina y flavoxantina) y clorofilas a y c	<i>Laminaria spp.</i> , <i>Lessonia spp.</i> , <i>Sargassum spp.</i> , <i>Durvillaea spp.</i>
Rhodophyta	Algas rojas	Ficoeritrina, ficobilina, clorofilas a y d	<i>Gracilaria spp.</i> , <i>Palmaria spp.</i> , <i>Porphyra spp.</i>

Fuente: Quitral *et al.*, 2012

a. Algas verdes

Las algas verdes presentan alrededor de 500 géneros y unas 15000 especies. Estas algas son llamadas así por su coloración verde, debido a la presencia de clorofila en sus cloroplastos. Los pigmentos fotosintéticos incluyen la clorofila a y b junto con otros pigmentos accesorios como carotenos y xantofilas. El polisacárido de reserva es el almidón. Celularmente, este grupo presenta la misma estructura que las demás células eucariotas fotosintéticas como citoplasma, núcleo, mitocondria, plástidos y organelas. Generalmente su pared celular está compuesta por celulosa o un polisacárido similar a la quitina, xilano o manano (Leliaert, 2019).

Las algas verdes conforman un grupo morfológicamente muy diversificado que incluye representantes unicelulares, coloniales, como también formas filamentosas y parenquimatosas, las que pueden ir desde individuos microscópicos hasta algunos con longitudes de más de un metro de largo (Ej. *Enteromorpha spp.*, *Ulva spp.*). Además, este tipo de algas presentan altas tasas de crecimiento y productividad (Mansilla & Alveal, 2004; Lakshmi *et al.*, 2020).

Estas algas están presentes en las costas en zonas de abundante luz, se las puede encontrar generalmente adheridas a superficies consolidadas que le brinden estabilidad, ya sean rocas o a otras plantas acuáticas, mas no se les puede observar adheridas arena o grava (Makkar *et al.*, 2016; John, 2015).

b. Algas pardas

Las algas pardas son el segundo grupo más grande de algas marinas. Se clasifican en aproximadamente 265 géneros con más de 1500 especies. Ellos obtienen su característico color marrón debido a las grandes cantidades del carotenoide fucoxantina contenidos en sus cloroplastos y la presencia de varios taninos feofíceos. Estas algas son excelentes fuentes de compuestos bioactivos como polifenoles, péptidos, carotenoides y polisacáridos (Wehr, 2003; Bunker *et al.*, 2017; Qin, 2018; Fauziee *et al.*, 2021).

Este grupo de algas crecen adheridos a sustratos solidos o epifitamente sobre otras algas, siendo abundantes en zonas de gran exposición solar. Pudiéndoseles encontrar en la superficie y en zonas de aguas profundas de hasta 40 metros. Este grupo de algas pueden llegar a medir hasta 50 metros. Sus géneros más comunes incluyen: *Ascophyllum spp.*, *Laminariaia spp.*, *Saccharina spp.*, *Macrocystis spp.*, *Nereocystis spp.* y *Sargassum spp.* (Suryanarayana & Banerjee, 2011; Makkar *et al.*, 2016; Ansari *et al.*, 2019).

c. Algas rojas

Las algas rojas son un grupo que tienen la coloración roja característica, por la presencia de ficoeritrina y ficocianina contenidos en ficobilisomas, los cuales enmascaran el color verde de la clorofila a y b. La mayoría de las algas rojas son multicelulares y, a menudo, filamentosas. Las principales reservas son típicamente almidón florideano y floridosida (el almidón verdadero como el de las plantas superiores y las algas verdes está ausente), estos azúcares de reserva pueden llegar a ocupar gran volumen dentro de las células. Las paredes están hechas de celulosa, agar y carragenanos (Gabrielson *et al.*, 1986; Yu *et al.*, 2002; Denis *et al.*, 2009; Usov, 2011; Hsieh & Harris, 2019; Dodds, 2020).

Las algas rojas habitan en litorales rocosos, arenosos, arrecifes, estuarios y pueden encontrarse tanto en la superficie como en las profundidades de hasta 200. Las algas rojas que habitan en la superficie de mares tropicales son de porte pequeño; mientras que, las que habitan en aguas de clima templado a frío son de mayor tamaño. Los principales géneros de algas rojas incluyen *Pyropia spp.*, *Porphyra spp.*, *Chondrus spp.* y *Palmaria spp.* (Lee, 2008; Makkar *et al.*, 2016).

2.1.2. Valor nutritivo y composición química de las algas

Así como las especies vegetales, las algas contienen metabolitos primarios como: lípidos, carbohidratos y proteínas, que son necesarios para su crecimiento, supervivencia y proliferación, además de almacenar minerales esenciales a lo largo de su desarrollo. El contenido de estos metabolitos se ve influenciado por la ubicación, condiciones en que esté sometida y la temporada en que se realice la colecta (Salehi *et al.*, 2019, Peñavaler *et al.*, 2020).

a. Carbohidratos

Los carbohidratos son monosacáridos unidos por enlace glucosídico y se encuentran tanto en plantas, hongos y algas. Son una fuente de almacenamiento de energía, además de cumplir funciones estructurales. Las algas son una rica fuente de carbohidratos con amplias aplicaciones biológicas. Estos carbohidratos son heteropolisacáridos (polímeros formados de diferentes unidades monoméricas) tales como: ulvanos, carragenanos, alginatos, etc. (Stiger-Pouvreau *et al.*, 2016). Estos carbohidratos representan entre 4 a 76 % de peso seco (ps.), siendo factores de variabilidad su especie y las condiciones ambientales presentes en la zona de donde se le ha extraído.

Las algas de los géneros *Ascophyllum*, *Porphyra* y *Palmaria spp.*, tienen los mayores contenidos; mientras que, si los clasificamos por su coloración, las algas pardas poseen un mayor porcentaje, 35-67% ps.; las algas verdes, 29-62% ps.; rojas, 10-57% ps. (Wong & Cheung, 2000; Holdt & Kraan, 2011; García-; Kraan, 2012; De Jesús *et al.*, 2015; Vaquero *et al.*, 2017; Cherry *et al.*, 2019; Overland *et al.*, 2019).

Los carbohidratos procedentes de las algas son muy usados por la industria de alimentos por sus compuestos bioactivos. Además, pueden ser usados como estabilizantes, emulsificantes y espesantes (Salehi *et al.*, 2019, Lafarga *et al.*, 2020).

b. Proteína cruda

Las algas son una valiosa fuente de proteínas que puede ser usada en la elaboración de dietas balanceadas para animales, tal igual como la harina de soya y harina de pescado. Entre los tres grupos de algas, las algas marrones presentan una menor cantidad de proteína cruda (5-15% de materia seca) que las algas verdes (30%) y rojas (30-40%). El porcentaje de proteína cruda varía de acuerdo a la estación y área geográfica (Murata & Nakazoe, 2001; Burtin, 2003; Rajapakse & Kim, 2011; Ganesan *et al.*, 2019).

Las algas marinas proveen de aminoácidos esenciales necesarios para las funciones básicas del organismo, dentro de ellos se pueden encontrar: histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Las algas presentan una similar o poco elevada proporción de aminoácidos esenciales (45.7%) con respecto del total de aminoácidos presentes en la harina de pescado (43.4%) o la harina de soya (46%). En cuanto a los aminoácidos esenciales limitantes, como la metionina, ésta es más elevada que en la harina de soya, pero es bajo a comparación de la harina de pescado. En cuanto a lisina, en la mayoría de las especies de algas es bajo a comparación de la harina de soya o pescado. Las algas suelen contener altos niveles de ácido glutámico que contribuye a su sabor típico (umami) (MacArtain *et al.*, 2007; Angell *et al.*, 2016; Overland *et al.*, 2019; Salehi *et al.*, 2019).

Las algas también contienen una serie de aminoácidos libres y péptidos bioactivos (p. ej., taurina, fosfoserina, carnosina, glutatión). La taurina presente en mayor cantidad en las algas rojas y que está implicada en procesos fisiológicos como la osmorregulación, inmunomodulación, estabilización de membrana; además, participa en el desarrollo ocular y del sistema nervioso (Quitral *et al.*, 2012).

c. Lípidos totales

En general, el contenido de lípidos totales es muy bajo para todas las especies de algas estando entre 0.9% y 4.0% del peso seco (Dawczynski *et al.*, 2007; Maehre *et al.*, 2014). Los lípidos totales presentes en las algas comprenden muchos compuestos bioactivos tales como ácidos grasos poliinsaturados, pigmentos (clorofilas, carotenoides), terpenoides y esteroides (Susanto *et al.*, 2016).

La proporción de lípidos totales en las algas pueden variar dependiendo de factores ambientales como la temperatura. Así por ejemplo Narayan *et al.* (2006) encontraron que la proporción de lípidos totales es menor en algas que habitan en climas tropicales o cálidos cuando se les comparan con los que crecen en climas fríos.

Las algas marinas sintetizan grandes cantidades de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), mayor a lo producido por las plantas terrestres (López-Huertas, 2010). Entre los ácidos grasos poliinsaturados destacan el ácido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), los cuales pertenecen a la familia de la omega 3. Del mismo modo, produce ácido linoleico, perteneciente al omega 6 (MacArtain *et al.*, 2007; Rajapakse & Kim, 2011; Schmid *et al.*, 2018; Rocha *et al.*, 2021). En tanto a la proporción de ácidos grasos, las algas rojas presentan altos contenidos de EPA, ácido palmítico y ácido oleico; mientras que, las algas pardas se caracterizan por presentar altas concentraciones de ácido oleico, ácido linoleico y ácido α -linolénico, pero bajo de EPA; y las algas verdes, mayor cantidad de ácido linoleico, α -linolénico, palmítico, oleico y DHA (Fleurence *et al.*, 1994; Sánchez *et al.*, 2004; Kumari *et al.*, 2010; Mišurcová *et al.*, 2011;).

d. Vitaminas y minerales

En las algas marinas se puede encontrar vitaminas liposolubles e hidrosolubles como: provitamina A, provitamina E, B₁₂ y C. Ortiz *et al.* (2006), mencionan que el consumo de 100 g de algas aporta los requerimientos diarios de vitaminas A y B₁₂, y dos tercios de vitamina C, en dietas de humanos.

Las algas poseen la provitamina A (β -caroteno), de mayor proporción en las algas rojas. En cuanto a la vitamina E o tocoferol, se puede encontrar en mayor proporción en algas marrones que en verdes o rojas. A su vez la vitamina B₁₂, la cual es requerido por personas con una dieta estricta en vegetales, se encuentra en mayor proporción en las algas rojas como el nori (*Porphyra umbilicales*). Finalmente, la vitamina C se encuentra en mayor proporción en las algas marrones y verdes (Bocanegra *et al.*, 2009; Mendis & Kim, 2011; Škrovánková, 2011; Roohinejad *et al.*, 2017; Tanna & Mishra, 2018; Cherry *et al.*, 2019;).

Las algas son conocidas por su alto contenido mineral, siendo más elevado que el encontrado en las plantas terrestres, de mayor abundancia en las algas marrones (hasta un 36% de su peso seco). Se pueden encontrar minerales esenciales como el sodio, potasio, calcio, fósforo y magnesio, los cuales ayudan a evitar problemas cardiovasculares, además ayudan a la mineralización ósea y como cofactor de enzimas para la respiración celular. Del mismo modo, también se encuentran elementos traza como zinc, selenio, hierro, cobre, manganeso y yodo, involucrados en varios procesos metabólicos o como cofactores de enzimas (Rupérez, 2002; Burtin, 2003; MacArtain *et al.*, 2007; Rajapakse & Kim, 2011; Quitral *et al.*, 2012; Makkar *et al.*, 2016; Cherry *et al.*, 2019; Overland *et al.*, 2019; Salehi *et al.*, 2019).

2.2. Efecto de las algas sobre la morfometría intestinal

El epitelio intestinal cumple un rol de barrera natural frente al ataque de agentes patógenos presentes en el alimento y lumen intestinal. La alteración del microbiota intestinal provoca proliferación de bacterias patógenas desencadenando procesos inflamatorios que afectan el tamaño de las vellosidades, la digestión y absorción de nutrientes (Chávez *et al.*, 2016). Estos efectos se pueden contrarrestar al consumir alimentos con funciones prebióticas como las algas (López *et al.*, 2020).

Los prebióticos son ingredientes no digeribles que traen beneficios al hospedero, al aumentar selectivamente un número limitado de bacterias en el colon que ayudan a mantener la buena salud (Gibson *et al.*, 2004).

Los prebióticos no son digeridos ni absorbidos por el tracto gastrointestinal, sino son empleados por su microflora. Estos microorganismos producen ácidos grasos de cadena corta durante la fermentación de azúcares complejas, proveyendo de energía a las células y favoreciendo cambios a nivel intestinal al reducir el pH del lumen, también, favorece cambios en la estructura física de las vellosidades del tracto intestinal al aumentar la altura de las vellosidades, la relación altura de vellosidad: profundidad de criptas y la barrera epitelial intestinal. Estas mejoras aumentan la absorción de nutrientes y producen una barrera de protección frente a infecciones intestinales (Xu *et al.*, 2003; Yaqoob *et al.*, 2021).

Macari y Maiorka (2000) encontraron un aumento de altura de las vellosidades en los tres segmentos del intestino delgado de aves de una semana de edad suplementadas con prebióticos. Así también, Dionizio (2001) encontró que al suplementar las dietas de pollos de engorde con prebióticos entre los 21 y 42 días de edad presentaron mejoras en la altura de vellosidad, llegando a medir hasta 1666 μm .

Los polisacáridos, polifenoles y péptidos presentes en las algas tienen efectos beneficiosos sobre la salud intestinal al regular la diversidad de poblaciones bacterianas presentes (Shannon *et al.*, 2021). Ciertos polisacáridos y oligosacáridos tipo alginato y fucoidán son requeridos por bacterias presentes en el colon, entre los cuales están los del género *Bifidobacterium sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Ruminococcus sp.* y *Faecalibacterium sp.*, las que por fermentación producen ácidos grasos de cadena corta, principalmente ácidos acético y propiónico y en menor proporción ácido butírico.

Wang *et al.* (2006) evaluaron el efecto prebiótico de las algas, encontrando un mayor desarrollo de bacterias benéficas al emplear los oligosacáridos presentes en las algas, en una proporción 2.5%, que al suplementar con 5% de fructooligosacáridos. Han *et al.* (2019) evaluaron el efecto de tres polisacáridos *in vitro* presentes en las algas marrones y rojas (alginato, agarosa y carragenina), concluyendo que al emplear estos polímeros de manera independiente se obtienen una mayor abundancia de bacterias benéficas (*Ruminococcaceae sp.*, *Coprococcus sp.*, *Roseburia sp.* y *Faecalibacterium sp.*) y la inhibición de ciertas bacterias patógenas (*Escherichia*, *Shigella* y *Peptoniphilus*); por tanto, una mayor producción de ácidos grasos de cadena corta.

Flemming (2005) menciona en su investigación que las bacterias benéficas del tipo *Lactobacillus spp.* favorecen el mantenimiento de la integridad intestinal y viabiliza la absorción en el intestino de las aves. Sweeney *et al.* (2016) investigaron el efecto de la suplementación con extracto de *Ascophylum nodosum* (alga marrón) en dietas de pollos de 10 días de edad desafiados con *Campylobacter jejuni*, encontrando que al suplementar con las algas en una proporción de 1000 ppm se redujo notablemente las cantidades de *C. jejuni* en relación con la dieta de control ($p < 0,05$).

Mukhopadhyaya *et al.* (2016) estudiaron los efectos de la suplementación con extracto de algas sobre los parámetros productivos, morfología intestinal y colonización del *Campylobacter jejuni* en pollos de 13 días de edad. Los resultados mostraron una mayor ganancia de peso y conversión alimenticia al emplear las dietas que contenían este extracto en proporción de 200 ppm; así también, mostró una mayor altura de vellosidad a comparación de la dieta sin extracto de alga.

Shokaiyan *et al.* (2019) evaluaron el efecto de la suplementación con extracto de algas y del *Bacillus subtilis* sobre la morfometría intestinal en pollos de engorde de 42 días, concluyendo que al emplear el simbiótico ,algas más probiótico (proporción de 500 ppm y 200 ppm, respectivamente), se obtuvo mayor altura de vellosidades y mayor relación altura de vellosidad: profundidad de cripta que al emplear una dieta basal con oxitetraciclina, además, el uso exclusivo de las algas o del probiótico tuvo también una mayor altura de vellosidades y menor profundidad de cripta que la dieta basal.

En otras especies monogástricas como los cerdos, Leonard *et al.* (2011), encontraron un aumento en la altura de vellosidades y en la relación altura de vellosidad: profundidad de cripta, en lechones destetados al suplementar con harina de algas en cantidades de 10 g/día; mientras que Choi *et al.* (2017) solo encontraron esas modificaciones en el íleon a un nivel de reemplazo de 0.15%. Rattigan *et al.* (2020) emplearon extracto de algas en dietas para lechones post-destete, resultando en una mayor longitud de vellosidad y relación altura de vellosidad: profundidad de cripta a los alimentados con este extracto que sin el uso de este.

Walsh *et al.* (2013), extrajeron dos polisacáridos presentes en las algas: laminarina y fucoidán, usándolos para evaluar los efectos sobre el microbiota intestinal, morfometría intestinal y el estado inmunitario del cerdo recién destetado. Concluyendo que, al emplear laminarina (300 mg/kg) o fucoidán (240 mg/kg) en las dietas, estos presentaban mejores resultados, tuvieron mayor longitud de vellosidad y relación altura de vellosidad: profundidad de cripta que el control (sin polisacáridos), en tanto a recuento de la microbiota, las poblaciones de bacterias patógenas se redujeron.

2.3. Efecto de las algas sobre la morfometría ósea

Los prebióticos aumentan la tasa de absorción de minerales, esto debido a la indirecta producción de ácidos grasos de cadena corta que hacen mejorar la disponibilidad de proteínas y minerales, al disminuir el pH del intestino, promoviendo así la solubilidad de los nutrientes (Scholz-ahrens y Schrezenmeir, 2002).

Estudios de las algas, indican que el fucoidán presente en algas marinas marrones pueden promover la proliferación de osteoblastos *in vitro*. Yamaguchi & Matsumoto (2012), estudiaron el efecto de un alga parda (*sargassum spp.*) mostrando resultados favorables al estimular la osteoblastogénesis e inhibir la osteoclastogénesis; los fucoidanos presentes en este tipo de algas, tuvieron la función de inhibir la descomposición del tejido conectivo, promover la formación de la matriz de colágeno fibrilar y apoyaron la proliferación fibroblástica. Jin *et al.* (2017) evaluaron el efecto del fucoidán sobre la estructura ósea y la osteoporosis en ratas, mostrando un aumento de la densidad ósea, reducción de la alta tasa de recambio óseo y mejora de las propiedades mecánicas del fémur, concluyendo su uso para tratamiento de la osteoporosis.

Las algas verdes y rojas también poseen compuestos que estimulan la actividad osteogénica, tal es el caso de las algas verdes, *cladophora rupestris* y *codium fragil*, que favorecen la actividad mineralogénica (Changotade *et al.*, 2008; Carson y Clarke, 2018). Para Surget *et al.* (2017), existe una correlación entre los compuestos fenólicos presentes en las algas verdes con el aumento de la mineralización ósea en peces. Los florotaninos, otro compuesto bioactivo presentes en las algas pardas, también se encontró que mejoran la mineralización ósea (Ryu *et al.*, 2009; Yeo *et al.*, 2012).

Carlos *et al.* (2011) usaron el alga marina *Lithothamnium calcareum* como fuente alternativa de calcio en alimentos para pollos de engorde, sus efectos fueron evaluados en los parámetros productivos, pero no se obtuvo diferencias significativas entre los tratamientos que empleo; también se evaluó su efecto en la morfometría ósea, donde solo se obtuvo una pequeña diferencia numérica en el porcentaje de cenizas a favor del uso de alga (43.78%) que sin el uso de esta (41.49%); la altura, diámetro y peso no presentaron diferencias estadísticas. Si bien no hubo efectos perjudiciales ni muy beneficios, el autor plantea su uso como un sustituto a las fuentes de calcio tradicionales ya que no afecta los parámetros zootécnicos.

El alga *Lithothamnium calcareum* también fue estudiada por Alves (2021), quien evaluó su desempeño en pollos de engorde de 42 días de edad, observando efectos significativos en sus parámetros productivos (ganancia de peso, consumo de alimento, conversión alimenticia) al ser empleados a un 1.0% de remplazo; el índice de Seedor(g/mm), evaluado a tres edades diferentes, tuvo un mejor resultado para el tratamiento con un 1.5% de reemplazo a los 30 días de edad; sin embargo, al hacer la evaluación del día 1 hasta el 42, en conjunto, el tratamiento con 1.0% de remplazo fue el mejor. Las algas no solo mejoran la mineralización ósea sino también proporcionan resistencia al cascarón, tal es el caso de las algas verdes (*ulva spp.*), que al ser evaluadas por Li *et al.* (2018), mostraron que a un nivel de hasta 1% de inclusión en la dieta, tuvieron una mayor resistencia a la rotura (34.4 N) a comparación con la dieta sin alga (29.5 N).

Silva (2012) evaluó los efectos del alga *Lithothamnium calcareum* en la alimentación de gallinas ponedoras, encontrando un mayor espesor del cascarón, mayor porcentaje de minerales totales y mayor porcentaje de calcio en el cascarón, al emplearlas hasta un 1%.

Melo *et al.* (2008), encontraron un mayor peso de yema y mayor grosor de cascarón al suplementar las dietas de codornices de postura con el alga *Lithothamnium calcareum* en una proporción de hasta un 0.5%. Bertoldo (2021), también encontró que suplementar dietas de codornices con algas marinas hasta un 0.5%, no trae efectos perjudiciales sobre la calidad del huevo, además se encontró una tendencia a incrementar el grosor del cascarón al incrementar el porcentaje de harina de algas en la dieta.

El alga *Spirulina platensis*, muy difundida en los últimos años, fue evaluado por Pango (2021) para saber sus efectos en la salud intestinal y ósea de pollos de engorde, encontrando que: el peso, longitud, diámetro de tibias, fueron mayores al control, al ser usada a un 1.5% de reemplazo en la dieta. Dilkin *et al.* (2018), evaluaron el efecto de la *Spirulina platensis* en la alimentación de codornices sobre la calidad del huevo, donde tuvo una mejor coloración y mayor resistencia del cascarón (1.192 kgF) al usarla hasta un 10% de reemplazo. El efecto de la alimentación con *Spirulina platensis* sobre el grosor del cascaron en huevos de codornices fue investigado por Dos Santos Badeca *et al.* (2020), quienes encontraron que, a un mayor nivel de sustitución del carbonato de calcio por la espirulina, el grosor aumentaba, además de una correlación lineal creciente del grosor del cascarón con su resistencia (KJ/F).

Las algas marinas también fueron estudiadas para evaluar la resistencia ósea en otras especies monogástricas de valor comercial, como es el caso de los cerdos. Scherer (2020), evaluó las características óseas, microbiológicas e intestinales de lechones alimentados con algas, siendo el alga usada como sustituto de la piedra caliza calcítica, se mostró como resultado que reemplazar en un 50 % la piedra caliza o reemplazarla totalmente por algas generaba mayor resistencia a la rotura del metatarso. Oliveira (2021), también evaluó el efecto de alimentar a marranas con algas marinas, usándolo como fuente de calcio, sobre la resistencia ósea en lechones, no encontrándose efectos negativos en la resistencia al emplear la piedra caliza, el fosfato de calcio o las algas marinas; además, no se tuvo diferencias en los parámetros zootécnicos, concluyendo que se podría usar algas marinas sin tener efectos perjudiciales hacia los lechones.

III. METODOLOGÍA

3.1. Lugar y duración

La crianza de los pollos se llevó a cabo en las instalaciones de la Unidad Experimental de Aves (localización: 12°05'02.3"S 76°56'42.4"W) de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM). Tuvo una duración de 21 días. El procesamiento y mediciones de las muestras se realizó en el Laboratorio de Histomorfometría Aviar del Departamento de Nutrición de la Facultad de Zootecnia de la UNALM.

3.2. Instalaciones, materiales y equipos

Se trabajó en un galpón con piso de cemento, enmallado en los alrededores para evitar ingreso de otros animales en el interior. El microclima y el ambiente exterior del galpón estuvo compuesto por rollos de cortina de color blanco, con entradas de aire y regulados manualmente para favorecer el intercambio de gases y regular la temperatura.

Se tuvieron corrales de 1.6 m² para cada unidad experimental con cama de viruta. El alimento se suministró en un comedero rectangular los primeros tres días, luego se usaron los del tipo tolva hasta los 21 días. Se usó un bebedero tipo tongo por cada repetición. Se dispuso de campanas de gas para mantener la temperatura ideal para la línea Ross. La iluminación fue posible con focos de 50 watts. Para la medición de temperatura y humedad se colocaron termohigrómetros.

3.3. Producto evaluado

El ingrediente evaluado fue harina de algas, producido por la empresa PSW S.A., el cual está constituido por algas verdes y marrones de los géneros: *Enteromorpha spp.*, *Ulva spp.*, *Macrocystis spp.* y *Lessonia spp.* Este grupo de algas son característicos por presentar un bajo valor energético, buen aporte de vitaminas, minerales y rica en polisacáridos como ulvanos, laminarinas, fucoidanos, alginatos.

3.4. Tratamientos

Los tratamientos en estudio fueron:

Tratamiento 1: Dieta control, sin harina de alga.

Tratamiento 2: Dieta con 0.1% harina de alga.

Tratamiento 3: Dieta con 0.2% harina de alga.

Tratamiento 4: Dieta con 0.3% harina de alga.

Tratamiento 5: Dieta con 0.4% harina de alga.

Tratamiento 6: Dieta con 0.5% harina de alga.

3.5. Alimentación

El alimento fue preparado en la Planta de Alimentos Balanceados perteneciente a la Facultad de Zootecnia de la UNALM. Se dividió en dos etapas: AABB Inicio (1 – 10 días), AABB Crecimiento (11– 21 días). El alimento y el agua fueron suministrados *ad libitum*. La composición y el valor nutricional calculado se presentan en las tablas 2 y 3.

3.6. Animales experimentales

Para la toma de muestras del intestino y de las tibias, en total se utilizaron 72 aves – 12 aves por tratamiento, las cuales se sacrificaron a los 21 días de edad.

Tabla 2: Composición porcentual y valor nutricional calculado de las dietas experimentales de Inicio (1 a 10 días de edad)

INGREDIENTES (%)	TRATAMIENTOS *					
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
Maíz amarillo	51.769	51.576	51.383	51.190	50.998	50.805
Torta de soya	40.181	40.212	40.241	40.272	40.302	40.332
Aceite crudo de soya	3.741	3.804	3.867	3.930	3.993	4.057
Lisina-HCl	0.175	0.174	0.174	0.173	0.172	0.172
DL-Metionina	0.337	0.337	0.338	0.338	0.338	0.338
L-Treonina	0.081	0.081	0.081	0.081	0.081	0.081
Carbonato de calcio	0.684	0.684	0.684	0.684	0.684	0.683
Fosfato dicálcico	2.112	2.112	2.112	2.112	2.112	2.112
Sal común	0.440	0.440	0.440	0.440	0.440	0.440
Cloruro de colina 60	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Premezcla V-M, Pollos de Carne	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Coccidiostato	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050
Secuestrante de micotoxinas	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Antioxidante	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030
Antibiótico Promotor Crecimiento	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Harina de Algas (HA)	0.000	0.100	0.200	0.300	0.400	0.500
Composición nutricional (calculado)						
Energía Metabolizable, Kcal/kg	3000	3000	3000	3000	3000	3000
Proteína cruda, %	23.00	23.00	23.00	23.00	23.00	23.00
Lisina digestible, %	1.28	1.28	1.28	1.28	1.28	1.28
Met+Cis digestible, %	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95	0.95
Treonina digestible, %	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86	0.86
Triptofano digestible, %	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
Calcio, %	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96	0.96
Fósforo disponible, %	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48
Sodio, %	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20

*T₁, Dieta Control; T₂, Dieta con 0.10% de HA; T₃, Dieta con 0.20% de HA; T₄, Dieta con 0.30% de HA; T₅, Dieta con 0.40% de HA; T₆, Dieta con 0.50% de HA.

Tabla 3: Composición porcentual y valor nutricional calculado de las dietas experimentales de crecimiento (11 a 21 días de edad)

INGREDIENTES (%)	TRATAMIENTOS *					
	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆
Maíz amarillo	56.498	56.305	56.112	55.920	55.726	55.534
Torta de soya	34.922	34.952	34.982	35.012	35.042	35.072
Aceite crudo de soya	4.593	4.656	4.719	4.782	4.846	4.909
Lisina-HCl	0.172	0.172	0.172	0.170	0.170	0.169
DL-Metionina	0.304	0.304	0.305	0.305	0.305	0.305
L-Treonina	0.059	0.059	0.059	0.060	0.060	0.060
Carbonato de calcio	0.628	0.628	0.627	0.627	0.627	0.627
Fosfato dicálcico	1.915	1.915	1.915	1.915	1.915	1.915
Sal común	0.429	0.429	0.429	0.429	0.429	0.429
Cloruro de colina 60	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Premezcla V-M, Pollos de Carne	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Coccidiostato	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050	0.050
Secuestrante de micotoxinas	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Antioxidante	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030	0.030
Antibiótico Promotor Crecimiento	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100
Harina de Algas (HA)	0.000	0.100	0.200	0.300	0.400	0.500
Contenido nutricional (Calculado)						
Energía Metabolizable., Kcal/kg	3100	3100	3100	3100	3100	3100
Proteína cruda, %	21.50	21.50	21.50	21.50	21.50	21.50
Lisina digestible, %	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15	1.15
Met+Cis digestible, %	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87	0.87
Treonina digestible, %	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77	0.77
Triptofano digestible, %	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
Calcio, %	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88	0.88
Fósforo disponible, %	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44
Sodio, %	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18

*T₁, Dieta Control; T₂, Dieta con 0.10% de HA; T₃, Dieta con 0.20% de HA; T₄, Dieta con 0.30% de HA; T₅, Dieta con 0.40% de HA; T₆, Dieta con 0.50% de HA.

3.7. Manejo sanitario

El control sanitario durante la fase experimental se efectuó de forma continua, tomando las medidas preventivas para conservar la salud de los animales. Por ello se realizó las siguientes medidas: Al inicio del experimento se llevó a cabo la limpieza y desinfección del galpón, junto con las áreas externas a este y los materiales a usar (comederos, bebederos, jaulas, mayas). Se colocó pediluvios, tanto en la entrada del galpón como en la entrada de la zona de crianza, con desinfectante en dosis de 1ml/L de agua que se cambiaba diariamente con el fin de evitar el ingreso de agentes patógenos.

Los pollos BB fueron vacunados en la planta de incubación contra Marek, Newcastle + Bronquitis, y Gumboro. El día 15 se les aplicó la segunda dosis (vía ocular) contra Marek, Newcastle + Bronquitis, y Gumboro.

3.8. Procedimiento para la medición de la morfometría intestinal

A los 21 días, se tomaron al azar doce aves por tratamiento que fueron sacrificados usando el método de dislocación cervical. Se separó el intestino delgado del tracto digestivo para así localizar el yeyuno. Se tomó un segmento de aproximadamente 1.5 cm de longitud que fueron almacenados en viales que contenían una solución de formol al 10% de concentración.

Las muestras fueron remitidas al Laboratorio de Histomorfometría Aviar de la Facultad de Zootecnia de la UNALM para la preparación de láminas histológicas. Se siguió el procedimiento empleado por Eusebio (2007). Las muestras contenidas en formol 10% fueron lavadas en agua corriente para extraer los residuos del fijador, y así ser deshidratadas en baños de alcohol de diferentes grados y aclarados en xilol, se las incluyó en parafina para facilitar un corte de 5µm de grosor y finalmente ser coloreadas con la tinción hematoxilina-eosina.

Las mediciones histológicas se realizaron usando un microscopio óptico LEICA DM 750 conectado a una computadora, que cuenta con el programa LAS V4.13 SOFTWARE. Para tomar las mediciones se usó el objetivo de 4x.

Cada campo fue evaluado y se midieron solo las vellosidades integras (aquellas vellosidades y criptas cuyo epitelio se encuentre completo y continuo sin descamaciones ni fallas de montaje). Se realizaron 20 mediciones en cada lámina histológica para la altura, ancho, área de vellosidad y profundidad de cripta.

3.8.1. Mediciones realizadas

a. Altura de vellosidad

Se determinó midiendo la distancia entre el ápice y la base de la vellosidad.

b. Ancho de vellosidad

El ancho fue medido en el punto medio de cada vellosidad.

c. Profundidad de cripta

Se determinó midiendo la distancia entre la parte superior del tejido muscular liso y la base de la vellosidad.

d. Área de vellosidad

Fue hallada asumiendo que la vellosidad tiene una forma rectangular, según el protocolo usado Eusebio (2007). Se usó la siguiente fórmula:

$$\text{Área de vellosidad} = \text{altura de la vellosidad} * \text{grosor de la vellosidad} *$$

(* Promedio de medición de cada lámina histológica o unidad experimental).

e. **Relación entre la altura de vellosidad y la profundidad de cripta**

Esta relación resultó de la división del promedio de la altura de vellosidad y el promedio de la profundidad de cripta.

$$\text{Relación} = \frac{\text{Altura de vellosidad intestinal}}{\text{Profundidad de cripta de Lieberkühn}}$$

3.9. **Procedimiento para la medición de la morfometría ósea**

Se retiró las piernas a cada ave y se le amarró con un pabilo grueso que conjuntamente con una etiqueta servían para la identificación. Las piernas fueron puestas en agua hirviendo a 100 °C por 15 min para remover el tejido del hueso (Buckner *et al.*, 1950; Applegate y Lilburn, 2002), procedimiento que no altera el contenido mineral ni la densidad del hueso, pero permite retirar hasta el 80% de grasa contenida en los huesos (Almeida Paz *et al.*, 2008). Finalmente, los huesos fueron secados con papel absorbente, y colocados en envases descartables de plástico debidamente identificados. Pasados los 10 días de secado se procedió con las mediciones.

3.9.1. **Indicadores analizados**

a. **Medidas morfométricas**

- **Largo de la tibia**

Se determinó midiendo la distancia mayor de extremo a extremo de la tibia. Los valores se expresaron en milímetros(mm).

- **Ancho de la tibia**

Se determinó sacando un promedio de los diámetros latero-lateral (DLL) y los diámetros cráneo-caudal (DCC) de la diáfisis (Kocabagli, 2001; Applegate y Lilburn, 2002; Martínez, 2012). Se expresó en milímetros (mm).

$$DP = \frac{(DLL+DCC)}{2}$$

b. Indicadores de mineralización

- **Peso de la tibia**

El peso se tomó utilizando una balanza electrónica, con valores en miligramos (mg).

- **Índice modificado de Seedor**

Se determinó dividiendo el peso(mg) entre el largo del hueso (mm), como se muestra en la siguiente formula:

$$\text{Índice modificado de seedor} = \frac{\text{Peso, mg}}{\text{Largo, mm}}$$

- **Índice Quetelet**

Este índice reportado en mg/mm².Este índice se halla dividiendo el peso del hueso entre el cuadrado de la longitud, así como se muestra en la siguiente formula:

$$\text{Índice Quetelet} = \frac{\text{Peso, mg}}{(\text{Largo, mm})^2}$$

- **Índice de robusticidad**

Se calcula dividiendo el largo del hueso(mm) entre la raíz cubica del peso(g).

$$\text{Índice de robusticidad} = \frac{\text{Largo del hueso, mm}}{(\text{Peso del hueso, g})^{1/3}}$$

c. Prueba de resistencia

Realizadas todas las mediciones correspondientes a las características de integridad esquelética, se procedió con el ensayo de resistencia a la ruptura. Este procedimiento es un método destructivo, donde el hueso queda irreparablemente dañado y con la imposibilidad de poder realizarse mediciones complementarias (Shyam *et al.*, 2013). El valor de la resistencia se determinó con la utilización del durómetro en las unidades Kilogramo-fuerza (kgf).

El hueso del ave se apoya en la región epifisaria sobre la placa del durómetro, la fuerza aplicada a la parte central de la diáfisis. Este método calcula la resistencia a la fractura por flexión estática. El análisis se realiza con la máquina de ensayo mecánico Force Gauge Model FG-5020. Los datos son colectados en unidades kilogramo fuerza (kgf) y son directamente almacenados en la base de datos del equipo (Fioretti *et al.*, 2014).

d. Procedimiento para la obtención contenido de cenizas

Las tibias secadas y molidas se almacenan en crisoles para ser llevados a la mufla, donde son calcinadas a una temperatura de 550 °C por un tiempo de 5 horas. Se pesa la ceniza y se expresa como un porcentaje del peso seco del hueso.

3.10. Diseño estadístico

Los datos registrados fueron sometidos a un ANOVA bajo un diseño completo al azar con seis tratamientos y seis repeticiones. Para ello se utilizó el programa Statistic Analysis System-SAS. La comparación de medias se realizó a través de la prueba de Tukey.

El modelo aditivo lineal general aplicado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + e_{ij}$$

Y_{ij} : Respuesta observada en la j -ésima unidad experimental del i -ésimo tratamiento.

μ : Efecto de la media general.

t_i : Efecto del i -ésimo tratamiento ($i=1,2,3,4,5,6$)

e_{ij} : Efecto del error experimental

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Morfometría de las vellosidades intestinales

Los resultados obtenidos de las medidas morfométricas: altura, ancho, área de vellosidad, profundidad de cripta y relación altura de vellosidad: profundidad de cripta, de la porción de yeyuno de pollos de engorde de 21 días de edad, que fueron alimentados con diferentes niveles de harina de alga, se muestra en la Tabla 4.

Los valores promedios de las medidas morfométricas del yeyuno no fueron influenciados significativamente ($p > 0.05$) por los tratamientos. Estos resultados coinciden con lo reportado por Mohammadigheisar *et al.* (2020), quienes al evaluar una harina a base de algas verdes, marrones y rojas en cantidades de 5, 10, 20 g/kg de alimento en dietas de pollos de engorde, tampoco observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) para la altura, profundidad de cripta y relación altura de vellosidad: profundidad de cripta. Si bien estadísticamente no se encontraron diferencias, los promedios de las variables presentaban una tendencia a aumentar su valor numérico al incrementar la cantidad de harina de alga, así como en la investigación de Mohammadigheisar *et al.* (2020). Lo anteriormente mencionado podría implicar que a un mayor nivel se pueden hallar diferencias.

La altura de vellosidad no presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Tenorio (2015), quien al evaluar un extracto que contenía algas verdes, marrones, rojas en cantidades de 0.3%, 0.6%, 0.9% y 1.2% en dietas de pollos de engorde, tampoco encontró diferencias significativas en la altura y ancho de vellosidad ($p > 0.05$). Por otro lado, difieren de los resultados obtenidos por Abu & Hassan (2022), quienes sí encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) al incluir una harina de algas pardas al 2 %, obteniendo vellosidades más largas y anchas que sin el uso de estas.

Tabla 4: Efecto de inclusión de diferentes niveles de harina de alga sobre la altura, ancho, área de vellosidad, profundidad de cripta y relación altura con profundidad de cripta de las vellosidades intestinales del yeyuno²

MEDICIÓN	TRATAMIENTOS ¹					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Altura de vellosidad (µm)	648 ± 89 ^a	698 ± 74 ^a	673 ± 62 ^a	664 ± 84 ^a	650 ± 83 ^a	673 ± 85 ^a
Ancho de vellosidad (µm)	91 ± 7 ^a	102 ± 12 ^a	108 ± 16 ^a	105 ± 15 ^a	101 ± 10 ^a	93 ± 9 ^a
Área de vellosidad (µm²)	54897 ± 5864 ^a	66386 ± 5333 ^a	64867 ± 10981 ^a	64202 ± 15518 ^a	60009 ± 11610 ^a	59403 ± 10283 ^a
Profundidad de cripta (µm)	241 ± 54 ^a	225 ± 48 ^a	233 ± 33 ^a	216 ± 27 ^a	191 ± 21 ^a	197 ± 32 ^a
Relación altura con profundidad	2.78 ± 0.64 ^a	3.27 ± 0.94 ^a	2.96 ± 0.66 ^a	3.09 ± 0.22 ^a	3.42 ± 0.49 ^a	3.48 ± 0.63 ^a

^a: Valores con letras iguales en la misma fila indican que no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

¹: T₁, Dieta Control; T₂, Dieta con 0.10% de HA; T₃, Dieta con 0.20% de HA; T₄, Dieta con 0.30% de HA; T₅, Dieta con 0.40% de HA; T₆, Dieta con 0.50% de HA.

²: Valores son promedio ± Desviación estándar de doce animales por tratamiento.

Esta diferencia de resultados puede deberse al empleo exclusivo de un grupo de algas, como son las algas marrones, que contienen laminarina, un componente beneficioso que mejora la absorción mucosal y la síntesis de butirato, que conduce a la proliferación de enterocitos (Deville *et al.*, 2007); del mismo modo, Sweeney *et al.* (2016), observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) al suplementar con extracto de *Ascophyllum nodosum* (alga marrón) en una proporción de 1000 ppm en pollos de engorde hasta los 10 días de edad, mostrando una mayor altura y ancho de vellosidad. Sweeney *et al.* (2017), evaluaron el extracto de otra alga marrón, *Laminaria digitata*, del cual extrajeron laminarina y fucoidan que fueron usadas en una cantidad de 250 ppm, obteniendo la misma respuesta que en su estudio anterior, demostrando que al usar el extracto de algas marrones se obtiene un aumento significativo ($p < 0.05$) en el largo y ancho de vellosidad; Sweeney *et al.* (2017) usaron tecnologías para extracción de componentes bioactivos específicos (laminarina y fucoidán), con capacidad de mejorar la morfología intestinal (Walsh *et al.*, 2012).

La profundidad de cripta no presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$). Estos resultados coinciden con Liu *et al.* (2021) quienes, al evaluar un extracto de alga verde en cantidad de 1g/kg de alimento en dieta de pollos de engorde, tampoco obtuvieron diferencias significativas en la profundidad de cripta ($p > 0.05$) a nivel del yeyuno. También, Guo *et al.* (2020) no obtuvieron diferencias significativas en la profundidad ($p > 0.05$), al estudiar el efecto de los polisacáridos obtenidos de algas verdes, en cantidades de 1.0, 2.5, 5.0 g/kg de alimento en dietas en gallinas de postura durante seis semanas. Sin embargo, los resultados difieren de los obtenidos por Paul *et al.* (2021), quienes si encontraron diferencias significativas en la profundidad ($p < 0.05$), sus criptas fueron más profundas al emplear un extracto de algas del género *Kappaphycus spp.* en una proporción de 1.5 gramos por kilo de alimento en dietas de pollos de engorde; una mayor profundidad de la región de la cripta es explicada por una mayor replicación y multiplicación de enterocitos que luego formaran parte de la vellosidad, aunque este proceso puede estar asociado a un desprendimiento normal, también puede deberse a la inflamación generada por agentes patógenos, esta proliferación perjudica el rendimiento productivo del ave ya que requiere de una mayor cantidad de nutrientes para el mantenimiento de la función intestinal (Cunningham, 2005; Uni y Perry, 2006).

La relación altura de vellosidad: profundidad de cripta, no tuvieron diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$). Resultados similares fueron obtenidos por Balasubramanian *et al.* (2021), quienes estudiaron los efectos de la suplementación de harina de *Halymenia palmata* en cantidades de 0.05 %, 0.10 % , 0.15 %, 0.25 % en dietas de pollos de engorde, no encontraron diferencias significativas en esta relación ($p > 0.05$). Estos resultados son contrarios a los de Wassie *et al.* (2021), quienes al emplear el polisacárido del alga verde *Enteromorpha spp.* en la dieta de pollos en una proporción de 400 mg por kilogramo de alimento, presentaron diferencias significativas en la relación altura de vellosidad: profundidad de cripta ($p < 0.05$), al análisis histomorfométrico se observaron vellosidades más largas con menor profundidad de cripta. La mayor altura de vellosidad y la mayor relación entre altura de vellosidad y profundidad de cripta está asociada con una mitosis celular normal, mejor digestibilidad y por tanto mayor absorción de nutrientes; por otro lado, una disminución de la relación altura: profundidad significaría una mayor multiplicación y migración de enterocitos de la cripta (Hughes *et al.*, 2003; Montagne *et al.*, 2003).

El área de vellosidad en este estudio, no presento diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$). Estos resultados difieren de los obtenidos por Liu *et al.* (2020), quienes si encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) al emplear algas del género *Enteromorpha spp.* en cantidad de 5.5 g/kg de alimento; las vellosidades presentaron una mayor área que la dieta sin el uso de las algas. El área de vellosidad es una variable importante porque de ello depende la absorción de nutrientes, vellosidades más largas implican más área de absorción (Awad *et al.*, 2008). Kulshreshtha *et al.* (2014), al incluir diferentes niveles de algas entre verdes y rojas en las dietas de gallinas ponedoras, mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el área de vellosidad que el control (sin algas). Así mismo Cañedo *et al.* (2019) evaluaron un alga verde, *ulva rigida*, en cantidades de 2, 4, 6 % en la alimentación de pollos de engorde, obteniendo un mayor perímetro por vellosidad que sin el uso de esta, este factor es relevante ya que el aumento de la longitud generó un mayor perímetro, por tanto, una mayor superficie de acción para las enzimas del tracto intestinal, incrementando así la absorción y su capacidad digestiva (Velasco *et al.*, 2010).

4.2. Morfometría e indicadores de mineralización ósea de las tibias

En la Tabla 5 se muestran los promedios obtenidos de las variables morfométricas e indicadores de mineralización ósea de las tibias.

Al comparar los promedios de las variables morfométricas: largo y ancho de tibia, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0.05$). Los resultados obtenidos concuerdan con Carlos *et al.* (2011), quienes al evaluar harina de algas del género *Lithothamnium spp.* en dietas de pollos de engorde hasta un 1.4% de inclusión, tampoco obtuvieron diferencias significativas ($p > 0.05$) en el largo, ancho de tibia. De la misma manera, Bangun *et al.* (2013), al evaluar harina de algas del género *Gracilaria spp.* en raciones para pollos de engorde, tampoco encontraron diferencias significativas sobre el largo y ancho de tibia. Ambos estudios muestran que el empleo de algas en la alimentación de pollos de engorde no tiene efectos sobre la morfometría de la tibia. Es probable que los compuestos contenidos en las algas no contribuyan significativamente en mejorar la morfometría del hueso como si ocurre con algunos aditivos tales como prebióticos de tipo inulina o probióticos como *Enterococcus faecium*, cuyo accionar principal se basa en la manipulación del microbiota intestinal con la consecuente disminución del pH intestinal y finalmente la mejora en la absorción del calcio y fosforo (Chen & Chen, 2004; Wang *et al.*, 2020).

Así mismo, no se obtuvieron diferencias significativas ($p > 0.05$) para los indicadores de mineralización ósea: peso, índice de Seedor, índice de Quetelet, índice de Robusticidad, entre los tratamientos empleados. Estudios como los de Carlos *et al.* (2011) y Bagun *et al.* (2013), indican que no hay efectos significativos sobre el peso de los huesos; del mismo modo, Scherer (2020), tampoco encontró diferencias significativas ($p > 0.05$) sobre el peso del hueso al evaluar una harina de algas del género *Lithothamnium spp.* a un 0.68% de inclusión en dietas de lechones a diferentes niveles de reemplazo de fuentes de calcio tradicional. Flammini *et al.* (2016) tampoco se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) en el peso del fémur y la tibia al emplear harina de algas del género *Lithothamnium spp.* al 0.9 % de inclusión en dietas de ratas. Estas investigaciones evidenciarían que la adición de harina de algas no tiene efectos sobre la deposición de minerales en la matriz ósea.

Tabla 5: Características morfométricas e indicadores de mineralización ósea de las tibias de pollos de carne de 21 días de edad alimentados con diferentes niveles de harina de algas²

MEDICIÓN	TRATAMIENTOS ¹					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Largo de la tibia, mm	69.72±0.74 ^a	68.60±1.07 ^a	69.46±1.11 ^a	68.89±1.57 ^a	69.67±1.20 ^a	69.68±1.02 ^a
Ancho de la tibia, mm	6.30±0.24 ^a	6.02±0.18 ^a	6.08±0.22 ^a	6.11±0.22 ^a	6.14±0.38 ^a	6.37±0.31 ^a
Peso de la tibia, mg	2798 ± 132 ^a	2672 ± 131 ^a	2730 ± 80 ^a	2688 ± 168 ^a	2752 ± 130 ^a	2860 ± 234 ^a
Índice de Seedor, mg/mm	40.14±1.89 ^a	38.95±1.78 ^a	39.29± 0. 99 ^a	38.99±1.65 ^a	39.48±1.63 ^a	41.04±3.01 ^a
Índice de Quetelet, mg/mm ²	0.58±0.03 ^a	0.57±0.03 ^a	0.57±0.02 ^a	0.57±0.01 ^a	0.57±0.02 ^a	0.59±0.04 ^a
Índice de robusticidad, cm/ ³ √peso, g	49.50±0.86 ^a	49.47±0.87 ^a	49.74±0.69 ^a	49.58±0.42 ^a	49.76±0.82 ^a	49.15±1.03 ^a

^a: Valores con letras iguales en la misma fila indican que no son significativamente diferentes (p >0.05).

¹: T₁, Dieta Control; T₂, Dieta con 0.10% de HA; T₃, Dieta con 0.20% de HA; T₄, Dieta con 0.30% de HA; T₅, Dieta con 0.40% de HA; T₆, Dieta con 0.50% de HA.

²: Valores son promedio ± Desviación estándar de doce animales por tratamiento.

En tanto al índice de Seedor, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$), lo cual concuerda con lo reportado por Marques (2018), quien al evaluar el uso de una harina de algas (*Kappaphycus alvarezii*) en dietas de pollos de engorde con inclusión de hasta un 2%, no vio efectos significativos entre los diferentes tratamientos que suministró. Situación que difiere con Alves (2021), quien si encontró diferencias significativas al emplear harina de algas (*Lithothamnium calcareum*) solo hasta los 30 días de edad a un nivel de reemplazo de 1.5 %, mas no a los 15 o 45 días para la misma proporción. Estas diferencias de resultados podrían deberse a la edad a la que se tomó la muestra ósea, que en el caso de Marques y esta investigación fueron a los 21 días, además que el contenido de metabolitos en las algas varía de acuerdo a la ubicación, condiciones ambientales y la temporada de colecta (Peñavaler *et al.*, 2020).

Al comparar los resultados para los indicadores de mineralización en dietas con empleo de aditivos de carácter prebiótico o probiótico, no se mostraron efectos sobre estos indicadores. Zea (2020) no encontró diferencias significativas para estos índices al emplear la goma de tara, un producto de origen natural constituido por cadena de polisacáridos con características prebióticas como las algas. Álvarez (2022), al evaluar el reemplazo progresivo de bacitracina metileno disalicilato por *Enterococcus faecium* (probiótico) en la dieta de pollos de engorde, tampoco obtuvo efectos significativos para estos indicadores. El carácter prebiótico de la harina de algas no tendría efectos sobre la deposición mineral en las dietas de pollos de engorde, bajo las condiciones de trabajo de esta investigación.

4.3. Porcentaje de ceniza y resistencia ósea de las tibias

El porcentaje de ceniza y la resistencia ósea de las tibias no fueron diferentes entre los tratamientos ($p > 0.05$), tal como se muestra en la Tabla 6. Carlos *et al.* (2011), no encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) para la variable porcentaje de cenizas, al emplear harina de algas en dietas de pollos de engorde a una proporción de casi un 2 %, situación que es confirmada por el estudio de Marques (2018), quien tampoco encontró diferencias significativas para el porcentaje de ceniza y resistencia ($p > 0.05$) al emplear la harina de algas en una proporción de hasta 2% de inclusión. De la misma manera, Oliveira (2021), al estudiar el efecto de la harina de algas *Lithothamnium calcareum* en dietas de marranas, no reportó diferencias significativas ($p > 0.05$) en el porcentaje de ceniza y resistencia, al incluirla en 0.4%.

Tabla 6: Efecto de diferentes niveles de harina de algas sobre el porcentaje de ceniza y la resistencia de la tibia en pollos de 21 días de edad²

MEDICIÓN	TRATAMIENTOS ¹					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6
Ceniza, %	43.27±1.88 ^a	44.14±1.67 ^a	43.84±1.20 ^a	44.64±2.30 ^a	43.13±1.63 ^a	44.21±1.75 ^a
Resistencia, kgf*	34.30±7.50 ^a	37.07±7.78 ^a	35.61±6.12 ^a	33.97±3.64 ^a	37.83±7.09 ^a	38.63±9.20 ^a

^a: Valores con letras iguales en la misma fila indican que no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

¹: **T₁**, Dieta Control; **T₂**, Dieta con 0.10% de HA; **T₃**, Dieta con 0.20% de HA; **T₄**, Dieta con 0.30% de HA; **T₅**, Dieta con 0.40% de HA; **T₆**, Dieta con 0.50% de HA

²: Valores son promedio ± Desviación estándar de doce animales por tratamiento.

*kgf: kilogramo-fuerza

El porcentaje de ceniza es una variable asociada a la resistencia (Albright, 1987), considerando las investigaciones anteriores y ésta, se puede verificar que al no haber diferencias significativas en el porcentaje de ceniza tampoco habría efectos de este sobre la resistencia.

Resultados similares se obtienen al emplear la inulina, un aditivo con características prebióticas. Świątkiewicz *et al.* (2011), no observaron efectos del uso de la inulina sobre la resistencia de las tibias de pollos de engorde. Años más tarde, Kareem *et al.* (2015), al emplear la inulina conjuntamente con un probiótico en dietas en pollos de engorde, tampoco encontraron efectos significativos sobre la resistencia. Usar otro aditivo prebiótico como lo hizo Zea (2020), quien evaluó el efecto de la goma de tara en dietas de pollos, tampoco tuvo diferencias significativas sobre el porcentaje de cenizas y resistencia. Estas investigaciones mostrarían que no necesariamente el empleo de aditivos con características prebióticas tiene efectos significativos sobre la resistencia de los huesos bajo las condiciones ejecutadas en estas evaluaciones. Si bien no se obtuvo diferencias relevantes para el porcentaje de ceniza y resistencia, tampoco se presentaron efectos adversos sobre la calidad del hueso para ninguno de los tratamientos evaluados, situación que fue observado también por Carlos *et al.* (2011), quienes al querer sustituir la piedra caliza calcítica por harina de algas, tampoco notaron diferencias para así restringir su uso, habiendo la posibilidad de sustituir de manera parcial las fuentes tradicionales de calcio por harina de algas.

En el caso de la presente investigación, la harina de algas empleado no tiene efectos significativos sobre la morfometría intestinal y ósea, indicadores de mineralización, porcentaje de ceniza y resistencia ósea de tibias en pollos de engorde, tal como se demuestra en los resultados, mas podría ser evaluada por sus otros beneficios, al no tener efectos adversos sobre los parámetros analizados.

V. CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se llevó a cabo el presente estudio, se concluye:

1. La inclusión de harina de algas hasta un 0.5 % en la dieta no tuvo efectos significativos ($p>0.05$) sobre las medidas morfométricas intestinales: largo, ancho y área de vellosidad y profundidad de cripta del yeyuno de pollos de engorde de 21 días de edad.
2. La inclusión de harina de algas hasta un 0.5 % en la dieta no tuvo efectos significativos ($p>0.05$) sobre la morfometría ósea, indicadores de mineralización ósea, porcentaje de ceniza y resistencia ósea en tibias de pollos de engorde de 21 días de edad.

VI. RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio, se recomienda:

1. Evaluar el efecto de harina de algas usando concentraciones mayores a las empleadas en este estudio.
2. Evaluar el efecto de diferentes niveles de algas sobre los parámetros: colesterol total, capacidad antioxidante, análisis microbiológico intestinal, etc.
3. Evaluar este aditivo en la alimentación de otras especies y analizar sus efectos en la morfometría intestinal y ósea.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abu Hafsa, S. H., & Hassan, A. A. (2022). The Effect of *Sargassum siliquastrum* Supplementation on Growth Performance, Cecal Fermentation, Intestine Histomorphology, and Immune Response of Japanese Quails. *Animals: an open access journal from MDPI*, 12(4), 432. doi:10.3390/ani12040432
- Albright, J. A. (1987). Bone: Physical properties. En Albright, J. A. y Brand, R. A. (Eds). *The Scientific Basis of Orthopaedics*, 213-240. Norwalk, Appleton and Lang Publishers.
- Almeida, I., Mendes, A., Balog, A., Vulcano, C., Ballarin, A., Almeida, I., Takahashi, S., Komiyama, C., Silva, M., Cardoso, K. (2008). Study on the bone mineral density of broiler suffering femoral joint degenerative lesions. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*. 10. 103-108. doi:10.1590/S1516-635X2008000200005.
- Álvarez, J. (2022). Efecto del reemplazo progresivo de bacitracina metileno disalicilato por *Enterococcus faecium* sobre performance, morfometría intestinal y ósea en broilers (Tesis para optar el grado de Ingeniero Zootecnista, Universidad Nacional Agraria la Molina). Recuperado de: <https://hdl.handle.net/20.500.12996/5484>
- Alves, L. (2021) Desempenho de frangos de corte alimentados com rações adicionadas de diferentes níveis de *Lithothamnium calcareum* (Tesis de Maestría de la Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”). Recuperado de: <http://hdl.handle.net/11449/214709>.
- Angell, A. R., Angell, S. F., de Nys, R., & Paul, N. A. (2016). Seaweed as a protein source for mono-gastric livestock. *Trends in food science & technology*, 54, 74-84. doi:10.1016/j.tifs.2016.05.014

- Ansari, A., Alghanem, S. y Naeem, M. (2019). Brown Alga Padina: A review. *International Journal of Botany Studies*, 4(1)01-03, 2455-541. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/profile/Abid-Ansari>
5/publication/333879310_Brown_Alga_Padina_A_review/links/5d0a670ea6fdcc35c15b5c2d/Brown-Alga-Padina-A-review.pdf
- Applegate, T. J., & Lilburn, M. S. (2002). Growth of the femur and tibia of a commercial broiler line. *Poultry science*, 81(9), 1289–1294. doi:10.1093/ps/81.9.1289
- Awad, W., Ghareeb, K., & Böhm, J. (2008). Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a synbiotic containing *Enterococcus faecium* and oligosaccharides. *International journal of molecular sciences*, 9(11), 2205–2216. doi:10.3390/ijms9112205
- Badeca, R. dos S., Valentim, J. K., Garcia, R. G., Eberhart, B. de S., Serpa, F. C., Komiyama, C. M., Barbosa, D. K., & Przybulinski, B. B. (2020). Alga calcária na dieta de codornas japonesas melhora a espessura da casca dos ovos. *Encontro Internacional De Gestão, Desenvolvimento E Inovação (EIGEDIN)*, 4(1). Recuperado de <https://periodicos.ufms.br/index.php/EIGEDIN/article/view/11535>
- Balasubramanian, B., Shanmugam, S., Park, S., Recharla, N., Koo, J. S., Andretta, I., & Kim, I. H. (2021). Supplemental Impact of Marine Red Seaweed (*Halymenia palmata*) on the Growth Performance, Total Tract Nutrient Digestibility, Blood Profiles, Intestine Histomorphology, Meat Quality, Fecal Gas Emission, and Microbial Counts in Broilers. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11(5), 1244. doi: 10.3390/ani11051244
- Bangun, Gustina D. D., Mahfuds, L. & Sunarti D. (2013). Pengaruh Penggunaan Tepung Rumput Laut (*Gracilaria Verrucosa*) Dalam Ransum Ayam Broiler Terhadap Berat Dan Ukuran Tulang Tibia Dan Tarsometatarsus. *Animal Agriculture Journal*, 2,(1), pp. 489-496. <https://www.neliti.com/publications/183585/pengaruh-penggunaan-tepung-rumput-laut-gracilaria-verrucosa-dalam-ransum-ayam-br#cite>.

- Berrío, A. & Cardona, M. (2009). Evaluación productiva de una dieta alternativa como reemplazo parcial de concentrado comercial en aves de postura. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 14(2): 155-163. Recuperado de: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/rccp/article/view/323762>
- Bertoldo (2021). Alga calcárea na dieta de codornas japonesas (*Coturnix coturnix japônica*) em fase de recría.(tesis para obtener el grado de ingeniero zootecnista, Universidade Federal Da Grande Dourados). Recuperado de: <http://repositorio.ufgd.edu.br/jspui/handle/prefix/4698>
- Bocanegra, A., Bastida, S., Benedí, J., Ródenas, S., & Sánchez-Muniz, F. J. (2009). Characteristics and nutritional and cardiovascular-health properties of seaweeds. *Journal of medicinal food*, 12(2), 236–258. doi: 10.1089/jmf.2008.0151
- Brown, E.; Allsopp, P.; Magee, P.; Gill, C.; Nitecki, S.; Strain, C.; & McSorley, E. (2014). Seaweed and human health. *Nutrition reviews*, 72(3), 205–216. doi:10.1111/nure.12091
- Buckner, G. D., Insko Jr, W. M., Harms, A., & Wachs, E. F. (1950). The comparative rates of growth and calcification of the femur, tibia and metatarsus bones of the male and female New Hampshire chicken having straight keel. *Poultry Science*, 29(3), 332-335. doi: 10.3382/ps.0290332
- Bunker, F., Brodie, J., Maggs, C., Bunker, A. (2017). Seaweeds of Britain and Ireland (2nd ed.). U.K.: Wild Nature Press.
- Burtin, P. (2003). Nutritional value of seaweeds. *Electronic journal of Environmental, Agricultural and Food chemistry*, 2(4), 498-503.
- Cañedo-Castro, B., Piñón-Gimate, A., Carrillo, S., Ramos, D., & Casas-Valdez, M. (2019). Prebiotic effect of *Ulva rigida* meal on the intestinal integrity and serum cholesterol and triglyceride content in broilers. *Journal of Applied Phycology*, 31(5), 3265-3273. doi: 10.1007/s10811-019-01785-x

- Carlos, A. C., Sakomura, N. K., Pinheiro, S. R. F., Toledano, F. M. M., Giacometti, R., & Silva Júnior, J. W. D. (2011). Uso da alga *Lithothamnium calcareum* como fonte alternativa de cálcio nas rações de frangos de corte. *Ciência e Agrotecnologia*, 35, 833-839. doi: 10.1590/S1413-70542011000400025
- Carson, M. A., & Clarke, S. A. (2018). Bioactive Compounds from Marine Organisms: Potential for Bone Growth and Healing. *Marine drugs*, 16(9), 340. doi:10.3390/md16090340
- Changotade, S. I., Korb, G., Bassil, J., Barroukh, B., Willig, C., Collic-Jouault, S., Durand, P., Godeau, G., & Senni, K. (2008). Potential effects of a low-molecular-weight fucoidan extracted from brown algae on bone biomaterial osteoconductive properties. *Journal of biomedical materials research. Part A*, 87(3), 666–675. doi:10.1002/jbm.a.31819
- Chávez, L., López, A., & Parra, J. (2016). Crecimiento y desarrollo intestinal de aves de engorde alimentadas con cepas probióticas. *Archivos de Zootecnia*, 65(249), 51-58.
- Chen, Y.C. & Chen, T.C. (2004). Mineral Utilization in Layers as Influenced by Dietary Oligofructose and Inulin. *International Journal of Poultry Science*, 3, 442-445. doi: 10.3923/ijps.2004.442.445
- Cherry, P., O'Hara, C., Magee, P. J., McSorley, E. M., & Allsopp, P. J. (2019). Risks and benefits of consuming edible seaweeds. *Nutrition reviews*, 77(5), 307–329. doi: 10.1093/nutrit/nuy066
- Cherry, P., Yadav, S., Strain, C. R., Allsopp, P. J., McSorley, E. M., Ross, R. P. & Stanton, C. (2019). Prebiotics from Seaweeds: An Ocean of Opportunity? *Marine drugs*, 17(6), 327. doi:10.3390/md17060327
- Choi, Y., Hosseindoust, A., Goel, A., Lee, S., Jha, P. K., Kwon, I. K., & Chae, B. J. (2017). Effects of *Ecklonia cava* as fucoidan-rich algae on growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology and caecal microflora in weanling pigs. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 30(1), 64–70. doi:10.5713/ajas.16.0102

- Corino, C.; Modina, S. C.; Di Giancamillo, A.; Chiapparini, S. & Rossi, R. (2019). Seaweeds in Pig Nutrition. *Animals: an open access journal from MDPI*, 9(12), 1126. doi:10.3390/ani9121126
- Cunningham J. 2005. Digestión y absorción: los procesos no fermentativos. Tercera edición. Editorial Elsevier. Madrid - España 276 p.
- Dawczynski, C., Schubert, R., & Jahreis, G. (2007). Amino acids, fatty acids, and dietary fiber in edible seaweed products. *Food chemistry*, 103(3), 891-899. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.09.041
- De Jesús Raposo, M. F., de Morais, A. M., & de Morais, R. M. (2015). Marine polysaccharides from algae with potential biomedical applications. *Marine drugs*, 13(5), 2967–3028. doi: 10.3390/md13052967
- Denis C., Ledorze C., Jaouen P., Fleurence J. (2009). Comparison of different procedures for the extraction and partial purification of R-phycoerythrin from the red macroalga *Grateloupia turuturu*. *Botanica Marina*, 52(3), 278–281. doi:10.1515/bot.2009.034
- Deville, C., Gharbi, M., Dandrifosse, G., & Peulen, O. (2007). Study on the effects of laminarin, a polysaccharide from seaweed, on gut characteristics. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(9), 1717-1725. doi:10.1002/jsfa.2901
- Dilkin, J. D., Kolm, M. A., Barreta, M., Tavernari, F., Zampar, A., da Silva, A. S., & Boiogo, M. M. (2018). Uso de microalga na alimentação de codornas japonesas melhora a qualidade dos ovos. 28º Congresso Brasileiro de Zootecnia, Goiás, Brasil. <http://www.adaltech.com.br/anais/zootecnia2018/resumos/trab-1441.pdf>
- Dionizio, M. A. (2001) Prebióticos como promotores de crescimento para frangos de corte (Tesis de Maestría, Universidade Federal de Lavras). Recuperado de: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/rbz/v35n3/30064.pdf>.

- Dodds, W. (2020). Microbes and Plants. En W. K. Dodds, M. R. Whiles (Eds.), *Freshwater Ecology* (3rd ed., pp. 211–249). Elsevier. doi:10.1016/B978-0-12-813255-5.00009-0
- Durairaj, V. (2008). Femoral head disarticulation disorder in chickens. University of Arkansas.
- El Gamal A. A. (2010). Biological importance of marine algae. *Saudi pharmaceutical journal: SPJ: the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 18(1), 1–25. doi: 10.1016/j.jsps.2009.12.001
- Eusebio, P. 2007. Evaluación de la suplementación de extracto de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la dieta de pre-inicio sobre el 71 comportamiento productivo y la morfometría intestinal en pollos de carne (Tesis para optar el título de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional Agraria La Molina).
- FAO (2020). Perspectivas agrícolas FAO-OCDE 2020-2029. Recuperado de: <https://www.oecd-ilibrary.org>
- Fauziee, N., Chang, L., Mustapha, W., Nor, A., Lim, S. (2021). Functional polysaccharides of fucoidan, laminaran and alginate from Malaysian brown seaweeds (*Sargassum polycystum*, *Turbinaria ornata* and *Padina boryana*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 167, 1135-1145. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.11.067
- Fioretti, C., Natali, J., Galán, A., Rivera, M. C., Moine, R., Varela, P., ... y Quinteros, R. (2011). Características Mecánicas Dinámicas del Fémur Aislado de Perro, Sometido a Prueba de Impacto. *International Journal of Morphology* 29(3): 716-722.
- Flammini, L., Martuzzi, F., Vivo, V., Ghirri, A., Salomi, E., Bignetti, E., & Barocelli, E. (2016). Hake fish bone as a calcium source for efficient bone mineralization. *International journal of food sciences and nutrition*, 67(3), 265–273. <https://doi.org/10.3109/09637486.2016.1150434>

- Flemming, J. S. (2005) Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte (Tesis de Doctorado de la Universidade Federal do Paraná). Recuperado de: <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/2344/tese%20;jsessionid=5A51752832E56F6755DC518EEC8F4DB3?sequence=1>
- Fleurence, J., Gutbier, G., Mabeau, S., & Leray, C. (1994). Fatty acids from 11 marine macroalgae of the French Brittany coast. *Journal of Applied Phycology*, 6(5), 527-532. doi: 10.1007/BF02182406
- Gabrielson, P. W., Garbary, D. & Hommersand, M. H. (1986). Systematics of red algae (Rhodophyta). *Critical Reviews in Plant Sciences*, 3(4), 325–366. doi:10.1080/07352688609382215
- Ganesan, A. R.; Tiwari, U. & Rajauria, G. (2019). Seaweed nutraceuticals and their therapeutic role in disease prevention. *Food Science and Human Wellness*, 8(3),252-263. doi:10.1016/j.fshw.2019.08.001
- García, Y. & García, Y. (2015). Uso de aditivos en la alimentación animal: 50 años de experiencia en el Instituto de Ciencia Animal. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 49(2),173-177.Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=1930/193039698006>
- Garcia-Vaquero, M., Rajauria, G., O'Doherty, J. V., & Sweeney, T. (2017). Polysaccharides from macroalgae: Recent advances, innovative technologies and challenges in extraction and purification. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 99(Pt 3), 1011–1020. doi: 10.1016/j.foodres.2016.11.016
- Gibson, G. R., Probert, H. M., Loo, J. V., Rastall, R. A., & Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition research reviews*, 17(2), 259–275. doi:10.1079/NRR200479

- Guo, Y., Zhao, Z. H., Pan, Z. Y., An, L. L., Balasubramanian, B., & Liu, W. C. (2020). New insights into the role of dietary marine-derived polysaccharides on productive performance, egg quality, antioxidant capacity, and jejunal morphology in late-phase laying hens. *Poultry science*, *99*(4), 2100–2107. doi:10.1016/j.psj.2019.12.032
- Han, J. C., Qu, H. X., Wang, J. G., Chen, G. H., Yan, Y. F., Zhang, J. L., ... & Cheng, Y. H. (2015). Comparison of the growth and mineralization of the femur, tibia, and metatarsus of broiler chicks. *Brazilian Journal of Poultry Science*, *17*, 333-340. doi:10.1590/1516-635X1703333-340
- Han, Z. L., Yang, M., Fu, X. D., Chen, M., Su, Q., Zhao, Y. H., & Mou, H. J. (2019). Evaluation of Prebiotic Potential of Three Marine Algae Oligosaccharides from Enzymatic Hydrolysis. *Marine drugs*, *17*(3), 173. doi: 10.3390/md17030173
- Hasan, M. & Chakrabarti, R. (2009). Use of algae and aquatic macrophytes as feed in small-scale aquaculture: a review. *FAO fisheries and aquaculture technical paper*, 531. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-i1141e.pdf>
- Holdt, S. L., & Kraan, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal of applied phycology*, *23*(3), 543-597. doi:10.1007/s10811-010-9632-5
- Hsieh, Y., & Harris, P. J. (2019). Xylans of Red and Green Algae: What Is Known about Their Structures and How They Are Synthesised?. *Polymers*, *11*(2), 354. doi: 10.3390/polym11020354
- Hughes, R. J. (2003). Energy metabolism of chickens: physiological limitations. Rural Industries Research and Development Corporation. <http://www.rirdc.gov.au/reports/CME/02-151.pdf>
- Jin, X., Zhu, L., Li, X., Jia, J., Zhang, Y., Sun, X. & Ma, X. (2017). Low-molecular weight fucoidan inhibits the differentiation of osteoclasts and reduces osteoporosis in ovariectomized rats. *Molecular Medicine Reports*, *15*, 890-898. doi:10.3892/mmr.2016.6062

- John, D. M. (2015). Filamentous (Nonconjugating) and Plantlike Green Algae. En J.D. Wehr, J.P. Kociolek y R.G. Sheath (Eds.), *Freshwater Algae of North America* (2nded., pp. 375-427). Elsevier. doi:10.1016/B978-0-12-385876-4.00008-6
- Kareem, K., Loh, T., Foo, H., Samsudin, A., Akit, H., Abdulla, N. & Foong, O. (2015). Carcass, Meat and Bone Quality of Broiler Chickens Fed with Postbiotic and Prebiotic Combinations. *International Journal of Probiotics and Prebiotics*. 10. 23-30. <https://www.proquest.com/openview/de2d19fcfbb134907b469614320282de/1.pdf?pq-origsite=gscholar&cbl=136102>
- Kocabağlı, N. (2001). The effect of dietary phytase supplementation at different levels on tibial bone characteristics and strength in broilers. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 25(5), 797-802.
- Kraan S. (2012). Algal polysaccharides, novel applications and outlook. In: Chang CF, editor. *Carbohydrates—comprehensive studies on glycobiology and glycotecchnology*. Singapore.
- Kulshreshtha, G., Rathgeber, B., Stratton, G., Thomas, N., Evans, F., Critchley, A., Hafting, J., & Prithviraj, B. (2014). Feed supplementation with red seaweeds, *Chondrus crispus* and *Sarcodiotheca gaudichaudii*, affects performance, egg quality, and gut microbiota of layer hens. *Poultry science*, 93(12), 2991–3001. doi:10.3382/ps.2014-04200
- Kumari, P., Kumar, M., Gupta, V., Reddy, C. R. K., & Jha, B. (2010). Tropical marine macroalgae as potential sources of nutritionally important PUFAs. *Food Chemistry*, 120(3), 749-757. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.11.006
- Lafarga, T., Acién-Fernández, F. G., and Garcia-Vaquero, M. (2020). Bioactive peptides and carbohydrates from seaweed for food applications: natural occurrence, isolation, purification, and identification. *Algal Res.* 48:101909. doi: 10.1016/j.algal.2020.101909

Lakshmi, DS, Sankaranarayanan, S., Gajaria, TK, Li, G., Kujawski, W., Kujawa, J. y Navia, R. (2020). Una breve reseña sobre la valorización de las algas marinas verdes y el ulván: materia prima para productos químicos y biomateriales. *Biomoléculas*, 10 (7), 991. doi: 10.3390/biom10070991

Lee R.E. (2008) Phycology. URL:

https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=rHRJDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR11&dq=Lee+R.E.+Phycology.+4th+ed.+Cambridge+University+Press%3B+Cambridge,+U:+2008.+&ots=3A8AA_R3y_&sig=tIC-zlM71DuD5_UV8yZJKQgaCo&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false

Leliaert, F. (2019). Green Algae: Chlorophyta and Streptophyta. En T.M. Schmidt (Ed.), *Encyclopedia of Microbiology* (4thed., pp.457-468). Elsevier. doi:10.1016/B978-0-12-809633-8.20890-X

Leonard, S. G., Sweeney, T., Bahar, B., Lynch, B. P., & O'Doherty, J. V. (2011). Effect of dietary seaweed extracts and fish oil supplementation in sows on performance, intestinal microflora, intestinal morphology, volatile fatty acid concentrations and immune status of weaned pigs. *The British journal of nutrition*, 105(4), 549–560. doi:10.1017/S0007114510003739

Li, Q., Luo, J., Wang, C., Tai, W., Wang, H., Zhang, X., ... He, H. (2018). Ulvan extracted from green seaweeds as new natural additives in diets for laying hens. *Journal of Applied Phycology*, 30(3), 2017–2027. doi:10.1007/s10811-017-1365-2

Liu, W. C., Zhu, Y. R., Zhao, Z. H., Jiang, P., & Yin, F. Q. (2021). Effects of Dietary Supplementation of Algae-Derived Polysaccharides on Morphology, Tight Junctions, Antioxidant Capacity and Immune Response of Duodenum in Broilers under Heat Stress. *Animals: an open access journal from MDPI*, 11(8), 2279. doi:10.3390/ani11082279

- Liu, W. C., Guo, Y., Zhao, Z. H., Jha, R., & Balasubramanian, B. (2020). Algae-Derived Polysaccharides Promote Growth Performance by Improving Antioxidant Capacity and Intestinal Barrier Function in Broiler Chickens. *Frontiers in veterinary science*, 7, 601336. doi:10.3389/fvets.2020.601336
- Lopez, A.; Miranda, J. M.; Mondragon, A.; Lamas, A.; Cardelle, A.; Franco, C. M. & Cepeda, A. (2020). Potential Use of Marine Seaweeds as Prebiotics: A Review. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(4), 1004. doi:10.3390/molecules25041004
- Lopez-Huertas E. (2010). Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies. *Pharmacological research*, 61(3), 200–207. doi: 10.1016/j.phrs.2009.10.007
- MacArtain, P., Gill, C. I., Brooks, M., Campbell, R. & Rowland, I. R. (2007). Nutritional value of edible seaweeds. *Nutrition reviews*, 65(12 Pt 1), 535–543. doi: 10.1301/nr.2007.dec.535-543
- Macari, M. and A. Maiorka (2000). Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: Anais da Conferência Apinco de Ciencia e Tecnologia Avícolas. Campinas: FACTA. 2:161-174.
- Maehre, H. K., Malde, M. K., Eilertsen, K. E., & Elvevoll, E. O. (2014). Characterization of protein, lipid and mineral contents in common Norwegian seaweeds and evaluation of their potential as food and feed. *Journal of the science of food and agriculture*, 94(15), 3281–3290. doi: 10.1002/jsfa.6681
- Makkar, H., Tran, G., Heuzé, V., Giger, S., Lessire, M.; Lebas, F. & Ankers, P. (2016). Seaweeds for livestock diets: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 212, 1–17. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.09.018

- Mansilla A. & Alveal K. (2004) Generalidades sobre macroalgas. En C. Werlinger, *Biología Marina y Oceanografía: Conceptos y Procesos* (1sted., pp. 351-360). Editorial Concepción. <http://biblio3.url.edu.gt/Publi/Libros/2013/BioMarina/12.pdf>
- Marques, S. (2018). Adição da macroalga *Kappaphycus alvarezii* em rações de frangos de corte (Tesis de maestría, Universidad Federal Rural Do Rio de Janeiro). Recuperado de: <https://www.revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/17258>
- Martínez P., D. (2012). Evaluación de un producto a base de aceite esencial de orégano sobre la integridad intestinal, la capacidad de absorción de nutrientes y el comportamiento productivo de pollos de carne (Tesis de maestría, Universidad Nacional Agraria la Molina) recuperada de: <https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/2204/2204.03728.pdf>
- Melo, T., Ferreira, R., Oliveira, V., Carneiro, J., Moura, A., Silva, C., & Nery, V. (2008). Calidad del huevo de codornices utilizando harina de algas marinas y fosfato monoamónico. *Archivos de zootecnia*, 57(219),313-319. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49515005004>
- Mendis, E., & Kim, S. K. (2011). Present and future prospects of seaweeds in developing functional foods. *Advances in food and nutrition research*, 64, 1–15. doi: 10.1016/B978-0-12-387669-0.00001-6
- Mišurcová, L., Machů, L., & Orsavová, J. (2011). Seaweed minerals as nutraceuticals. *Advances in food and nutrition research*, 64, 371–390. doi: 10.1016/B978-0-12-387669-0.00029-6
- Mohammadigheisar, M., Shouldice, V. L., Sands, J. S., Lepp, D., Diarra, M. S., & Kiarie, E. G. (2020). Growth performance, breast yield, gastrointestinal ecology and plasma biochemical profile in broiler chickens fed multiple doses of a blend of red, brown and green seaweeds. *British poultry science*, 61(5), 590–598. doi:10.1080/00071668.2020.1774512

- Montagne, L., Pluske, J.R. and Hampson, D.J. (2003) A Review of Interactions between Dietary Fibre and the Intestinal Mucosa, and Their Consequences on Digestive Health in Young Non-Ruminant Animals. *Animal Feed Science Technology*, 108, 95-117. doi:10.1016/S0377-8401(03)00163-9
- Mukhopadhyaya, A., Vigors, S., O'Doherty, J. V., Meridith, H., Thornton, K., & Sweeney, T. (2016). Extracts of laminarin improve growth rate and small intestinal morphology in newborn chicks but do not influence *Campylobacter* colonization. *Journal of Animal Science*, 94(5), 454. doi: 10.2527/jam2016-0943
- Murata, M., & Nakazoe, J. (2001). Production and Use of Marine Algae in Japan. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 35(4), 281–290. doi:10.6090/jarq.35.281
- Narayan, B.; Miyashita, K. & Hosakawa, M. (2006). Physiological Effects of Eicosapentaenoic Acid (EPA) and Docosahexaenoic Acid (DHA)—A Review. *Food Reviews International*, 22(3), 291–307. doi:10.1080/87559120600694622
- Oliveira, J. M., Grech, J. M., Leonor, I. B., Mano, J. F., & Reis, R. L. (2007). Calcium-phosphate derived from mineralized algae for bone tissue engineering applications. *Materials Letters*, 61(16), 3495-3499. doi:10.1016/j.matlet.2006.11.099
- Oliveira, P. B. D., Murakami, A. E., Garcia, E. R. D. M., Macari, M., & Scapinello, C. (2000). Influence of antinutritional factors of leucaena (*Leucaena leucocephala* and *Leucaena cunningham*) and pigeon bean (*Cajanus cajan*) on the intestinal epithelium and performance of broiler chickens. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 29, 1759-1769. doi: 10.1590/S1516-35982000000600024.
- Oliveira, G. (2021). Algas marinhas calcárias na alimentação de fêmeas suínas (Tesis de Maestría de la Universidade Estadual do Oeste do Paraná). Recuperado de: <http://tede.unioeste.br/handle/tede/5794>

- Ortiz, J., Romero, N., Robert, P., Araya, J., Lopez-Hernández, J., Bozzo, C., Navarrete, E., Osorio & A., Rios, A. (2006). Dietary fiber, amino acid, fatty acid and tocopherol contents of the edible seaweeds *Ulva lactuca* and *Durvillaea antarctica*. *Food chemistry*, 99(1), 98-104. doi:10.1016/j.foodchem.2005.07.027
- Overland, M., Mydland, L. & Skrede, A. (2019). Marine macroalgae as sources of protein and bioactive compounds in feed for monogastric animals. *Journal of the science of food and agriculture*, 99(1), 13–24. doi: 10.1002/jsfa.9143
- Pango, A. (2021). Efecto de la espirulina (*Arthrospira platensis*) en parámetros productivos, morfometría intestinal y de tibia en pollos de engorde (Tesis para optar el grado de Ingeniero Zootecnista, Universidad Nacional Agraria la Molina). Recuperado de: <https://hdl.handle.net/20.500.12996/4732>
- Paz, I. C. L., & Bruno, L. D. G. (2006). Bone mineral density. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 8, 69-73. doi: 10.1590/S1516-635X2006000200001.
- Peñalver, R., Lorenzo, J., Ros, G., Amarowicz, R., Pateiro, M. & Nieto, G. (2020). Seaweeds as a Functional Ingredient for a Healthy Diet. *Marine drugs*, 18(6), 301. doi:10.3390/md18060301
- Paul, S. S., Vantharam Venkata, H. G. R., Raju, M. V., Rama Rao, S. V., Nori, S. S., Suryanarayan, S., Kumar, V., Perveen, Z., & Prasad, C. S. (2021). Dietary supplementation of extracts of red sea weed (*Kappaphycus alvarezii*) improves growth, intestinal morphology, expression of intestinales genes and immune responses in broiler chickens. *Journal of the science of food and agriculture*, 101(3), 997–1008. doi:10.1002/jsfa.10708
- Qin, Y. (2018). *Bioactive Seaweeds for Foods Applications: Nature Ingredients for Healthy Diets* (1st ed.). U.K.: Elsevier.
- Quitral, V., Morales, C., Sepúlveda, M., & Schwartz, M. (2012). Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencialidad como ingrediente funcional. *Revista chilena de nutrición*, 39(4), 196-202. doi:10.4067/S0717-75182012000400014

- Rajapakse, N., & Kim, S. K. (2011). Nutritional and digestive health benefits of seaweed. *Advances in food and nutrition research*, *64*, 17–28. doi:10.1016/B978-0-12-387669-0.00002-8
- Rajapakse, N., & Kim, S. K. (2011). Nutritional and digestive health benefits of seaweed. *Advances in food and nutrition research*, *64*, 17–28. doi: 10.1016/B978-0-12-387669-0.00002-8
- Rattigan, R., Sweeney, T., Maher, S., Thornton, K., Rajauria, G., & O'Doherty, J. V. (2020). Laminarin-rich extract improves growth performance, small intestinal morphology, gene expression of nutrient transporters and the large intestinal microbial composition of piglets during the critical post-weaning period. *The British journal of nutrition*, *123*(3), 255–263. doi: 10.1017/S0007114519002678
- Rocha, C. P., Pacheco, D., Cotas, J., Marques, J. C., Pereira, L., & Gonçalves, A. M. M. (2021). Seaweeds as Valuable Sources of Essential Fatty Acids for Human Nutrition. *International journal of environmental research and public health*, *18*(9), 4968. doi:10.3390/ijerph18094968
- Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F. J., Saljoughian, S., Amid, M., & Greiner, R. (2017). Application of seaweeds to develop new food products with enhanced shelf-life, quality and health-related beneficial properties. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, *99*(Pt 3), 1066–1083. doi: 10.1016/j.foodres.2016.08.016
- Rupérez, P. (2002). Mineral content of edible marine seaweeds. *Food chemistry*, *79*(1), 23–26. doi: 10.1016/S0308-8146(02)00171-1
- Ryu, B., Li, Y., Qian, Z. J., Kim, M. M., & Kim, S. K. (2009). Differentiation of human osteosarcoma cells by isolated phlorotannins is subtly linked to COX-2, iNOS, MMPs, and MAPK signaling: implication for chronic articular disease. *Chemico-biological interactions*, *179*(2-3), 192–201. doi:10.1016/j.cbi.2009.01.006

- Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Seca, A., Pinto, D., Michalak, I., Trincone, A., Mishra, A. P., Nigam, M., Zam, W., & Martins, N. (2019). Current Trends on Seaweeds: Looking at Chemical Composition, Phytopharmacology, and Cosmetic Applications. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *24*(22), 4182. doi:10.3390/molecules24224182
- Sánchez-Machado, D. I., López-Cervantes, J., Lopez-Hernandez, J., & Paseiro-Losada, P. (2004). Fatty acids, total lipid, protein and ash contents of processed edible seaweeds. *Food chemistry*, *85*(3), 439-444. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.08.001
- Scherer, C. (2020). Características ósseas, microbiológicas e intestinais de leitões alimentados com algas marinhas calcílicas (Tesis de Maestría- Universidade Estadual do Oeste do Paraná). Recuperado de: <http://tede.unioeste.br/handle/tede/5325>
- Schmid, M., Kraft, L. G. K., van der Loos, L. M., Kraft, G. T., Virtue, P., Nichols, P. D., & Hurd, C. L. (2018). Southern Australian seaweeds: A promising resource for omega-3 fatty acids. *Food chemistry*, *265*, 70–77. doi:10.1016/j.foodchem.2018.05.060
- Scholz-Ahrens, K., & Schrezenmeir, J. (2002). Inulin, oligofructose and mineral metabolism experimental data and mechanism. *British Journal of Nutrition*, *87*(S2), S179-S186. doi:10.1079/BJN/2002535
- Seedor, J. G., Quartuccio, H. A., & Thompson, D. D. (1991). The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, *6*(4), 339–346. doi: 10.1002/jbmr.5650060405
- Shannon, E., Conlon, M., & Hayes, M. (2021). Seaweed Components as Potential Modulators of the Gut Microbiota. *Marine drugs*, *19*(7), 358. doi:10.3390/md19070358

- Shokaiyan, M., Ashayerizadeh, O., Shams Shargh, M., & Dastar, B. (2019). Algal Crude Fucoidan Alone or with *Bacillus subtilis* DSM 17299 in Broiler Chickens Diet: Growth Performance, Carcass Characteristics, Blood Metabolites, and Morphology of Intestine. *Poultry Science Journal*, 7(1), 87-94. doi: 10.22069/psj.2019.16314.1411
- Shyam, S.G., Vijay, K.Ch., Panda, A.K., Raju, M.V., Rama, S.V. 2013. Effect of Supplemental Organic Zn and Mn on Broiler Performance, Bone Measures, Tissue Mineral Uptake and Immune Response at 35 Days of Age. *Current Research in Poultry Science*, 3: 1-11. doi: 10.3923/crpsaj.2013.1.11
- Silva, Y. (2012). Use of the alga *Lithothamnium calcareum* for laying hens (Tesis de Maestría- Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia). Recuperado de: <https://doi.org/10.14393/ufu.di.2012.348>
- Škrovánková S. (2011). Seaweed vitamins as nutraceuticals. *Advances in food and nutrition research*, 64, 357–369. doi: 10.1016/B978-0-12-387669-0.00028-4
- Stiger-Pouvreau, V., Bourgougnon, N., and Deslandes, E. (2016). “Carbohydrates from seaweeds,” in *Seaweed in health and disease prevention*, eds J. Fleurence and I. Levine (Cambridge: Academic press), 223–274. doi: 10.1016/B978-0-12-802772-1.00008-7
- Surget, G., Roberto, V. P., Le Lann, K., Mira, S., Guérard, F., Laizé, V., ... & Stiger-Pouvreau, V. (2017). Marine green macroalgae: A source of natural compounds with mineralogenic and antioxidant activities. *Journal of applied phycology*, 29, 575-584. doi:10.1007/s10811-016-0968-3
- Suryanarayana, U. & Banerjee, A. K. (2011). Seaweeds: The Wealth of Oceans. Handbook of Marine Macroalgae, 36–44. doi: 10.1002/9781119977087.ch2

- Susanto, E., Fahmi, A. S., Abe, M., Hosokawa, M., & Miyashita, K. (2016). Lipids, fatty acids, and fucoxanthin content from temperate and tropical brown seaweeds. *Aquatic Procedia*, 7, 66-75. doi: 10.1016/j.aqpro.2016.07.009
- Sweeney, T., Meredith, H., Ryan, M. T., Gath, V., Thornton, K., & O'Doherty, J. V. (2016). Effects of *Ascophyllum nodosum* supplementation on *Campylobacter jejuni* colonisation, performance and gut health following an experimental challenge in 10-day old chicks. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 37, 247-252. doi: 10.1016/j.ifset.2016.03.016
- Sweeney, T., Meredith, H., Vigors, S., McDonnell, M. J., Ryan, M., Thornton, K., & O'Doherty, J. V. (2017). Extracts of laminarin and laminarin/fucoidan from the marine macroalgal species *Laminaria digitata* improved growth rate and intestinal structure in young chicks, but does not influence *Campylobacter jejuni* colonisation. *Animal Feed Science and Technology*, 232, 71-79. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2017.08.001
- Świątkiewicz, S., Koreleski, J. & Arczewska-Włosek, A. (2011). Effect of inulin and oligofructose on performance and bone characteristics of broiler chickens fed on diets with different concentrations of calcium and phosphorus. *British Poultry Science*, 52, 100-106. doi:10.1080/00071724.2011.593180
- Perry, G. C. (2006). Early Development Of Small Intestinal Function.. *Avian Gut Function in Health and Disease*, 29-42. doi:10.1079/9781845931803.0029
- Tanna, B., & Mishra, A. (2018). Metabolites Unravel Nutraceutical Potential of Edible Seaweeds: An Emerging Source of Functional Food. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 17(6), 1613–1624. doi: 10.1111/1541-4337.12396
- Tenorio, A. (2015). Avaliação de desempenho, morfometria intestinal e qualidade de carne de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com extrato de algas (Tesis de Maestría, Universidade Tecnológica Federal do Paraná). Recuperado de: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/1524>
- Uni, Z., Perry, G. C. (2006). Early Development of Small Intestinal Function. *Avian Gut Function in Health and Disease*, 29-42. doi:10.1079/9781845931803.0029

- Usov A. I. (2011). Polysaccharides of the red algae. *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry*, 65, 115–217. doi:10.1016/B978-0-12-385520-6.00004-2
- Velasco, S., Rodríguez, M., Alzuela, M., Rebolé, A. & Ortiz, L. (2010) Los prebióticos tipo inulina en alimentación aviar. I: Características y efectos a nivel intestinal. *Rev Complutense Cien Vet* 4:87–104. <https://core.ac.uk/download/pdf/38809902.pdf>
- Walsh, A. M., Sweeney, T., O'Shea, C. J., Doyle, D. N., & O'Doherty, J. V. (2013). Effect of dietary laminarin and fucoidan on selected microbiota, intestinal morphology and immune status of the newly weaned pig. *The British journal of nutrition*, 110(9), 1630–1638. doi:10.1017/S0007114513000834
- Walsh, A. M., Sweeney, T., O'Shea, C. J., Doyle, D. N., & O'Doherty, J. V. (2012). Effects of supplementing dietary laminarin and fucoidan on intestinal morphology and the immune gene expression in the weaned pig. *Journal of animal science*, 90 (4), 284–286. doi:10.2527/jas.53949
- Wang, W., Cai, H., Zhang, A., Chen, Z., Chang, W., Liu, G., Deng, X., Bryden, W. L., & Zheng, A. (2020). *Enterococcus faecium* Modulates the Gut Microbiota of Broilers and Enhances Phosphorus Absorption and Utilization. *Animals: an open access journal from MDPI*, 10(7), 1232. doi:10.3390/ani10071232
- Wang, Y., Han, F., Hu, B., Li, J., & Yu, W. (2006). In vivo prebiotic properties of alginate oligosaccharides prepared through enzymatic hydrolysis of alginate. *Nutrition Research*, 26(11), 597-603. doi:10.1016/j.nutres.2006.09.015
- Wassie, T., Lu, Z., Duan, X., Xie, C., Gebeyew, K., Yumei, Z., Yin, Y., & Wu, X. (2021). Dietary *Enteromorpha* Polysaccharide Enhances Intestinal Immune Response, Integrity, and Caecal Microbial Activity of Broiler Chickens. *Frontiers in nutrition*, 8, 783819. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.783819>
- Wehr, J. (2003). Brown algae. En J.D. Wehr y R.G. Sheath (Eds.), *Freshwater Algae of North America* (1sted., pp. 757-773). Elsevier. doi:10.1016/B978-012741550-5/50023-4

- Wideman, R. F. (1987). Renal Regulation of Avian Calcium and Phosphorus Metabolism. *The Journal of Nutrition*, 117(4), 808–815. doi:10.1093/jn/117.4.808
- Wong, K.H.P. & Cheung, C.K. (2000) Nutritional Evaluation of Some Subtropical Red and Green Seaweeds Part I: Proximate Composition, Amino Acid Profiles and Some Physico-Chemical Properties. *Food Chemistry*, 71, 475-482. doi:10.1016/S0308-8146(00)00175-8
- Xu, Z. R., Hu, C. H., Xia, M. S., Zhan, X. A., & Wang, M. Q. (2003). Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poultry science*, 82(6), 1030–1036. doi:10.1093/ps/82.6.1030
- Yamaguchi, M. & Matsumoto, T. (2012) Marine algae *Sargassum horneri* bioactive factor stimulates osteoblastogenesis and suppresses osteoclastogenesis in vitro. *OABiotechnology 1*:3-9. doi: 10.13172/2052-0069-1-1-277
- Yaqoob, M. U., El-Hack, M. E. A., Hassan, F., El-Saadony, M. T., Khafaga, A. F., Batiha, G. E., Yehia, N., Elnesr, S. S., Alagawany, M., El-Tarabily, K. A., & Wang, M. (2021). The potential mechanistic insights and future implications for the effect of prebiotics on poultry performance, gut microbiome, and intestinal morphology. *Poultry science*, 100(7), 101143. doi:10.1016/j.psj.2021.101143
- Yeo, M., Jung, W. K., & Kim, G. (2012). Fabrication, characterisation and biological activity of phlorotannin-conjugated PCL/ β -TCP composite scaffolds for bone tissue regeneration. *Journal of Materials Chemistry*, 22(8), 3568-3577. Doi:10.1039/C2JM14725D
- Yu S.K., Blennow A., Bojko M., Madsen F., Olsen C.E., Engelsen S.B. (2002). Physico-chemical Characterization of Floridean Starch of Red Algae . *Starch-Starke*, 54(2), 66–74. doi:10.1002/1521-379x(200202)54:2<66::aid-star66>3.0.co;2-b

Zea, O. (2020). Morfometría ósea e intestinal, colesterol sanguíneo y sus interrelaciones en Broilers alimentados con diferentes niveles de goma de Tara (*Caesalpinia spinosa*) (Tesis de doctorado, Universidad Nacional Agraria la Molina). Recuperado de: <https://hdl.handle.net/20.500.12996/4470>

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Comportamiento morfométrico intestinal de pollos de carne alimentados con dietas de diferentes niveles de reemplazo de harina de algas (Período de 1 a 21 días de edad)

Tratamiento	Repetición	Largo	Ancho	Área	Profundidad	Relación
1	1	622.628	96.225	54837.774	197.946	3.145
1	2	716.844	82.625	55656.792	344.027	2.084
1	3	536.229	99.844	49625.605	257.413	2.083
1	4	778.548	84.926	64291.531	211.302	3.685
1	5	651.704	91.145	57160.832	209.378	3.113
1	6	581.866	93.859	47812.701	225.617	2.579
2	1	552.873	121.703	65691.070	264.706	2.089
2	2	713.844	112.188	74989.866	210.581	3.390
2	3	701.263	90.931	63654.984	226.671	3.094
2	4	716.785	92.069	59127.468	293.360	2.443
2	5	754.003	98.130	65783.651	163.393	4.615
2	6	751.280	97.201	69067.816	189.360	3.967
3	1	618.500	88.883	50327.013	257.542	2.402
3	2	593.220	104.377	52499.917	226.471	2.619
3	3	714.790	114.122	74906.868	267.817	2.669
3	4	742.152	95.432	65754.243	184.843	4.015
3	5	643.921	134.611	70712.004	255.706	2.518
3	6	723.926	108.056	75004.087	203.060	3.565

... Continuación

Tratamiento	Repetición	Largo	Ancho	Área	Profundidad	Relación
4	1	728.110	93.881	60474.168	224.379	3.245
4	2	696.767	102.032	63849.267	204.880	3.401
4	3	764.614	131.722	92504.245	249.938	3.059
4	4	530.697	90.130	46163.519	172.202	3.082
4	5	642.878	103.468	65828.751	233.746	2.750
4	6	624.155	108.135	56393.723	208.354	2.996
5	1	524.127	98.630	47645.596	197.727	2.651
5	2	607.603	101.159	55228.310	168.937	3.597
5	3	614.118	87.097	48331.673	190.144	3.230
5	4	704.418	98.301	62464.692	175.224	4.020
5	5	743.380	109.476	75235.774	228.598	3.252
5	6	709.361	114.556	71147.464	187.157	3.790
6	1	790.802	107.707	74209.502	223.367	3.540
6	2	760.075	98.748	69888.117	226.991	3.348
6	3	651.862	85.797	55378.413	168.743	3.863
6	4	575.559	90.027	50298.724	213.573	2.695
6	5	653.578	93.215	56956.026	146.504	4.461
6	6	605.861	83.876	49686.476	203.487	2.977

Anexo 2: Comportamiento morfométrico óseo y peso en tibias de pollos de carne alimentados con dietas de diferentes niveles de reemplazo de harina de algas (Período de 1 a 21 días de edad)

Tratamiento	Repetición	Largo	Ancho	Peso
1	1	69.17	6.39	2611.35
1	2	70.25	5.91	2727.45
1	3	69.41	6.17	2720.15
1	4	70.26	6.27	2868.60
1	5	70.56	6.52	2917.25
1	6	68.70	6.53	2945.60
2	1	68.32	5.80	2575.20
2	2	67.82	5.88	2580.85
2	3	70.66	6.07	2705.00
2	4	67.77	5.94	2524.50
2	5	68.70	6.24	2833.75
2	6	68.37	6.22	2811.35
3	1	68.54	6.45	2799.05
3	2	68.91	5.84	2723.85
3	3	69.56	6.09	2657.00
3	4	70.97	6.19	2825.20
3	5	70.57	5.94	2752.55
3	6	68.25	5.93	2620.45

... Continuación

Tratamiento	Repetición	Largo	Ancho	Peso
4	1	70.51	6.37	2866.85
4	2	70.54	6.25	2823.45
4	3	67.63	5.75	2479.95
4	4	69.60	6.17	2821.15
4	5	68.26	6.00	2590.95
4	6	66.79	6.11	2546.50
5	1	69.44	6.29	2870.35
5	2	70.80	5.75	2723.55
5	3	68.28	5.59	2553.90
5	4	70.21	6.46	2912.80
5	5	68.29	6.48	2689.10
5	6	70.99	6.25	2762.95
6	1	68.54	6.29	2722.10
6	2	69.28	6.22	2747.90
6	3	70.24	6.17	2618.75
6	4	68.84	6.30	2882.20
6	5	71.32	7.00	3286.25
6	6	69.86	6.27	2904.00

Anexo 3: Índice de Seedor, índice de Quetelet e índice de robusticidad en tibia

Tratamiento	Repetición	I. Seedor	I. Quetelet	I. Robusticidad
1	1	37.75	0.55	5.023
1	2	38.83	0.55	5.028
1	3	39.17	0.56	4.977
1	4	40.84	0.58	4.944
1	5	41.35	0.59	4.938
1	6	42.88	0.62	4.792
2	1	37.68	0.55	4.985
2	2	38.06	0.56	4.944
2	3	38.29	0.54	5.074
2	4	37.26	0.55	4.980
2	5	41.26	0.60	4.856
2	6	41.13	0.60	4.844
3	1	40.88	0.60	4.864
3	2	39.50	0.57	4.937
3	3	38.20	0.55	5.022
3	4	39.76	0.56	5.033
3	5	39.01	0.55	5.036
3	6	38.39	0.56	4.951

...Continuación

Tratamiento	Repetición	I. Seedor	I. Quetelet	I. Robusticidad
4	1	40.67	0.58	4.966
4	2	40.01	0.57	4.996
4	3	36.64	0.54	4.998
4	4	40.53	0.58	4.926
4	5	37.96	0.56	4.971
4	6	38.13	0.57	4.891
5	1	41.33	0.60	4.886
5	2	38.47	0.54	5.071
5	3	37.38	0.55	4.995
5	4	41.48	0.59	4.916
5	5	39.36	0.58	4.916
5	6	38.85	0.55	5.069
6	1	39.68	0.58	4.914
6	2	39.67	0.57	4.946
6	3	37.29	0.53	5.096
6	4	41.86	0.61	4.838
6	5	46.19	0.65	4.802
6	6	41.58	0.60	4.896

Anexo 4: Resistencia y porcentaje de ceniza en tibia

Tratamiento	Repetición	Resistencia	Ceniza (%)
1	1	37.28	40.10
1	2	22.70	43.33
1	3	29.45	42.99
1	4	42.85	43.09
1	5	40.60	45.78
1	6	32.93	44.35
2	1	30.58	43.76
2	2	38.78	47.16
2	3	26.10	42.33
2	4	39.85	43.05
2	5	38.83	44.03
2	6	48.30	44.51
3	1	34.55	44.72
3	2	43.85	42.99
3	3	32.88	44.52
3	4	29.28	44.89
3	5	30.70	41.81
3	6	42.43	44.11

... Continuación

Tratamiento	Repetición	Resistencia	Ceniza (%)
4	1	36.13	42.65
4	2	35.75	49.13
4	3	35.43	44.48
4	4	37.75	44.15
4	5	29.30	43.29
4	6	29.48	44.15
5	1	40.83	42.21
5	2	48.63	42.46
5	3	27.33	41.41
5	4	34.48	44.98
5	5	36.43	42.36
5	6	39.30	45.36
6	1	22.00	43.97
6	2	36.85	41.75
6	3	44.73	45.20
6	4	39.48	44.47
6	5	48.80	46.82
6	6	39.95	43.06