Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

Efecto pigmentante de tres dosis de harina de alfalfa (*Medicago sativa*) cosechada en dos horarios diferentes del día sobre los tarsos de pollos de engorde

TESIS

Para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria

AUTOR

Patricia ALMIDÓN VILLACRESIS

ASESOR

Dr. Jimny Yoel NÚÑEZ DELGADO

Lima, Perú

2024



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Almidón P. Efecto pigmentante de tres dosis de harina de alfalfa (*Medicago sativa*) cosechada en dos horarios diferentes del día sobre los tarsos de pollos de engorde [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2024.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Patricia Almidón Villacresis
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	47500769
URL de ORCID	-------
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Jimny Yoel Núñez Delgado
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	44411070
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-6310-418X
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Miguel Angel Ara Gómez
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	00064196.
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Nadia Edith Fuentes Neira
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	00011031
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Roberto Del Aguila Lomas
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	00011031

Datos de investigación	
Línea de investigación	B.4.2.1. Producción avícola y especies menores
Grupo de investigación	Anatomía veterinaria
Agencia de financiamiento	Fondos propios
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Dirección: Av. Circunvalación 2800 Latitud: -12.08348 Longitud: -76.984573
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Setiembre 2022 – noviembre 2024
URL de disciplinas OCDE	Ciencia veterinaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.03.01

Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú, Decana de América
Facultad de Medicina Veterinaria
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA

En el Aula posgrado de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día jueves 03 de octubre de 2024, a las 12: 00 horas, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° **0104-EPMV/FMV-2024** integrado por los siguientes profesores:

Ing.Agr. PhD. ARA GÓMEZ MIGUEL ANGEL	**Presidente del Jurado**
MV. Dr. NÚÑEZ DELGADO JIMNY YOEL	**Asesor de la Tesis**
MV. FUENTES NEIRA NADIA EDITH	**Miembro del Jurado**
Ing.Agr. Mg. DEL AGUILA LOMAS ROBERTO	**Miembro del Jurado**

Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, la Bachiller Doña: **ALMIDÓN VILLACRESIS PATRICIA**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinaria, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

"EFECTO PIGMENTANTE DE TRES DOSIS DE HARINA DE ALFALFA (*Medicago sativa*) COSECHADA EN DOS HORARIOS DIFERENTES DEL DÍA SOBRE LOS TARSOS DE POLLOS DE ENGORDE"

Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria de la Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **diecisiete (17).**

Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIA** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las 13:10 horas, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

UNMSM Firmado digitalmente por ARA GOMEZ Miguel Angel FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 09.01.2025 10:28:45 -05:00

Ara Gómez Miguel Ángel Ing. Agr.PhD Prof. Principal DE

UNMSM Firmado digitalmente por NUÑEZ DELGADO Jimny Yoel FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 09.01.2025 22:08:00 -05:00

Núñez Delgado Jimny Yoel: MV. Dr. Prof. Auxiliar, TC

UNMSM Firmado digitalmente por FUENTES NEIRA Nadia Edith FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 11.01.2025 18:04:48 -05:00

Fuentes Neira, Nadia Edith: MV. Prof. Auxiliar T.C.

Del Aguila Lomas Roberto Ing. Agr.Mg. Prof. Auxiliar, TC

Escaneado con CamScanner

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo Jimny Yoel Nuñez Delgado en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Decanal N° 0025-EPMV/FMV-2021 de la tesis, cuyo título es “Efecto pigmentante de tres dosis de harina de alfalfa (*Medicago sativa*) cosechada en dos horarios diferentes del dia sobre los tarsos de pollos de engorde”, presentado por la bachiller PATRICIA ALMIDÓN VILLACRESIS para optar el título de Médico Veterinario, CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de 11% de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título profesional correspondiente.

UNMSM
Firmado digitalmente por NUÑEZ DELGADO Jimny Yoel FAU 20148092282 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 15.02.2025 21:15:38 -05:00

Firma del Asesor _____

DNI:44411070

Nombres y apellidos del asesor: Jimny Yoel Nuñez Delgado



DEDICATORIA

Para mi padre, Miguel Almidón Palomino, por brindarme los recursos necesarios para finalizar mis estudios universitarios y desarrollar mi tesis, siendo este logro académico un reflejo de su inversión en mi formación.

Para las mascotas que me acompañaron durante mi niñez y adolescencia, y cuyo impacto significativo fue fundamental en mi vida para decidir estudiar esta noble profesión.

Y para mí, por no haberme rendido nunca, desde mi profundo anhelo de ingresar a una gran universidad como San Marcos, hasta hoy, en que redacto mi tesis. Este resultado es producto de esfuerzo, dedicación y perseverancia.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Jimny Núñez, por su ayuda y consejos como asesor así como ser guía para realizar mi tesis.

A todos en el Laboratorio de Producción Avícola y Especies Menores de la FMV-UNMSM, por las facilidades con el galpón y por su ayuda. Sobre todo, a Joel Cuenca por su apoyo antes y durante la crianza de los pollos.

A los Dres. Fritz Trillo, Marcial Enciso, Samuel Pizarro y Marco Gutiérrez, gracias a todos por su apoyo para mejorar este trabajo de investigación y sus valiosas recomendaciones.

A la familia Trillo Zárate, por haberme alojado durante mis días en Huachac (Junín), además de su gran ayuda en la cosecha de alfalfa. Siempre los llevare en mi mente.

A mi madrina Luisa Almidón, que siempre me alentó durante mi toda mi etapa universitaria.

A mi novio Manuel Venegas Saldaña, por ser un gran soporte emocional en toda esta travesía.

Y a todos mis familiares, amigas y compañeras de la universidad, que ayudaron de diversas maneras a que el camino de hacer la tesis sea más llevadero.

INDICE GENERAL

RESUMEN 15
ABSTRACT 16
I. INTRODUCCIÓN 17
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA 18
2.1 Ecofisiologia de la alfalfa 18
2.1.1 La célula vegetal 18
2.1.2 El cloroplasto 18
2.1.3 Pigmentos fotosintéticos y accesorios 18
2.1.4 La fotosíntesis 19
2.1.5 Radiación solar 19
2.1.6 Ciclo de las xantofilas 20
2.1.7 La alfalfa 23
2.1.8 Alfalfa como pigmentante 24
2.1.9 Composición nutricional de la harina de alfalfa 24
2.2 Pigmentación del pollo de engorde 26
2.2.1 Fisiología de la pigmentación 26
2.2.2 Técnicas de medición de la pigmentación 26
2.2.3 Factores que alteran la pigmentación del pollo de engorde y la harina de alfalfa 27
2.2.4 Pigmento naturales y sintéticos usados en avicultura 29
III. MATERIALES Y MÉTODOS 30
3.1 Lugar de ejecución y periodo de duración 30
3.2 Fase 1. Obtención de la harina de la alfalfa (cosecha, deshidratación y molienda) 31
3.3 Fase 2. Crianza de los pollos 36
3.4 Variables evaluadas 38
3.5 Descripción del material experimental 40
3.6 Diseño experimental 40
3.7 Tamaño de muestra 41
3.8 Análisis estadístico 41
3.9 Análisis de correlación intraclase e intervalos de confianza 42
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 43
4.1 Radiación solar incidente 43
4.2 Reflectancia espectral del cultivo de alfalfa 44
4.3 Coeficiente de correlación intracluster 45
4.4 Intervalos de confianza 46

4.5 Parámetros productivos 47
4.6 Pigmentación de tarsos de pollos de engorde Cobb500 48
4.6.a Niveles de inclusión de harina de alfalfa en la dieta 48
4.6.b Horas de cosecha de la alfalfa 49
V. CONCLUSIONES 52
VI. BIBLIOGRAFIA 53
VII. ANEXOS 63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de las xantofilas y su regulación por exceso de luz. Adaptado de Lambers et al. (2008). 21

Figura 2. Cambios en la densidad de flujo de fotones (PFD: Photon Flux Density) incidente sobre la superficie superior de la hoja de girasol anual herbáceo (A) y hoja de perenne *leñoso Euonymus kiautschovicus* (B) durante el transcurso del día. Adaptado de Demmig *et al.* (1992). 22

Figura 3. Energía luminosa incidente sobre la superficie de hojas de una maleza herbácea *Malva neglecta* (A) y un arbusto leñoso perenne *Euonymus kiautschovicus* (B) en un día soleado, así como sus variaciones del ciclo de las xantofilas: C y D, respectivamente. (V: violaxantina, Z: zeaxantina y A: anteraxantina). Adaptado de Demmig *et al.* (1992). 22

Figura 4. Morfología de la alfalfa. a. Tallo erecto, b. Inflorescencia, c. Hoja trifoliada, d. Frutos y e. Semillas. Adaptado de Beltrán (2011)..... 24

Figura 5. Colorímetro de Roche 27

Figura 6. Ubicación de la investigación 30

Figura 7. Diseño de muestreo de alfalfa (punto rojo: corte 7 am, punto azul: 1:00pm)..... 32

Figura 8. Cosecha de alfalfa. Cielo despejado 32

Figura 9. Secado de alfalfa bajo sombra 33

Figura 10. Harina de alfalfa..... 33

Figura 11. (a) Configuración de lente de la cámara RedEdge-M, (b) Curva de respuesta espectral de MicaSense RedEdge M (Fuente: Manual del usuario de RedEdge-M)..... 34

Figura 12. Vuelo de DRONE con cámara (fotoradiómetro) multiespectral..... 35

Figura 13. Pollos Cobb 500 de 42 días de edad 37

Figura 14. Valores de pigmentación de tarso de pollo de engorde (Cobb 500, 42 días de edad), utilizando el Abanico de Roche. 39

Figura 15. Diseño y distribución de los tratamientos en galpón experimental 41

Figura 16. Radiación total incidente (Wh/m2) de un día típico sin nubosidad. Fuente (SENAHI). 43

Figura 17. Reflectancia espectral de un cultivo de alfalfa en 5 bandas, registrado a las 7:00 a.m. y 1:00 p.m. en Huachac, Junín. Fecha:18 de septiembre del 2022. Latitud: 461893.46 m E, longitud: 8670626.55 m S. 44

Cuadro 5. Coeficientes de correlación intracluster (ICC) 46

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la alfalfa (Medicago sativa), adaptado de Flores (2015) y Llamas y Acedo (2016) 23
Cuadro 2. Composición nutricional de la harina de alfalfa. adaptado de Romero (2014) 25
Cuadro 3. Fuentes de xantofilas. Adaptado de Cuca et al. (1963). 29
Cuadro 4. Composición de dietas de finalización de pollos de engorde (35 a 42 días) con diferentes niveles de harina de alfalfa. 38
Cuadro 5. Coeficientes de correlación intracluster (ICC) 46
Cuadro 6. Consumo de alimento, ganancia de peso e índice de conversión alimenticia (ICA) en pollos de engorde Cobb500 alimentados con harina de alfalfa 47
Cuadro 7. Tabla de contingencia de pigmentación de tarsos de pollos de engorde alimentados con 3 niveles de harina de alfalfa (HA), evaluado por Chi2 48
Cuadro 8. Comparación de proporciones por pares (pairwise) de pollos de engorde alimentados con diferentes niveles de harina de alfalfa en su dieta 49
Cuadro 9. Tabla de contingencia 2x2 de pigmentación de tarsos de pollos de engorde alimentados con harina de alfalfa (HA), cosechada a las 7:00 a.m. y 1:00 p.m., evaluado por Chi2 49

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto pigmentante de la harina de alfalfa cosechada en dos horarios del día (7:00 a.m. y 1:00 p.m.) y 3 dosis de inclusión (1, 3 y 5%) en la dieta, sobre la pigmentación de tarsos de pollos de engorde. La investigación se realizó en dos fases: fase 1 (Chupaca-Junín) y fase 2 (FMV-UNMSM-Lima). Se utilizaron 200 pollos machos Cobb500. Los tratamientos fueron: T1 (0% de inclusión de harina de alfalfa), T2 (1% de harina de alfalfa cosechada a las 7:00 a.m.), T3 (1% de harina de alfalfa cosechada a la 1:00 p.m.), T4 (3% de harina de alfalfa cosechada a las 7:00 a.m.), T5 (3% de harina de alfalfa cosechada a la 1:00 p.m.), T6 (5% de harina de alfalfa cosechada a las 7:00 a.m.) y T7 (5% de harina de alfalfa cosechada a la 1:00 p.m.). El experimento duró 7 días (35 a 42 días de edad) y los valores de pigmentación se midieron utilizando el abanico de Roche (1-2: pigmentación no aceptable y 3-6: pigmentación aceptable). La reflectancia del cultivo de alfalfa se midió *in situ* mediante una cámara multiespectral Micasense Red Edge M en las longitudes de onda azul, verde, rojo, RedEgde y NIR. Se determinó el índice de reflectancia que va entre 0 y 1. Las variables productivas (consumo, ganancia, índice de conversión alimenticia: ICA) se evaluaron mediante un ANOVA y la comparación de medias mediante Tukey (5%), mientras que la variable de pigmentación fue analizada mediante la prueba de Chi cuadrado ($\alpha = 0.05$). Además, para el análisis de porcentaje de inclusión (tabla de contingencia: 4x2), se empleó la metodología de comparación por pares "*pairwise*" para analizar las proporciones de interés. Se empleó el paquete estadístico R v. 4.02. El mayor índice de reflectancia se presentó a la 1:00 p.m. comparado con las 7:00 a.m. El consumo de alimento, ganancia de peso e ICA no evidenciaron diferencias estadísticas ($p>0.05$) entre sus promedios. La dosis que evidenció mejor pigmentación de tarsos de pollos fue la de 3% de inclusión, alcanzando el 91.7% de efectividad ($p<0.05$). Además, los pollos alimentados con harina de alfalfa cosechada a la 1:00 p.m. presentaron un 92.2% de pigmentación, en comparación con el 77.5% obtenido con harina cosechada a las 7:00 a.m., siendo diferentes estadísticamente ($p<0.05$). Se concluye que la hora de cosecha y el nivel de inclusión de la alfalfa tiene un efecto significativo en la pigmentación de tarsos de pollos de engorde.

Palabras clave: reflectancia espectral, hora de cosecha, pigmentación

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the pigmenting effect of alfalfa meal harvested at two times of the day (7:00 am and 1:00 pm) and 3 inclusion doses (1, 3 and 5%) in the diet, on the pigmentation of tarsi of broiler chickens. The research was carried out in two phases: phase 1 (Chupaca-Junín) and phase 2 (FMV-UNMSM-Lima). 200 Cobb500 male chickens were used. The treatments were: T1 (0% inclusion of alfalfa meal), T2 (1% of alfalfa meal harvested at 7:00 a.m.), T3 (1% of alfalfa meal harvested at 1:00 p.m.), T4 (3% of alfalfa meal harvested at 7:00 a.m.), T5 (3% of alfalfa meal harvested at 1:00 p.m.), T6 (5% of alfalfa meal harvested at 7:00 a.m.) and T7 (5% of alfalfa meal harvested at 1:00 p.m.). The experiment lasted 7 days (35 to 42 days of age) and the pigmentation values were measured using the Roche fan (1-2: not acceptable pigmentation and 3-6: acceptable pigmentation). The reflectance of the alfalfa crop was measured in situ using a Micasense Red Edge M multispectral camera in the blue, green, red, RedEgde and NIR wavelengths. The reflectance index was determined, ranging from 0 to 1. The productive variables (intake, gain, feed conversion ratio: FCR) were evaluated using an ANOVA and the comparison of means using Tukey (5%), while the pigmentation variable was analyzed using the Chi square test ($\alpha = 0.05$). In addition, for the inclusion percentage analysis (contingency table: 4x2), the pairwise comparison methodology was used to analyze the proportions of interest. The statistical package R v. 4.02 was used. The highest reflectance index occurred at 1:00 p.m. compared to 7:00 a.m. Feed intake, weight gain and ICA did not show statistical differences ($p>0.05$) between their averages. The dose that showed better pigmentation of chicken tarsi was the 3% inclusion dose, reaching 91.7% effectiveness ($p<0.05$). In addition, chickens fed with alfalfa meal harvested at 1:00 p.m. presented 92.2% pigmentation, compared to 77.5% obtained with meal harvested at 7:00 a.m., being statistically different ($p<0.05$). It is concluded that the time of harvest and the level of inclusion of alfalfa have a significant effect on the pigmentation of tarsi of broiler chickens.

Key words: spectral reflectance, harvest time, pigmentation

I. INTRODUCCIÓN

Una de las actividades pecuarias con mayor crecimiento en los últimos años es la avicultura peruana, donde el pollo de engorde ocupa el 79% del total de la actividad; representando un 22.6% de participación en el Valor Bruto de la Producción Agropecuaria. A nivel de Latinoamérica, Perú es uno de los mayores consumidores de pollo con 50.96 kg/hab-año (MIDAGRI, 2023). La cultura de consumo en el Perú exige una carcasa de pollo pigmentada, ya que se suele asociar la coloración amarillenta del pollo con un estado de frescura y calidad nutritiva, aceptando o rechazando el producto. Por ende, en la etapa final del ciclo de producción se adicionan pigmentantes a la dieta del pollo de engorde, los cuales pueden ser sintéticos o naturales. Los pigmentos naturales, generan un gran interés debido a su procedencia natural, ya sea, de las flores de *Tagetes erecta* y *Caléndula officinalis*, o de las hojas de *Cedrela odorata* y de *Medicago sativa*, solo por mencionar algunos ejemplos de plantas.

Existen dos tipos de pigmentos: los fotosintéticos como la clorofila (que se dividen en clorofila a y b) y los carotenoides (divididos en carotenos y xantofilas). La clorofila tiene como función principal la absorción de energía lumínica para luego ser transformada en energía química (fotosíntesis), esta absorción se produce por los dobles enlaces conjugados entre los átomos de carbono de su estructura molecular. Los carotenoides, ayudan a que los pigmentos fotosintéticos tengan una mayor absorción de luz solar, y a la vez cumplen la función de reguladores cuando hay estrés térmico para la planta. Dentro de este grupo hay dos clases, los carotenos y las xantofilas, donde estos últimos son los que tienen mayor importancia porque disipan y regulan el exceso de energía lumínica, evitando daños a la planta. En plantas superiores la concentración de pigmentos xantofilas aumenta a medida que se intensifica la radiación solar y lo realiza mediante el ciclo de las xantofilas donde la violaxantina se transforma en zeaxantina (Lambers *et al*., 2008). Por ello, diversos trabajos en base a ese conocimiento de la eco fisiología de las plantas, utilizan la harina de alfalfa (con contenido de pigmento zeaxantina) como pigmentante natural en el pollo de engorde (Romero, 2014; Guano, 2021); sim embargo, no toman en cuenta el impacto de la radiación solar sobre la fisiología vegetal de las plantas.

En consecuencia, el objetivo de la investigación fue evaluar el poder pigmentante de tres dosis (1, 3 y 5%) de harina de alfalfa (*Medicago sativa*) cosechada en dos horarios diferentes del día (7 a.m. y 1 p.m.) sobre tarsos de pollos de engorde.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Ecofisiologia de la alfalfa

2.1.1 La célula vegetal

Los organismos vivientes están compuestos de células, donde la célula vegetal se halla en el tejido de las plantas y posee una pared celular a base de celulosa con plasmodesmos. Dentro de la célula están los plastidios como cloroplastos, mitocondrias, ribosomas, aparato de Golgi, retículo endoplasmático, un núcleo, entre otros (Taiz y Zeiger, 2002; Lambers *et al*., 2008).

2.1.2 El cloroplasto

Es un organelo fotosintético conformado por membranas (externa, interna y tilacoidal), el cual se encuentra en el citoplasma vegetal y es el responsable de realizar la fotosíntesis. Además, se encarga de procesos metabólicos lipídicos y del almidón; mostrándose como un órgano verde (Lambers *et al*., 2008; Espinoza y Chávez, 2019). Los cloroplastos contienen el pigmento esencial para la fotosíntesis que es la clorofila (brinda el color verde característico de las plantas) y contienen a los carotenoides (brindan diversos colores como rojo, naranja o amarillo (Taiz y Zeiger, 2002; Hashimoto *et al.*, 2016).

Dentro de los cloroplastos se observan los tilacoides, estructuras como monedas apiladas, donde cada apilado recibe el nombre de grana y es aquí donde los pigmentos y proteínas se agregan para formar los complejos fotosintéticos (Taiz y Zeiger, 2002; Lambers *et al*., 2008); además, hay un fluido que circunda los tilacoides denominado estroma (Hashimoto *et al*., 2016; Espinoza y Chávez, 2019).

2.1.3 Pigmentos fotosintéticos y accesorios

La clorofila es el principal pigmento fotosintético tetrapirrólica que se asocia con proteínas para formar los fotosistemas PS I (P700) y PS II (P680), se clasifican en Chl a y Chl b que están ubicados en la membrana tilacoidal (Val *et al*., 1987; Lambers *et al*., 2008; Pérez, 2000). La clorofila se estimula con la luz o con pigmentos accesorios excitados que le transfieren energía (Taiz y Zeiger, 2002; Lambers *et al*., 2008).

Los principales pigmentos accesorios son los carotenoides, los cuales son liposolubles e insolubles en agua, que se dividen en carotenos (mayor cantidad en PS I tienen carbono e hidrógeno sin la presencia de oxígeno en su composición química, con estructuras básicas como beta caroteno y licopeno, por ejemplo) y la xantofilas (mayor cantidad en PS II, poseen carbono e hidrógeno con presencia de oxígeno en su composición química: violaxantina, zeaxantina, por ejemplo) (Sánchez *et al.,* 1999; Pérez, 2000; Lambers *et al*., 2008). Los carotenoides poseen dobles enlaces conjugados lo que les brinda la característica de capturar y transmitir energía lumínica, y de proteger a la planta contra el daño fotooxidativo en el sistema fotosintético disipando cierta energía; además otorgan el color rojo, amarillo o naranja en las frutas y flores (Val *et al*., 1987; Rodríguez-Amaya, 2001).

2.1.4 La fotosíntesis

Es un proceso biológico, energético y de síntesis realizado por plantas, algunas algas y bacterias, donde a partir de CO_2 y la captación de luz solar se forma materia orgánica para beneficio de la propia planta; este proceso es llevado a cabo por las moléculas de clorofila y está condicionado por factores internos (contenido de pigmentos, fenología, entre otros) y externos (ambientales como luz y agua) (Pérez, 2000; Lambers *et al*., 2008; Chen *et al*., 2022).

La fotosíntesis presenta 2 fases, la fase luminosa (fotoquímica) y la fase oscura (ciclo de Calvin Benson). La fase fotoquímica comienza con la absorción de radiación por parte de la Chl b, además de pigmentos accesorios que transfieren la energía a la Chl a, sus electrones se activan y se desplazan por la cadena transportadora de electrones sobre la membrana tilacoidal, luego llegan al NADP+ convirtiéndolo en NADPH, además hay síntesis de ATP (en el estroma); luego estos productos elaborados pasan a ser parte del ciclo de Calvin Benson para que se fije CO_2 atmosférico (Val *et al*., 1987; Taiz y Zeiger, 2002; Hashimoto *et al*., 2016). Este ciclo se ubica en el estroma del cloroplasto y finalmente se formará elementos orgánicos como la sacarosa y esta será transportada hacia otros tejidos plantares (Pérez, 2000; Taiz y Zeiger, 2002).

2.1.5 Radiación solar

La principal fuente de energía de las plantas es la radiación solar, cuya sensibilidad de radiación oscila entre 380 y 710 nm (luz azul de 490 nm y luz roja de 660 nm), para iniciar las reacciones fotoquímicas de la fotosíntesis (Larcher, 1995; Taiz y Zeiger, 2002; Azcón-Bieto y Talón, 2008).

La irradiancia total del sol va aumentando conforme avanza las horas del día, llegando a su punto máximo a las 12:00 horas, para luego ir disminuyendo (Benavides, 2004; Demmig *et al.*, 2020). Los fotones de luz (paquetes de energía de la radiación solar), llegan a las hojas e impactan sobre los fotosistemas, donde las moléculas de clorofila absorben la energía y forman una cadena transportadora de electrones, mediante reacciones de óxido reducción, este proceso genera ATP; luego estos mismos electrones excitados regresan a su estado original (Pérez, 2000; Azcón-Bieto y Talón, 2008; Cordón, 2009).

El exceso de radiación solar provoca un estrés fisiológico en las plantas generando daños fotoxidativos (formación de especies reactivas de oxigeno o ROS dependientes de luz), las plantas pueden evitar estos daños mediante cambios morfológicos o cambios bioquímicos como el ciclo de las xantofilas (Azcón-Bieto y Talón, 2008; Lambers *et al*., 2008; Toledo-Ortiz *et al*., 2010).

2.1.6 Ciclo de las xantofilas

Ya se conocía que los pigmentos carotenoides (carotenos y xantofilas) absorben la luz, y también son protectores (antioxidantes) del aparato fotosintético; sin embargo, Demmig *et al*. (1987) precisaron que las xantofilas eran las que actuaban para la protección de la planta ante un exceso de radiación solar (foto protección). De todas las xantofilas, la concentración de zeaxantina se asocia con el aumento de la disipación de energía, es decir, capta el exceso de energía en el aparato fotosintético y la disipa como calor (Demmig, 1990; Frank y Cogdell, 1996). Demmig *et al*. (1987) encontraron un incremento de la zeaxantina en condiciones de energía excesiva y estos mismos investigadores en 1990 encontraron que todos los pigmentos del ciclo de las xantofilas aumentan en esas condiciones.

Cuando ocurre estrés por exceso de radiación solar, superior a la que se necesita para realizar la fotosíntesis, las plantas pasan de un estado estable (donde predomina la violaxantina) a la activación del ciclo de las xantofilas (Adams y Demmig, 1992; Lambers *et al*., 2008). Esa alta intensidad de luz genera que la membrana tilacoidal del cloroplasto se acidifique debido al ingreso masivo de protones H+ y activan la enzima violaxantina de-epoxidasa, perdiendo un grupo epoxi convirtiéndose la violaxantina en anteraxantina y luego pasa a zeaxantina, siendo esta última la encargada de generar cambios sobre la recolección de luz en el fotosistema II (PSII) para captar esos fotones de luz en exceso y dispersarlas en forma de calor (Figura 1) (Pfündel y Bilger, 1994; Frank y Cogdell, 1996; Taiz y Zeiger, 2002; Lambers *et al.*, 2008). Este ciclo es reversible, ya que cuando la energía lumínica disminuye, la zeaxantina retorna anteraxantina, y está retorna a violaxantina (Demmig, 1990; Adams y Demmig, 1994; Eskling *et al*., 1997). Como se mencionó anteriormente, si hay una mala función de este ciclo entonces el exceso de radiación

solar generara mayor cantidad de moléculas toxicas como las especies reactivas del oxígeno (ROS) (Sánchez *et al.,* 1999; Lambers *et al*., 2008).

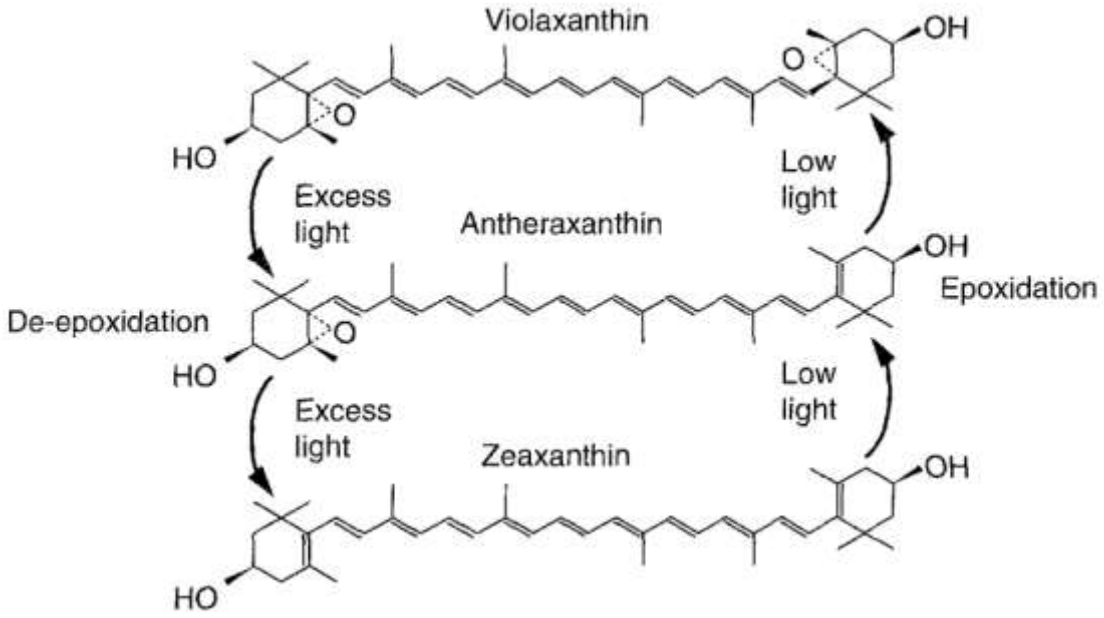


Figura 1. Ciclo de las xantofilas y su regulación por exceso de luz. Adaptado de Lambers et al. (2008).

Se conoce la estrecha relación directa entre el aumento de los pigmentos xantofilas a medida que aumenta la radiación solar durante las horas del día; por ejemplo, Adams *et al*. (1999) utilizando plantas enredaderas (*Stephania japónica* y *Smilax australis*) demostraron que la mayor concentración de xantofilas se presenta entre las 10 y 12 horas, que es cuando ocurre la mayor radiación solar; además, en plantas nativas de china como la *Schefflera arborícola* se halló el incremento de pigmentos xantofilas (en mayor cantidad de zeaxantina) a horas del mediodía con una máxima irradiancia solar (Schiefthaler *et al*., 1999). Adams y Demmig (1992) al experimentar en siete plantas diferentes, reportaron un alto incremento de zeaxantina y bajos niveles de concentración de violaxantina durante los horarios con mayor incidencia solar (11:00 a.m. a 1:00 p.m.), esta variación también se percibe en cultivos anuales y malezas (Figura 2 y 3).

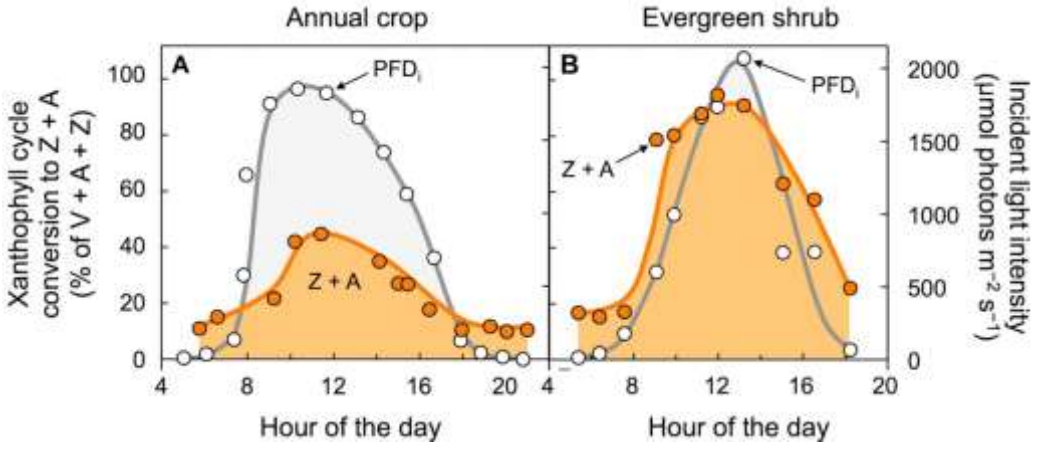


Figura 2. Cambios en la densidad de flujo de fotones (PFD: Photon Flux Density) incidente sobre la superficie superior de la hoja de girasol anual herbáceo (A) y hoja de perenne *leñoso Euonymus kiautschovicus* (B) durante el transcurso del día. Adaptado de Demmig *et al.* (1992).

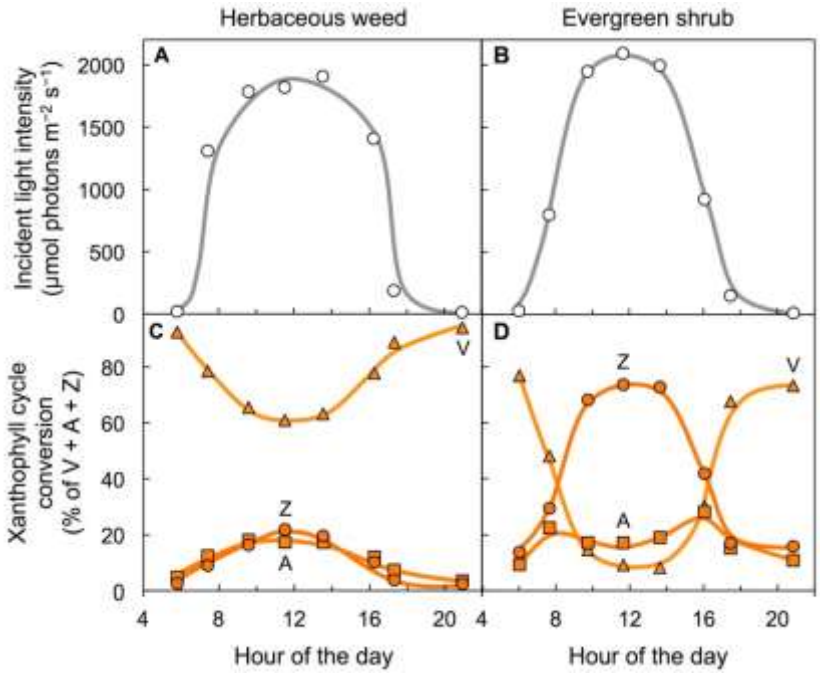


Figura 3. Energía luminosa incidente sobre la superficie de hojas de una maleza herbácea *Malva neglecta* (A) y un arbusto leñoso perenne *Euonymus kiautschovicus* (B) en un día soleado, así como sus variaciones del ciclo de las xantofilas: C y D, respectivamente. (V: violaxantina, Z: zeaxantina y A: anteraxantina). Adaptado de Demmig *et al.* (1992).

2.1.7 La alfalfa

La alfalfa es una leguminosa herbácea perenne usada como forraje para ganado vacuno, ovino, caballar, cunícola, y como pigmentante en la producción avícola (Beltrán, 2011; Romero, 2014; Solorzano, 2018; Cevallos y Tufiño, 2019; Ortega *et al*., 2020; Guano, 2021; Saavedra *et al*., 2022; Pérez, 2023). Esta leguminosa puede crecer en suelos poco fértiles (Russell *et al.*, 2006), tolerando cierto grado de alcalinidad mejor que la acidez (Soto *et al.*, 2005), y relativa tolerancia a la salinidad del suelo (Cornacchione y Suarez, 2017), además, tiene la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico simbióticamente hasta 770 kg/ha/año (Campiño *et al.,* 2003), reduciendo los costos de fertilización del suelo (Flores, 2015). La clasificación taxonómica de alfalfa se muestra en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica de la alfalfa (*Medicago sativa*), adaptado de Flores (2015) y Llamas y Acedo (2016)

Reino	Vegetal
División	Magnoliophita
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Subfamilia	Papilionoideae
Tribu	Trifolieae
Género	*Medicago*
Especie	*sativa*

La morfología de la alfalfa se caracteriza por una altura: de 30 a 120 cm, semilla: forma arriñonada amarillenta; raíz: muy profunda (2-5 metros en 4 años de vida) pudiendo soportar periodos de sequías; tallo: ramificado, macizo, delgado y erecto; hojas: trifoliadas de forma oblongadas, redondeadas o lineales; flor: racimos tupidos laterales; fruto: vaina o legumbre espiralada alargada y comprimida (Beltrán, 2011; Correa y Salgado, 2013; Flores, 2015; Llamas y Acedo, 2016) (Figura 4).



Figura 4. Morfología de la alfalfa. a. Tallo erecto, b. Inflorescencia, c. Hoja trifoliada, d. Frutos y e. Semillas. Adaptado de Beltrán (2011).

2.1.8 Alfalfa como pigmentante

Los pigmentos utilizados en avicultura son insumos que pigmentan la piel y grasa subcutánea del ave, además tienen la capacidad de pigmentar la yema de huevo (De Blas *et al*., 2010; Calsina, 2015). La alfalfa como harina viene utilizándose por muchos años en la alimentación de aves ya que es uno de los principales pigmentantes naturales debido a su alto contenido de xantofilas y carotenos (Kuzmicky *et al*., 1967). La cantidad de xantofilas en la harina de alfalfa es variable, por ejemplo, Cuca *et al*. (1963) mencionan que la harina de alfalfa al 20% en la dieta representa una cantidad de 396 mg/kg de xantofilas y a 17% presenta 187 mg/kg; Chuquisala (2019) reporta una cantidad de xantofilas entre 100 – 500 ppm, con un mínimo de 40 mg de xantofilas por cada 100 gramos de harina de alfalfa. Romero (2014) al evaluar la harina de alfalfa, reporta valores entre 400 a 500 mg/kg de xantofilas en base seca. De Blas *et al*. (2010) reportan valores promedio de 200 mg/kg, y máximos de 620 mg/kg.

2.1.9 Composición nutricional de la harina de alfalfa

La harina de alfalfa es usada como insumo alimenticio para aves (Romero, 2014; Zheng *et al*., 2019). La harina de alfalfa tiene ciertos nutrientes que la hacen atractiva en la industria avícola (Cuadro 2) ya que es una fuente importante de minerales y vitaminas (Jiang *et al*., 2012). También contiene ciertos componentes activos funcionales, como xantofilas, β-caroteno, flavonoides, polisacáridos y saponinas (Laudadio *et al*., 2014).

Cuadro 2. Composición nutricional de la harina de alfalfa. adaptado de Romero (2014)

Composición	Cantidad (%)
Materia seca	93.00
Proteína	17.00
Metionina	0.28
Metionina + cistina	0.46
Lisina	0.73
Calcio	1.30
Fosforo disponible	0.20
Acido linoleico	0.40
Grasa	3.00
Fibra	24.00
Ceniza	9.80
Humedad	9.2
Energía metabolizable (aves)	1.55 Mcal/kg

2.1.10 Beneficios de la alfalfa

Además, podemos mencionar otros beneficios de la alfalfa; como lo reporto Dong et al. (2007) al evaluar el efecto de la polisavona en la deposición de grasa abdominal e inmunidad en pollos Arbor Acres, que evidenciaron una baja deposición de grasa abdominal en el pollo de engorde con una mejor respuesta inmune. La polisavona es un conjunto de polisacáridos de origen natural en la alfalfa y poseen un efecto inmunomodulador (Nie y Zhang, 1999).

Otros compuestos que tiene la polisavona son las saponinas que posee varias funciones biológicas, entre ellas la de beneficiar al animal de consumo con hipocolesterolemia (disminución de colesterol en la sangre) (Guiwen *et al.*, 2021). La harina alfalfa posee saponinas que generan la disminución de colesterol en sangre de los pollos de engorde (Ross 308) en la dieta, lo que se traduce en una carne con bajo nivel de colesterol para el consumidor final (Ponte *et al.,* 2004) y, específicamente, en la carne de la pechuga y pierna de pollos Arbor acres (Liu *et al.,* 2016).

2.2 Pigmentación del pollo de engorde

2.2.1 Fisiología de la pigmentación

La pigmentación del pollo depende del tipo de dieta (Romero, 2014), sin embargo, para que se lleve a cabo la absorción, nutrición, metabolismo y digestión de nutrientes de manera eficaz, se requiere un microbiota saludable en el tracto gastrointestinal del ave y una respuesta inmune óptima (Fletcher, 1992; Wang *et al.*, 2017).

Las xantofilas se incorporan a la dieta del pollo de engorde para favorecer su pigmentación. El proceso de absorción de xantofilas se realiza de forma pasiva (sin gasto de energía y en beneficio de la gradiente de concentración celular) a través de las células epiteliales del intestino delgado (Tyczkowski y Hamilton, 1986). Estos pigmentos ingresan a las células intestinales mediante la unión a los ácidos grasos de la dieta (Tepox, 2013). Littlefiel *et al*. (1972), mencionan que la absorción de pigmentos se produce en la zona posterior del yeyuno y en la zona anterior del íleon. Posteriormente, las xantofilas son transportadas vía sanguínea, y se conoce que la luteína y zeaxantina son las que se depositan en hígado, piel y tarsos (Ganguly *et al*., 1953).

2.2.2 Técnicas de medición de la pigmentación

Las tres técnicas más utilizadas para evaluar la pigmentación en avicultura son (i) la valoración subjetiva (observación de la apariencia de la carcasa del pollo) mediante abanicos colorimétricos, (ii) el uso de colorimetría de reflectancia y (iii) el análisis químico espectrofotométrico (Fletcher, 1992). La técnica de observación visual mediante el abanico colorímetro de Roche (Figura 5) ha sido altamente utilizado por su facilidad, a pesar de su medida subjetiva, en la determinación del color de piel y tarsos del pollo de engorde, además de yema de huevo (Garlich *et al*., 1974; Marusich *et al*., 1976; Pérez *et al.*, 2001; Zhu *et al.,* 2009; Rajput *et al*., 2012 y 2013; Tunio *et al.,* 2013). La colorimetría de reflectancia se realiza mediante un instrumento portátil que evalúa el color en superficies lisas del pollo de engorde, mientras que, el análisis químico extrae las xantofilas (con solventes orgánicos) a partir de tejidos del pollo de engorde, cuantificándolas por espectrofotometría (Aceves, 2004).



Figura 5. Colorímetro de Roche

El abanico de Roche se usa para valorar la coloración tanto de las yemas de los huevos como de la carcasa o tarsos de los pollos de engorde; está compuesto por una serie de hojas o paletas con diversas coloraciones que miden de manera subjetiva, evaluando de manera visual la pigmentación, siendo un método sencillo y económico para la evaluación (Varas y Beltrán, 2010; Andrade, 2014).

La colorimetría de reflectancia se basa en la medida de un haz de luz sobre la piel del pollo de engorde, donde este haz se desmonta en 3 dimensiones o sistemas: brillantez, rojo y amarillo. La brillantez (L) o luminosidad evalúa la presencia o ausencia de luz con rangos entre 0 (negro total) a 100 (blanco total) donde para la piel de pollo de engorde se estima un valor entre 64 y 72; el rojo intenso (a) con valores entre -60 (colores verdes) y +60 (colores rojos) y la piel del pollo está en 2; el amarillo (b) con rangos entre -60 (colores azules) hasta +60 (colores amarillos) donde la piel del pollo de engorde se estima un valor de 41 (Martínez *et al*., 2004; Romero, 2014; Hernández, 2018).

2.2.3 Factores que alteran la pigmentación del pollo de engorde y la harina de alfalfa

El poder de la pigmentación puede variar por el manejo de las aves, la cantidad de xantofilas en la dieta, oxidación de los pigmentos, problemas sanitarios, entre otros (Andrade, 2014; Romero, 2014). En caso de no alcanzar una pigmentación adecuada y uniforme, el comprador aplica penalidades económicas al momento de la comercialización. (Pantoja y Gonzales, 2020).

2.2.3.a Problemas sanitarios

Las infecciones por coccidias del género *Eimeria* son las más comunes y costosas para la industria avícola; donde el tipo de cepa, virulencia y estado inmunológico son los factores que determinan que la *Eimeria* afecte a la pigmentación de piel de los pollos de engorde. *Eimeria maxima* y *E. acervulina* reducen considerablemente las porciones sanas del intestino para la absorción de carotenoides en el pollo de engorde (Tyczkowski y Hamilton, 1986). El yeyuno e ileón son las principales porciones de absorción de pigmentos, sin embargo, estas secciones generalmente se encuentran infectadas por *E. máxima*, y, consecuentemente, con una pobre pigmentación (Littlefiel *et al*., 1972). Frade *et al*. (2016) evaluaron infecciones de *Eimeria* spp. en relación con la absorción de xantofilas, así como la recuperación de estos en la piel del pollo de engorde usando como fuente de xantofilas a las flores de cempasúchil (*Tagetes erecta*). Ellos observaron que *E. acervulina* y *E. maxima* generaron un descenso en la absorción y deposición de pigmento debido al acortamiento de las vellosidades intestinales.

2.2.3.b Sexo y manejo

En la parvada, los pollos más pigmentados son las hembras debido a que estas tienen mayor contenido de grasa en el subcutáneo que los machos (Calsina, 2015). Referente al manejo, tener más de 10 pollos por m^2 se considera hacinamiento y esto es un factor despigmentante (Varas y Beltrán, 2010; Romero, 2014).

2.2.3.c Almacenamiento de la harina de alfalfa

Las xantofilas son estables en su entorno natural, pero están predispuestas a la oxidación, lo que genera la pérdida de la capacidad pigmentante durante el almacenamiento en el galpón, ya sea por su exposición a la luz, alta temperatura o alta humedad(Cuca *et al*., 1963; Livingston *et al*., 1968; Hencken, 1992). Por ello es conveniente la adición de antioxidantes al alimento para así conservar los pigmentos y evitar que se rompan o se transformen (Calsina, 2015).

2.2.3.d Elaboración de harina de la alfalfa

La temperatura y humedad son importantes durante el deshidratado de la alfalfa para convertirla en harina. Livingston *et al*. (1968) correlacionaron estas dos variables con el contenido de xantofilas, concluyendo que la mayor concentración de xantofilas se produce a menor temperatura y humedad de la alfalfa durante la deshidratación. Amella (1976) realizó 4 ensayos sobre la reducción de carotenoides (xantofilas) en la alfalfa de acuerdo con el presecado (cosechó y colocó en hileras en el campo dejándolas de 01 a 24 horas) para luego ser deshidratadas, y

encontró que sí hubo pérdida de estos pigmentos, y la menor pérdida de xantofilas se produjo cuando el ensayo tuvo menor temperatura y humedad en la alfalfa en el deshidratador, coincidiendo con Livingston *et al*. (1968).

2.2.4 Pigmento naturales y sintéticos usados en avicultura

Por cultura o costumbre los consumidores de carne de pollo prefieren carcasas pigmentadas en tonos que varían desde los amarillento hasta levemente anaranjado debido a su asociación con la frescura y calidad. Por ello se han estudiado diversos carotenoides (xantofilas) sintéticos y naturales (Sánchez *et al.,* 1999; Andrade, 2014; Zavala 2019). Dentro de los carotenoides sintéticos se considera a la mezcla de cantaxantina, apocarotenos, carotenal, carophyll, lutenal (Solorzano, 2018; Zavala, 2019). Como fuente natural encontramos a las xantofilas en los vegetales, cereales, básicamente en las hojas de las plantas como se muestra en el Cuadro 3 (Varas y Beltrán, 2010; Cuca *et al*., 1963).

Cuadro 3. Fuentes de xantofilas. Adaptado de Cuca *et al.* (1963).

Insumo	**Xantofilas mg/kg**
Harina de cempasúchil	8 000
Harina de algas deshidratadas	2 200
Harina de trébol ladino deshidratado	490
Harina de chile deshidratado	187
Harina de alfalfa	40 - 620 (FEDNA, 2018)
Gluten de maíz	88
Maíz amarillo	22
Cebada	4.4
Trigo	3.3
Avena	2.2
Sorgo	1.5

Las flores de *Tagetes erecta* han sido las más usadas como pigmentante natural, además tenemos a la alfalfa y gluten de maíz (pigmentan de color amarillo a niveles aceptables, sin embargo, los que pigmentan de color rojo-anaranjado es el maíz por encima de la alfalfa), maíz, chile, pimentón, rosa mosqueta, zanahoria, remolacha, algas marinas, achiote, harina de camarón, entre otras (Andrade, 2014; Chávez, 2018).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución y periodo de duración

El experimento tuvo dos fases, la primera (cosecha de alfalfa) fue realizada en el distrito de Huachac, provincia de Chupaca, región Junín; y la segunda (crianza de aves) fue realizada en la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM (Figura 6). El experimento se realizó entre septiembre y diciembre del 2022. La zona de cultivo de alfalfa estuvo ubicada a 3.355 msnm, y la zona está clasificada de acuerdo con Holdridge (2000) como bosque húmedo Montano Tropical (bh-PT). La temperatura media anual fue 12.4°C con temperatura promedio día: 20.2°C y noche: 4.6°C, siendo los meses entre abril a julio los más fríos. La precipitación total anual alcanza los 708 mm.

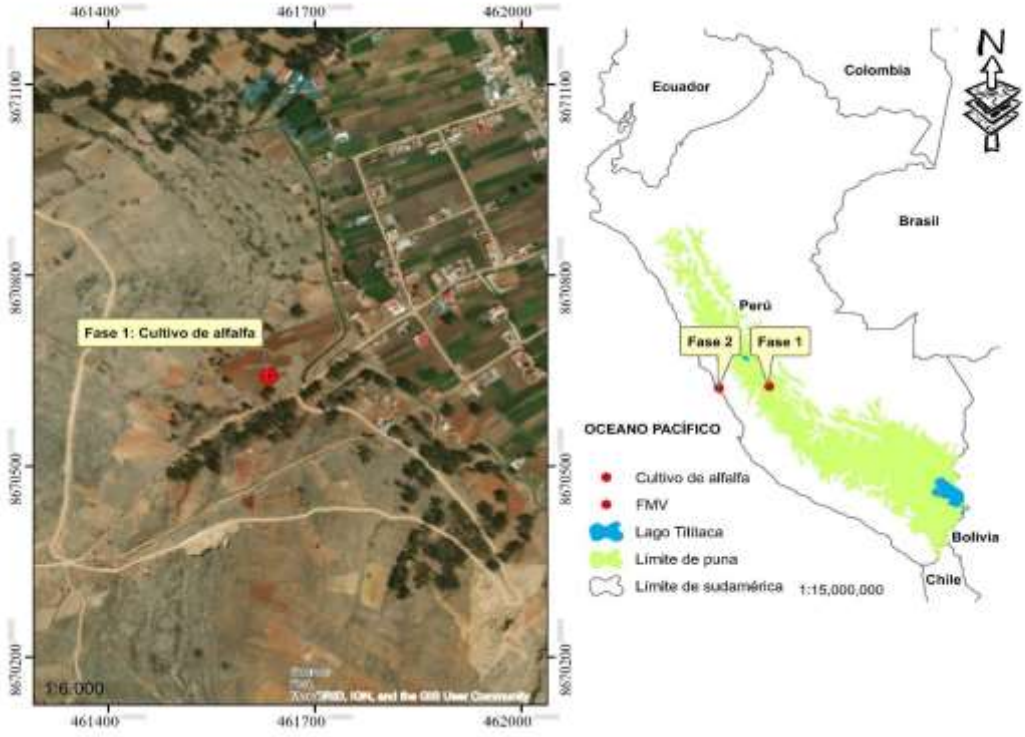


Figura 6. Ubicación de la investigación

3.2 Fase 1. Obtención de la harina de la alfalfa (cosecha, deshidratación y molienda)

a). Manejo del cultivo.

La alfalfa (Var. Moapa) fue sembrada en una parcela de 800 m^2 (suelo franco arcilloso) a una densidad de siembra de 25 kg/ha, se realizó siembra al voleo (semilla mejorada) y se usó riego por inundación con una frecuencia de 25 días (Figura 7).

b). Obtención del forraje verde

A los 10 meses de edad, la planta tuvo 10% de floración, tiempo que se realizó la cosecha manual (día 18 de setiembre del año 2022) utilizando una hoz a 5 cm de altura con respecto al suelo (Figura 8), la primera cosecha se hizo a las 7 a.m. y la segunda a las 1 p.m. del mismo día, las muestras fueron pesadas en una balanza tipo romana de 50 kg de capacidad (Marca Pretul, Capacidad) y luego fueron rotuladas adecuadamente.

c). Obtención de la harina de la alfalfa

Utilizando arpilleras blancas, las muestras fueron secadas bajo sombra a temperatura ambiente durante 2 días, hasta alcanzar 60% de humedad (Figura 9).

La harina de alfalfa se obtuve a partir de las hojas (previamente retiradas manualmente de los tallos), y enviadas al laboratorio de Producción Avícola y Especies Menores de la FMV-UNMSM, donde fueron deshidratadas bajo sombra hasta 16% de humedad, luego fueron molidas a una criba de 0.8 mm de diámetro en un molino de martillos (Marca GalixTech) con capacidad de 100 kg/hora y criba: 0.8mm de diámetro, el producto final fue la harina de alfalfa, utilizando la misma para la formulación de dietas (Figura 10).

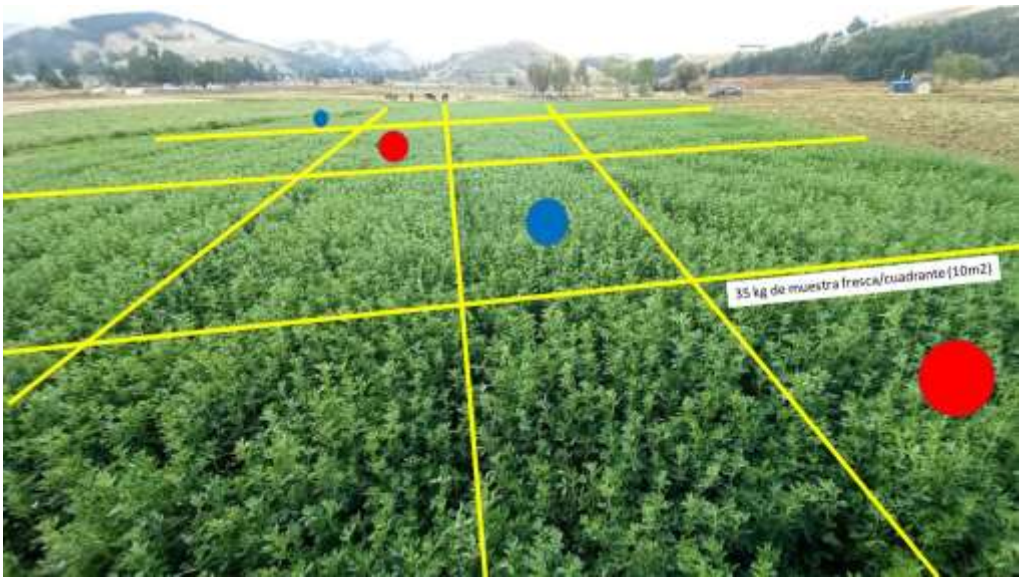


Figura 7. Diseño de muestreo de alfalfa (punto rojo: corte 7 am, punto azul: 1:00pm)



Figura 8. Cosecha de alfalfa. Cielo despejado



Figura 9. Secado de alfalfa bajo sombra



Figura 10. Harina de alfalfa

3.2.1 Reflectancia espectral in situ

Los espectros de reflectancia del dosel del cultivo de alfalfa se registraron utilizando un espectrómetro (cámara) multiespectral Micasense Red Edge M (MicaSense, Inc., Seattle, WA, EE. UU.) a bordo de un dron RPAS DJI Inspire 2 (DJI, Shenzhen, China) para capturar fotografías multiespectrales de 16 bits con cinco bandas espectrales [(azul (475 ± 20 nm), verde (560 ± 20 nm), rojo (668 ± 10 nm), NIR (840 ± 40 nm) y RE (717 ± 10 nm)] con una resolución de 1,2 megapíxeles (1280 × 960 píxeles) (Figura 11).

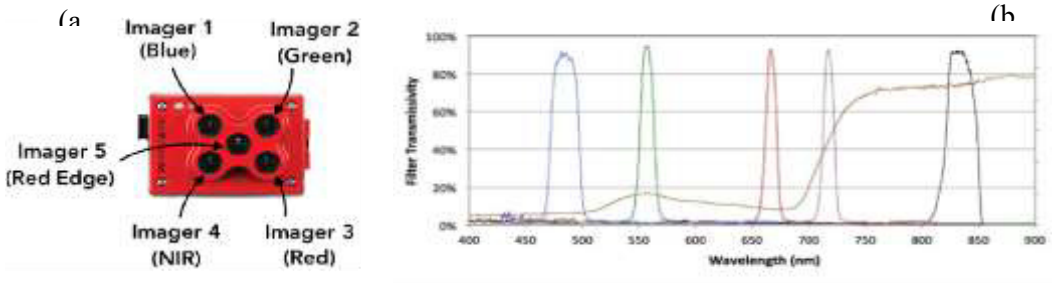


Figura 11. (a) Configuración de lente de la cámara RedEdge-M, (b) Curva de respuesta espectral de MicaSense RedEdge M (Fuente: Manual del usuario de RedEdge-M).

Se midieron 5 longitudes de onda para describir correctamente la curvatura del espectro de reflectancia, siguiendo lo recomendado por Daumard *et al.* (2012), quien afirma que se necesitan al menos 4 longitudes de onda para una descripción adecuada de la reflectancia de la vegetación cuando se utiliza fotorradiómetros multiespectrales.

Plan de vuelo

El plan de vuelo se ejecutó a las 7 a.m. y 1 p.m. del 18 de setiembre del 2022, a una altitud de vuelo de 150 m sobre el suelo (Figura 12). Las imágenes se capturaron cada 1.5 segundos con una superposición frontal y lateral del 80%. Finalmente, las imágenes se almacenaron en formato .tiff de 16 bits.



Figura 12. Vuelo de DRONE con cámara (fotoradiómetro) multiespectral

Procesamiento de datos fotométricos

El procesamiento fotogramétrico se realizó mediante el software Pix4D Mapper. Las diferencias relativas entre los parámetros internos iniciales y optimizados fueron mínimas (0.48%), lo que indica que los parámetros iniciales fueron confiables en la construcción del ortomosaico. La información de los ocho puntos de control tomadas en campo con un GPS GNSS RTK se introdujo en el flujo de procesamiento para mejorar la precisión de la nube de puntos y el ortomosaico, dando como resultado un GSD final de 10.42 cm. A partir de la nube de puntos, se generó un modelo de superficie digital (DEM) con la misma resolución que el ortomosaico y se exportó en formato .tiff. Finalmente, con el Sofware ArcGIS 10.8 se extrajo la data numérica (nube de 10 mil puntos de muestreo) para determinar los índices de reflectancia espectral (0-1) a las 7:00 a.m. y 1:00 p.m. Este índice se calcula dividiendo la radiancia reflejada por la radiancia incidente. La fórmula general para el índice de reflectancia (R) fue:

$$R = \frac{L_r}{L_i}$$

Donde:

L_r: es la radiancia reflejada (la cantidad de radiación reflejada por la superficie).

L_i: es la radiancia incidente (la cantidad de radiación que incide sobre la superficie).

Este índice es adimensional y se expresa generalmente como un valor entre 0 y 1 o en porcentaje (0 a 100%). Un valor de 1 (o 100%) indica que toda la radiación incidente es reflejada,

mientras que un valor de 0 indica que no se refleja nada de la radiación incidente. Por lo tanto, a mayor radiación incidente (cantidad de energía radiante que incide sobre la hoja) al medio día, genera mayor reflectancia, debido a que se encuentra estimulado el ciclo de las xantofilas y disminuido la fotosíntesis. El comportamiento de la reflectancia se mostró en un gráfico de líneas que relaciona la reflectancia y el espectro de luz registrado.

3.2.2 Radiación solar incidente

La información sobre la radiación solar incidente se obtuvo del sitio web https://www.tutiempo.net/radiacion-solar/huancayo.html. Este recurso proporciona datos sobre el comportamiento de la radiación solar en un día típico sin nubosidad, mostrando un patrón de variación a lo largo del día.

3.3 Fase 2. Crianza de los pollos

La crianza se realizó en el galpón experimental tipo abierto del Laboratorio de Producción Avícola y Especies Menores de la FMV-UNMSM en Lima. Las aves tuvieron ambiente controlado (20°C de temperatura y 70% de humedad relativa), para ello se utilizó un termohigrómetro digital (Marca: OEM, Modelo: HTC-2). Los pollos (Cobb 500, machos) fueron adquiridos con un día de edad de la incubadora Chicken Baby SAC. La vacuna Marek fue aplicada en planta de incubación al nacimiento y las vacunas de Bronquitis Infecciosa y New Castle se aplicaron en galpón a los 14 días de edad. Se realizo la crianza durante 42 días y el periodo experimental fue los últimos 7 días (35 a 42 días de edad) (Figura 13).

Las aves tuvieron un programa de iluminación con 23 horas luz los dos primeros días, luego se utilizó luz natural (12 horas luz) por el resto de la crianza. El alimento se suministró según los requerimientos del ave para la edad, siguiendo el manual de crianza de la línea Cobb 500 machos, el consumo de agua fue *ad libitum*.



Figura 13. Pollos Cobb 500 de 42 días de edad

3.3.1 Formulación de dietas

Se elaboraron dietas sobre una base de maíz y soya según los requerimientos nutricionales de los pollos de engorde según los requerimientos del ave; para ello se utilizó el Software de formulación Dapp Nutrition® (Cuadro 4). Todos los tratamientos tuvieron alimento convencional desde el día 1 hasta el 34. El día 35 se inició el experimento, con la aplicación de los tratamientos.

Cuadro 4. Composición de dietas de finalización de pollos de engorde (35 a 42 días) con diferentes niveles de harina de alfalfa.

Ingrediente (%)	Tratamiento						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
Maíz amarillo	65.528	63.34	63.34	62.112	62.112	68.697	68.697
Torta soya	19.859	21.53	21.53	19.452	19.452	9.097	9.097
Harina integral soya	9.000	9.00	9.00	8.801	8.801	8.897	8.897
Aceite crudo soya	2.181	2.83	2.83	3.318	3.318	4.500	4.500
Fosfato di-cálcico	1.354	1.33	1.33	1.335	1.335	1.455	1.455
Harina de alfalfa 7 am	0.000	1.00	0.00	3.000	0.000	5.000	0.000
Harina de alfalfa 1 pm	0.000	0.00	1.00	0.000	3.000	0.000	5.000
Carbonato calcio fino	0.737	0.70	0.70	0.623	0.623	0.532	0.532
Sal común	0.295	0.29	0.29	0.288	0.288	0.285	0.285
DL metionina	0.257	0.25	0.25	0.267	0.267	0.378	0.378
Clorhidrato de lisina	0.243	0.19	0.19	0.254	0.254	0.450	0.450
Premezcla[1]	0.120	0.12	0.12	0.120	0.120	0.120	0.120
Bicarbonato sodio	0.100	0.10	0.10	0.100	0.100	0.100	0.100
Cloruro colina 60%	0.100	0.10	0.10	0.100	0.100	0.100	0.100
Secuestrante micotoxina	0.100	0.10	0.10	0.100	0.100	0.100	0.100
Treonina-L	0.076	0.07	0.07	0.081	0.081	0.239	0.239
Zinc bacitracina	0.050	0.05	0.05	0.050	0.050	0.050	0.050

[1]Premezcla: Retinol (vitamina A) 12 000 000 UI, colecalciferol (vitamina D3) 5 000 000 UI, DL alfa tocoferol acetato (vitamina E) 30 000 UI, menadiona bisulfito (vitamina K3) 3 g, tiamina (vitamina B1) 2 g, riboflavina (vitamina B2) 10 g, piridoxina (vitamina B6), cianocobalamina (vitamina B12) 0.015 g, acido pantoténico (vitamina B5) 11 g, ácido fólico (B9) 2 g, niacina (vitamina B3) 30 g, biotina (vitamina B7) 0.15 g, manganeso 80 g, zinc 80 g, hierro 50 g, cobre 12 g.

3.4 Variables evaluadas

Consumo de alimento (kg)

El consumo de alimento se determinó pesando la cantidad de alimento suministrado y el alimento residual diariamente en cada unidad experimental, posteriormente, se dividió entre el número de aves para obtener el consumo individual.

Ganancia de peso (kg)

La ganancia de peso se obtuvo mediante la diferencia entre el peso inicial (día 35) y peso final (día 42). El registro del peso vivo se realizó previo del suministro de la ración del día. Finalmente, se utilizó la siguiente ecuación.

Ganancia de peso (g) = peso final, kg (día 42) - peso inicial, kg (día 35).

Índice de conversión alimenticia (ICA)

La conversión alimenticia se calculó en base a la ganancia de peso y consumo total de alimento entre el día 35 y 42:

ICA = Consumo de alimento (kg) / Ganancia peso (kg)

Coloración de tarsos

Los datos fueron tomados a los 42 días de edad (Figura 14). La definición de una pigmentación aceptable se estableció a partir de entrevistas con un representante del mercado avícola, Sr. Jesús Palacios Mercado, y una representante de la academia, Dra. Eliana Icochea D'Arrigo (Comunicación personal). Estos expertos coincidieron en que un valor igual o superior a 3 (en el Abanico de Roche) se considera un indicador de pigmentación aceptable en los tarsos de los pollos de engorde.



Figura 14. Valores de pigmentación de tarso de pollo de engorde (Cobb 500, 42 días de edad), utilizando el Abanico de Roche.

La muestra fue tomada por tres personas previamente entrenadas, cada persona asignó una calificación, siendo el resultado final el promedio de los tres (Anexo 1).

3.5 Descripción del material experimental

Material biológico

Se definieron niveles crecientes (1, 3 y 5%) de inclusión porcentual de harina de alfalfa en la dieta en base a investigaciones anteriores (Varas y Beltrán, 2010; Romero, 2014; Zheng et al., 2019; Miniguano, 2020; Guano, 2021; Saavedra, 2022; Pérez, 2023) comúnmente utilizadas.

Las aves en la recepción fueron pesadas en una balanza digital (Marca: JBC, Modelo: JCS-C, Capacidad: 3kg, Precisión: 0.1g) y colocadas de manera aleatoria en cada unidad experimental, a razón de 10 pollos/unidad experimental.

Tratamientos

- T1: 0% de inclusión de harina de harina de alfalfa (control)
- T2: 1% de inclusión de harina de alfalfa, cosechada a las 7:00 a.m.
- T3: 1% de inclusión de harina de alfalfa, cosechada a la 1:00 p.m.
- T4: 3% de inclusión de harina de alfalfa, cosechada a las 7:00 a.m.
- T5: 3% de inclusión de harina de alfalfa, cosechada a las 1:00 p.m.
- T6: 5% de inclusión de harina de alfalfa, cosechada a las 7:00 a.m.
- T7: 5% de inclusión de harina de alfalfa, cosechada a la 1:00 p.m.

Los tratamientos fueron aplicados en la etapa de finalización (35 a 42 días de edad).

Material físico

El galpón experimental fue de tipo abierto con techo a dos aguas con claraboya de 0.8 metros, los parámetros de temperatura y ventilación se manejaron mediante arpilleras manualmente. La recepción de aves se realizó utilizando comederos tipo bandeja por 2 días y bebedero tipo Plasson por 5 días, al tercer día se utilizó el comedero infantil hasta el día 7; a partir del día 7 se utilizó comedero tipo tolva y bebedero automático hasta finalizar el estudio. El calor en los 15 primeros días se generó utilizando campanas criadoras a base de gas propano, la cama (3cm de espesor) fue de viruta de madera. Las unidades experimentales (1m2 y 0.5 de alto) se realizaron con tubo de PVC de ¾" y malla plástica (Figura 13).

3.6 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental cuya distribución de los tratamientos fueron de manera aleatoria (Figura 13).



Figura 15. Diseño y distribución de los tratamientos en galpón experimental

3.7 Tamaño de muestra

El tamaño de la muestra y las repeticiones se establecieron tomando como referencia lo utilizado habitualmente en estudios similares (Estrada y González, 2017; Rojas, 2016; Tupayachi et al., 2016; Guano, 2021), considerando además las limitaciones y factores prácticos, como la disponibilidad del recurso biológico.

3.8 Análisis estadístico

Los parámetros productivos fueron evaluados mediante un análisis de varianza utilizando el diseño completamente aleatorio, cuyo modelo aditivo lineal fue:

$$Y_{ij:}\, u + t_i + e$$

Donde:

Y_{ij} = variable respuesta (ganancia de peso, consumo de alimento e ICA)

u = media poblacional

t_i = efecto del i-ésimo tratamiento

e = error experimental

La comparación de medias se realizó con la prueba Tukey ($p<0.05$). La pigmentación de tarsos de pollos de engorde fue clasificada de manera dicotómica utilizando los términos: no pigmentó (menor a 3) y sí pigmentó (entre 3 y 6).

Los datos de dosis de inclusión y hora de cosecha fueron analizados mediante la prueba de Chi cuadrado ($\alpha = 0.05$). Para el análisis de porcentaje de inclusión (tabla de contingencia: 4x2), se empleó la metodología de comparación por pares "pairwise" para analizar las proporciones de interés (Anexo 2). Se empleó el paquete estadístico R v. 4.02 (R CoreTeam, 2021).

3.9 Análisis de correlación intraclase e intervalos de confianza

Para determinar la consistencia o fiabilidad de las mediciones dentro de un grupo o clúster, se realizó el análisis de coeficiente de correlación intracluster (ICC); donde un valor 0 indica que no existe correlación entre las mediciones dentro del clúster, demostrando la independencia de las mediciones. Por otro lado, valores de 1, demuestran que las mediciones son completamente consistentes y correlacionadas.

Por otro lado, se utilizaron los siguientes métodos de intervalos de confianza, a un 95% de precisión: Smith's Large Sample Confidence Interval, Zou and Donner's Modified Wald Confidence Interval, Fleiss-Cuzick Confidence Interval, Pearson Correlation Type Confidence Interval y Resampling Based Confidence Interval.

El intervalo de confianza (CI) proporciona un rango dentro del cual se espera que se encuentre el valor verdadero del ICC. Los intervalos de confianza más estrechos indican mayor precisión en la estimación, mientras que los más amplios sugieren más incertidumbre.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Radiación solar incidente

La radiación solar en la estación meteorológica más próxima al estudio (Huancayo) fue menor durante las horas de la mañana (49 w/m^2) y alcanzó su máxima intensidad al mediodía (230 w/m^2) (Figura 16).



Figura 16. Radiación total incidente (Wh/m2) de un día típico sin nubosidad. Fuente (SENAHI).

La fisiología vegetal establece una correlación directa entre la irradiancia y la concentración de pigmentos xantofilas en las plantas, sugiriendo que un aumento en la irradiancia durante ciertas horas del día se asocia con una mayor concentración de estos pigmentos (Adams *et al.*, 1999; Manrique, 2003; Lambers *et al*., 2008; Tang *et al*., 2022). Las xantofilas, desempeñan un papel esencial en la protección de las plantas frente a la fotoinhibición causada por el exceso de luz solar, actuando como filtros y antioxidantes que absorben el exceso de energía luminosa.

4.2 Reflectancia espectral del cultivo de alfalfa

La reflectancia espectral registrada en el cultivo de alfalfa *in situ* se presentan en la figura 17.

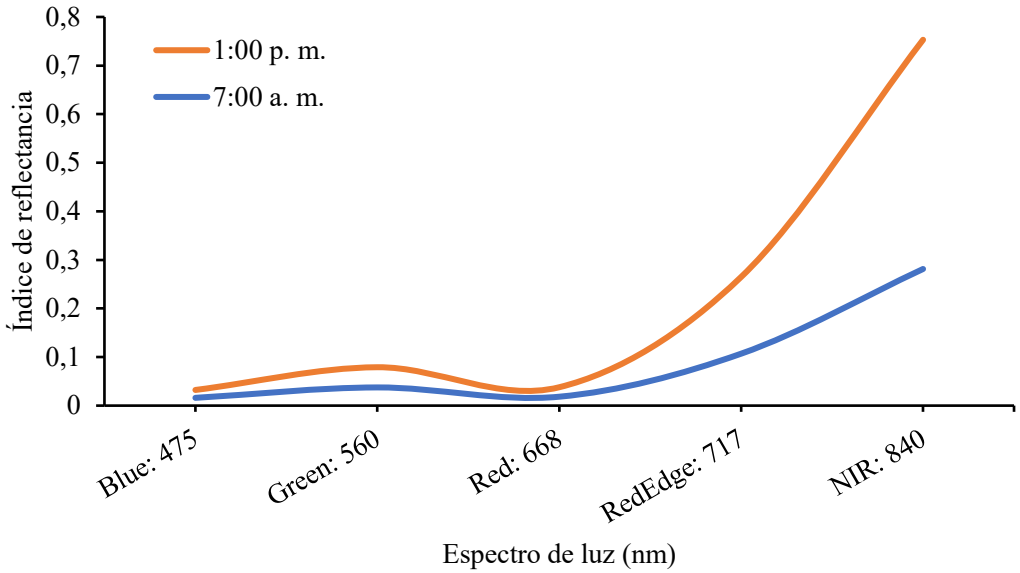


Figura 17. Reflectancia espectral de un cultivo de alfalfa en 5 bandas, registrado a las 7:00 a.m. y 1:00 p.m. en Huachac, Junín. Fecha:18 de septiembre del 2022. Latitud: 461893.46 m E, longitud: 8670626.55 m S.

En las 5 longitudes de onda registradas *in situ*, la reflectancia espectral fue mayor a la 1:00pm (Figura 17). En esta investigación se observa que la reflectancia media a 475 nm es casi constante en ambas horas del día (7am y 1pm) debido a que concentraciones moderadas a altas de clorofila tienen una alta absorción de luz en el rango de 470 a 500 nm (Gitelson y Merzlyak, 1994; Gitelson *et al.*, 1996 y 2001). Estas fluctuaciones de reflectancia en 531nm responde a los cambios fisiológicos del ciclo de las xantofilas en las hojas (Nakaji *et al* ., 2006; Gamon *et al* ., 1992). Además, se ha demostrado que el aumento de la reflectancia en el rango de 570 nm, reduce las clorofilas foliares, dando pie a la activación del ciclo de las xantofilas (Sims y Gamon, 2002; Nakaji *et al* ., 2006).

Las reflectancias en tres bandas espectrales: 510, 550, 700 y por encima de 750 nm son suficientes para estimar el contenido total de carotenoides en las hojas de las plantas de manera no destructiva (Gitelson *at al.*, 2002). Zur *et al.* (2000) indican que la mayor reflectancia alrededor de 510 nm es atribuible al contenido de pigmentos carotenoides, resultados similares de reflectancia se han observado en esta investigación, donde se evidencia una reflectancia más pronunciada en este rango a la 1 p.m.

A la 1 p.m. la luz solar incide más directamente sobre la superficie de las hojas debido a que el sol está más cerca de su punto más alto en el cielo (cenit), en comparación con la incidencia de luz más oblicua a las 7 am. La tasa fotosintética en este momento se encuentra disminuida, reflejando en mayor proporción la energía incidente. En esta investigación, los valores de reflectancia espectral registrados al medio día están directamente relacionados a la energía incidida (Benavides, 2004; Zermeño *et al.*, 2005), debido a la densidad de flujo de fotones de luz (Casierra *et al.*, 2012). Se ha demostrado, que cuando existe mayor radiación solar entre la 10:30 a.m. hasta las 2 p.m. se concentra niveles altos de zeaxantina + anteraxantina en hojas de *Alocasia brisbanensis* (Logan *et al.*, 1997).

La mayor reflectancia alrededor de 560 nm evidenciado en esta investigación es similar a lo reportado por Gitelson *et al.* (2002), quienes al evaluar la reflectancia en hojas de fagáceas y sapindáceas, en el rango de 510 a 550 nm, evidencian una estrecha relación con el contenido total de pigmentos xantofilas en las hojas. Se ha demostrado que, en diferentes especies de plantas, el alto flujo de fotones induce pequeños cambios reversibles de reflectancia cerca de 530 nm, atribuibles a al ciclo de las xantofilas, concentrando altos niveles de zeaxantina en las hojas de las plantas (Gitelson *et al.*, 2002); motivo por el cual se ha evidenciado una mejor pigmentación de tarsos en pollos de engorde cuando fueron alimentados con harina de alfalfa cosechada a la 1 p.m. (Cuadro 8). La zeaxantina se deposita en hígado, piel y tarsos de pollo (Ganguly *et al.*, 1953).

La fluorescencia máxima se produce alrededor de las 8:30 a.m., cuando la radiación fotosintéticamente activa supera los 600 µmol (fotones m-2s-1) (Moya *et al.*, 2019), luego disminuye a medida que se desarrolla la desactivación de fotones permitiendo a las plantas hacer frente al exceso de radiación incidente, cuando la transferencia de electrones se satura (Müller *et al*., 2001), generando cambios conformacionales de la xantofila violaxantina en zeaxantina (Loayza *et al.*, 2023) para captar los fotones de luz en exceso (Lambers *et al.*, 2008; Peterman *et al.*, 1997). En arboles de hojas perennes con crecimiento lento, se produce mayor grado de formación de zeaxantina en comparación con malezas de rápido crecimiento en el mismo entorno de luz y es coherente con un papel de la zeaxantina en la respuesta de la planta a la porción no utilizada de la luz (Demmig *et al.*, 2020).

4.3 Coeficiente de correlación intracluster

Los coeficientes de correlación intracluster se muestran en el cuadro 5.

Cuadro 5. Coeficientes de correlación intracluster (ICC)

n°	Coeficiente de correlación intraclúster (ICC)
1	0.04035100
2	0.02562848
3	0.06547159
4	0.04751753
5	0.04167475
6	0.02949763
7	0.05098308
8	0.08890494
9	0.02463473
10	0.05064982
11	0.01319821
12	0.03158977
13	0.02220256
14	0.10966174
15	0.02341056
16	0.02413061

Los valores de ICC en varían entre **0.0132** y **0.1097**, lo que indica una **baja correlación** intracluster, sugiriendo que las mediciones dentro de los clústeres no están correlacionadas entre sí.

4.4 Intervalos de confianza

Los intervalos de confianza fueron:

- Smith's Large Sample Confidence Interval : 0 - 0.1363918
- Zou and Donner's Modified Wald Confidence Interval : 0 - 0.6670076
- Fleiss-Cuzick Confidence Interval : 0 - 0.3467784
- Pearson Correlation Type Confidence Interval : 0 - 0.2649686
- Resampling Based Confidence Interval : 0 - 0.4243016

Intervalos más amplios: Algunos de los intervalos de confianza, como los de Zou and Donner's Modified Wald Confidence Interval (0 - 0.6670) y Fleiss-Cuzick Confidence Interval (0 - 0.3468), fueron bastante amplios, lo que indica una gran incertidumbre sobre el valor del ICC estimado.

Mientras que los intervalos más estrechos, en comparación, otros métodos, como el Smith's Large Sample Confidence Interval (0 - 0.1364) y el Resampling Based Confidence Interval (0 - 0.4243), aunque aún amplios, tuvieron un rango más acotado.

Los intervalos amplios indican que los métodos utilizados para estimar el ICC tienen una alta incertidumbre, lo que sugiere que la variabilidad dentro de los clústeres es difícil de medir con precisión. Aunque los valores de ICC son bajos, la estimación puede variar significativamente según el método empleado, lo que refleja una baja consistencia intracluster.

4.5 Parámetros productivos

El consumo de alimento, ganancia de peso e índice de conversión alimenticia, no evidenciaron diferencias estadísticas ($p>0.05$) entre los tratamientos evaluados (Cuadro 6), indicando que tanto los niveles de inclusión (1, 3 y 5%) como el tiempo de cosecha (7:00 a.m. y 1:00 p.m.) de la harina de alfalfa, no afectó a los parámetros productivos evaluados.

Cuadro 6. Consumo de alimento, ganancia de peso e índice de conversión alimenticia (ICA) en pollos de engorde Cobb500 alimentados con harina de alfalfa

Tratamiento	Consumo de alimento (kg)	Ganancia de peso (kg)	ICA
T1	0.45[a]	0.84[a]	0.55[a]
T2	0.32[a]	0.64[a]	0.50[a]
T3	0.36[a]	0.66[a]	0.53[a]
T4	0.48[a]	0.72[a]	0.65[a]
T5	0.44[a]	0.71[a]	0.62[a]
T6	0.44[a]	0.71[a]	0.63[a]
T7	0.37[a]	0.61[a]	0.60[a]
p-valor	0.645	0.16	0.118

[a] super índice: letras iguales en columnas no existen diferencias estadísticas ($p>0.05$).

Resultados similares obtuvieron Paredes y Risso (2020) al evaluar la inclusión de harina de alfalfa (5 y 10%) en la dieta, sobre rendimiento productivo, carcasa, peso de órganos digestivos y linfoides del pollo de engorde (Hubbard). Mientras que Sánchez *et al.* (2022) al evaluar el efecto

de la inclusión de harina de alfalfa (1, 2, 3 y 4%) en la alimentación de pollos de engorde Cobb 500, quienes no evidenciaron diferencias estadísticas ($p>0.05$) entre tratamientos en cuanto a consumo de alimento y conversión alimenticia de pollos de engorde cuando se les suministró harina de alfalfa en la dieta.

4.6 Pigmentación de tarsos de pollos de engorde Cobb500

El análisis de correlación intraclase arrojo un p-valor = 0.684 lo que indica que las mediciones fueron similares dentro de los grupos como entre ellos.

4.6.a Niveles de inclusión de harina de alfalfa en la dieta

Los resultados de pigmentación de tarsos de pollos de engorde en los diferentes niveles de inclusión de harina de alfalfa se presentan en el cuadro 6. 7

Cuadro 7. Tabla de contingencia de pigmentación de tarsos de pollos de engorde alimentados con 3 niveles de harina de alfalfa (HA), evaluado por Chi2

Concentración	No pigmentó	Sí Pigmentó	Fila Total
0% HA	7 0.350	13 0.650	20 0.101
1% HA	13 0.217	47 0.783	60 0.302
3% HA	5 0.083	55 0.917	60 0.302
5% HA	9 0.153	50 0.847	59 0.296
Columna Total	34	165	199
p-valor		0.03172	

Cuando no se le suministró harina de alfalfa a los pollos de engorde, se evidenció una proporción de 65% (13/20) de aves con tarsos pigmentados. Este resultado se atribuye principalmente al maíz amarillo duro ya que contiene 5 ppm de xantofilas (Leeson y Summers, 2005); otros autores reportan entre 10 y 30 ppm de xantofilas y de 1 a 4 ppm de carotenos presentes en el maíz (Cuca, 1963; Calleja, 2002), los cuales son responsables de la pigmentación en los tarsos de las aves evaluadas. La zeaxantina del maíz es altamente absorbible (Cuevas *et al*., 2003) y es la principal xantofila del maíz (Pasaporte *et al.*; Perry *et al.*, 2009); sin embargo, el mercado local para tener una buena aceptación, exige un mayor grado de pigmentación. Por otro lado, cuando se le suministró 1 y 3% de harina de alfalfa, el 78 y 92% de las aves respectivamente

lograron pigmentar los tarsos; además, cuando se suministró 5% de harina de alfalfa, el 85% de las aves lograron pigmentar.

Cuadro 8. Comparación de proporciones por pares (pairwise) de pollos de engorde alimentados con diferentes niveles de harina de alfalfa en su dieta

Dosis	0% HA	1% HA	3% HA
1% HA	0.899	-	-
3% HA	0.004	0.170	-
5% HA	0.133	1.000	1.000

*HA: harina de alfalfa

Se evidenciaron diferencias estadísticas (p=0.004) en la pigmentación de tarsos de pollos de engorde comparando el nivel de inclusión 0% *vs* 3% de harina de alfalfa en la dieta de pollos de engorde, mientras que las otras comparaciones no evidenciaron diferencias estadísticas (p>0.05) (Cuadro 8).

4.6.b Horas de cosecha de la alfalfa

Los resultados de pigmentación de tarsos de pollo alimentados con harina de alfalfa cosechada a las diferentes horas del día se presentan en el cuadro 9.

Cuadro 9. Tabla de contingencia 2x2 de pigmentación de tarsos de pollos de engorde alimentados con harina de alfalfa (HA), cosechada a las 7:00 a.m. y 1:00 p.m., evaluado por Chi2

Hora de cosecha	No Pigmentó	Sí pigmentó	Fila Total
7:00 a.m.	20 0.225	69 0.775	89 0.497
1:00 p.m.	7 0.078	83 0.922	90 0.503
Columna Total	27	152	179
p-valor		0.0067	

Se evidencio que el 77.5% de los pollos alimentados con harina de alfalfa cosechada a las 7:00 a.m. lograron pigmentar los tarsos de manera apropiada. Mientras que, cuando se alimentaron con harina de alfalfa cosechada a la 1:00 p.m., el 92.2% de los pollos lograron

pigmentar adecuadamente los tarsos (Cuadro 8). En general, el 85% de las aves evaluadas, lograron una pigmentación de tarsos de manera significativa ($p<0.05$), cuando se alimentaron con harina de alfalfa. En conclusión, la proporción de pigmentación de tarsos de pollos con un puntaje de 3 a más es mayor ($p<0.01$) a la 1:00 p.m., comparado con las 7:00 a.m.

Romero (2014) al evaluar la harina de alfalfa (dosis: 5, 10 y 15%) en la dieta al finalizar la campaña (semana 14) sobre la pigmentación de tarsos en pollos de engorde; demostró que la máxima dosis utilizada (15%) de inclusión de harina de alfalfa, pigmentó eficientemente los tarsos de pollos de engorde. Sin embargo, esta pigmentación se puede deber al nivel alto de inclusión utilizado más no al horario de cosecha ya que esta variable no fue evaluada.

Miniguano (2020) al evaluar harina de zanahoria y alfalfa a una dosis de 5 y 10% de inclusión en la dieta sobre la pigmentación de tarsos de pollos de engorde en la etapa final de producción (acabado), reportó que la inclusión de 10% de harina de alfalfa pigmentó mejor con una tonalidad naranja intenso, frente al uso de harina de zanahoria en la dieta. Por otro lado, Guano (2021) al evaluar 5, 10 y 15% de inclusión de harina de alfalfa para pigmentar la piel de pechuga de pollos de engorde durante la etapa de acabado, demostró que el tratamiento con 15% de inclusión tuvo mejor pigmentación de la piel, con una tonalidad de anaranjado intenso; ambos autores obtuvieron similares resultados cuando utilizaron niveles más altos de inclusión de harina de alfalfa en la dieta, resultados diferentes a los obtenidos en esta investigación al pigmentar tarsos, donde el nivel de inclusión más alto (5%) no evidenció la mayor cantidad de pollos pigmentados de manera adecuada. Cabe precisar que los autores antes indicados no mencionan el horario de cosecha de la alfalfa. Por el contrario, Varas y Beltrán (2010), al evaluar la pigmentación en pollos de engorde incluyendo 5, 10 y 15% de harina de alfalfa en la etapa de acabado, reportaron que la pigmentación de la piel de la pechuga de pollo no evidenció diferencias estadísticas entre tratamientos.

Saavedra *et al.* (2022) al utilizar alfalfa picada para pigmentar pollos de engorde (Cobb 500) al 2.5 y 5% de inclusión, demostraron que la dosis más baja utilizada (2.5% de inclusión) pigmentó mejor los tarsos de pollos. Ortega *et al*. (2020) utilizaron extracto de alfalfa combinado con extracto de zanahoria para la pigmentación de piel y tarsos del pollo de engorde con una concentración de 0, 5 y 10% en el agua de bebida; evidenciaron que la dosis del 10% tuvo mejor pigmentación tanto en piel como tarsos de pollo de engorde. Estos estudios no indican el horario de cosecha de la alfalfa debido a que adquieren el producto elaborado disponible en el mercado; no encontrando asociación directa entre el nivel de harina utilizado y su respuesta en la

pigmentación de pollos de engorde, es posible que otros factores como el horario de cosecha, estado fenológico y métodos de procesamiento pueden haber influenciado.

Por otro lado, Zheng *et al*. (2019), utilizaron harina de alfalfa para pigmentar yema de huevo de gallinas Beijing-you; en dosis de 5, 8 y 10% en la dieta, evidenciando un aumento del 26.53% de coloración cuando se añadió 10% de harina de alfalfa en la dieta. Por su parte, Cevallos y Tufiño (2019) al utilizar 5% de forraje de alfalfa, zanahoria y remolacha en la alimentación de gallinas Lohman Brown-classic, demostraron que no existieron diferencias estadísticas ($p>0.05$) entre los tratamientos evaluados. Pérez (2023) al utilizar dos niveles (2.5 y 5%) de inclusión de harina de alfalfa en gallinas Isa Brown, reportó que 5% de inclusión tuvo una mejor pigmentación de la yema de huevo. Estos los resultados muestran una variabilidad en la respuesta a la pigmentación utilizando dosis similares de harina de alfalfa, demostrando que existen otras fuentes de variación que deben considerarse como el horario de cosecha de la misma.

Estudios realizados en hojas de *Quercus coccifera*, para evaluar la composición de pigmentos fotosintéticos han demostrado concentraciones bajas de zeaxantina por la mañana en horas de poca irradiancia, y niveles máximos en horas de máxima irradiancia (Demmig, 1990). Por otro lado, Peguero *et al.* (2013) informaron de una relación significativa de 0.13 entre el pool de xantofilas y los periodos de mínima radiación; en contraste, durante los periodos de máxima irradiancia, esta relación (pool de xantofilas vs irradiancia) aumenta considerablemente a 0.97. Adams y Demmig (1992) al evaluar la fisiología del ciclo de las xantofilas en respuesta a los cambios diurnos en la luz solar incidente, concluyeron que las mayores cantidades de zeaxantina y las menores cantidades de violaxantina se concentran en periodos de irradiancia máxima (plena luz solar: 11 a.m. a 1 p.m.), con baja actividad fotosintética.

En hojas de *Euonymus kiautschovicus* expuestas a plena luz solar (mediodía), se registro una caída de aproximadamente de 30% de la eficiencia intrínseca del PSII, indicando un proceso de disipación de energía en respuesta a la absorción de un exceso de luz por la clorofila; este proceso estuvo acompañado con la conversión de casi el 80% del ciclo de las xantofilas en zeaxantina y anteroxantina (Adams *et al.*,1996). Schiefthaler *et al.* (1999) al evaluar la fotorregulación y fotodaño en hojas de *Schefflera arboricola* adaptadas a diferentes ambientes lumínicos, reportaron un aumento considerable de zeaxantina ($p<0.05$) del 86% junto con el incremento de la densidad de flujo de fotones fotosintéticos al medio día en hojas expuestas a pleno sol en condiciones de cielo despejado.

V. CONCLUSIONES

- La inclusión del 3% de harina de alfalfa resultó en una mayor pigmentación de los tarsos de los pollos, alcanzando un 91.7%.

- La harina de alfalfa cosechada a la 1:00 p.m. mostró un 92.2% de pollos con pigmentación de tarsos aceptable, en comparación con la harina cosechada a las 7:00 a.m. que evidencio un 77.5% de aves pigmentadas.

VI. BIBLIOGRAFIA

1. ***Aceves M. 2004.*** Cinética de la absorción, transporte y deposición de luteína en pollos de engorde. Tesis para optar el título de Médico Veterinario Zootecnista. México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México. 50 p.
2. ***Adams WW III, Demmig AB. 1992.*** Operation of the xanthophyll cycle in higher plants in response to diurnal changes in incident sunlight. Planta, 186(3), 390-398.
3. ***Adams WW III, Demmig AB. 1994.*** Carotenoid composition and down regulation of photosystem II in three conifer species during the winter. Physiologia Plantarum 92 (3): 451-458. DOI: 10.1111 / j.1399-3054.1994.tb08835.x
4. ***Adams WW III, Demmig AB, Logan BA, Barker DH, Osmond CB. 1999.*** Rapid changes in xanthophyll cycle-dependent energy dissipation and photosystem II efficiency in two vines, *Stephania japonica* and *Smilax australis*, growing in the understory of an open eucalyptus forest. Plant cell and environment 22: 125-136. DOI: 10.1046/j.1365-3040.1999.00369.x
5. ***Adams WW III, Demmig AB, Verhoeven, AS, Barker DH. 1996.*** 'Photoinhibition' during winter stress: involvement of sustained xanthophyll cycle-dependent energy dissipation. Functional Plant Biology, 22(2), 261-276.
6. ***Amella A. 1976***. Efectos del premarchitamiento de la alfalfa en el campo sobre su valor nutritivo. Sociedad española de pastos SEP PASTOS Vol. 6, Núm. 1.
7. ***Andrade J. 2014***. Evaluación de la pigmentación del pollo en pie a partir del empleo de flor de Marigold (*Tagetes erecta*). Tesis para optar el título de ingeniero agropecuario. Guayaquil. Universidad católica de Santiago de guayaquil. 74 p
8. ***Azcón-Bieto J, Talón M. 2008.*** Fundamentos de fisiología vegetal. 2da ed. Barcelona: McGraw-Hill. 651 p.
9. ***Beltrán M. 2011***. Manipulación de la senescencia de alfalfa (*Medicago sativa* l.) Por ingeniería genética. Tesis para optar el grado de Magister de la Universidad de Buenos Aires, Área Producción Vegetal. Universidad Nacional del Nordeste. 131 p
10. ***Benavides A. 2004***. Respuestas y adaptación de las plantas a la irradiancia y el balance espectral. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, departamento de horticultura. DOI: 10.13140/RG.2.2.12567.73122
11. ***Boletín estadístico mensual de la producción y comercialización de productos avícolas. 2023.*** Lima. Ministerio de desarrollo agrario y riego (MIDAGRI). [Internet], [12 mayo 2023]. Disponible en: https://siea.midagri.gob.pe/portal/phocadownload/datos_estadisticas/mensual/Avicola/2023/avicola_04_2023.pdf

12. ***Calleja Gonzales, M. J. 2002.*** Industria de Cereales y Derivados. Primera Edición (pp. 495-511). AMV EDICIONES/MUNDI-PRENSA. Madrid, España.
13. ***Calsina J. 2015***. evaluación de cuatro niveles de *Leucaena leucocephala* (lam.de wit.) en la ración de pollos parrilleros para la pigmentación de la carne en la etapa de engorde. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Mayor de San Andrés. 64 p.
14. ***Campiño R, Urquiaga S, Pino I, Montenegro A. 2003.*** Estimación de la fijación biológica de nitrógeno en leguminosas forrajeras mediante la metodología del N. Agricultura Técnica 63(2): 169-179.
15. ***Casierra PF, Ávila LO, Riascos OD. 2012.*** Cambios diarios del contenido de pigmentos fotosintéticos en hojas de caléndula bajo sol y sombra. *Temas agrarios*, *17*(1), 60-71.
16. ***Cevallos GA, Tufiño KA. 2019.*** Efecto del uso de diferentes tipos de forrajes en alimentación de gallinas de huevo comercial. Tesis para optar el título de Ingeniero Agropecuario. Universidad de las fuerzas armadas. 77 p.
17. ***Chávez P. 2018***. Uso de harina de flor de marigold (*Tagetes erecta*) en la ración y su efecto en el desempeño productivo y calidad de huevo de gallinas Novogen Brown. Tesis para optar el título de Ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 67 p.
18. ***Chen JH, Tang M, Jin XQ, Li H, Chen LS, Wang QL, Sun AZ, Yi Y, Guo FQ. 2022.*** Regulation of Calvin-Benson cycle enzymes under high temperature stress. aBIOTECH 24;3(1):65-77. DOI: 10.1007/s42994-022-00068-3
19. ***Chuquisala D. 2019***. Efecto de la inclusión de *Medicago sativa* sobre los parámetros productivos e indicadores organolépticos de la canal de pollos broiler. Tesis para optar el título de Médico veterinario zootecnista. Universidad técnica de Machala. 88 p.
20. ***Cordón G. 2009.*** Métodos ópticos no destructivos para monitoreo de salud vegetal. Tesis para optar el grado de Doctor en Química Inorgánica, Analítica y Química Física. Universidad de Buenos Aires. 224 p.
21. ***Cornacchione MV, Suarez DL. 2017.*** Evaluation of alfalfa (*Medicago sativa*) populations´response to salinity stress. Crop Science, 57 (1), 137-150
22. ***Correa R, Salgado D. 2013.*** Manejo del pastoreo en alfalfa. Revista de divulgación técnica, agrícola y agroindustrial. Nro 39. 5 p.
23. ***Cuca M, Pino J, Mendoza C. 1963***. El uso de pigmentos en la alimentación de las aves. Tec. Pec. México, 2: 39 – 42.
24. ***Cuevas B, Díaz G, Molina A, Retanal C. 2003.*** Pigmentos utilizados en raciones de gallinas ponedoras. Universidad de Chile. Editorial del Cardo. 1 (1): 1-5.

25. ***Daumard F, Goulas Y, Champagne S, Fournier A, Ounis A, Olioso A, Moya I. 2012.*** Canopy level chlorophyll fluorescence at 760 nm better tracks in-field sorghum growth. IEEE Trans Geosci Remote Sens 50(11):4292–4300
26. ***De Blas C, Mateos G, Rebollar P.*** **2010**. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de los alimentos para la fabricación de piensos compuestos. Capitulo Alfalfa, alimentos fibrosos. Fundación española para el desarrollo de la nutrición animal FEDNA 3ra ed. 282 – 293 p.
27. ***Demmig AB. 1990.*** Zeaxanthin-associated energy dissipation and the susceptibility of various organisms to light stress. Current research in photosynthesis vol II: 357-364. DOI: 10.1007/978-94-009-0511-5_305
28. ***Demmig AB, Winter K, Kruger A, Czygan FC. 1987.*** Photoinhibition and zeaxanthin formation in intact leaves. A possible role of the xanthophyll cycle in the dissipation of excess light energy. Plant physiology 84 (2): 218-224. DOI: 10.1104/pp.84.2.218
29. ***Demmig AB, Stewart JJ, López PM, Polutchko SK, Adams WW. 2020.*** Zeaxanthin, a molecule for photoprotection in many different environments. *Molecules*, *25*(24), 5825.
30. ***Dong XF, Gao WW, Tong JM, Jia HQ, Sa RN, Zhang Q. 2007.*** Effect of Polysavone (Alfalfa Extract) on Abdominal Fat Deposition and Immunity in Broiler Chickens. Poultry Science 86: 1955–1959. DOI: 10.1093/ps/86.9.1955
31. ***Eskling M, Arvidsson P, Akerlund H. 1997***. The xanthophyll cycle, its regulation and components. Physiologia Plantarum 100: 806-816
32. ***Espinoza L, Chávez E. 2019***. El otro genoma de las plantas: Cloroplastos y su ADN. [Internet] [07 enero 2023]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/343141166_El_otro_genoma_de_las_plantas_los_cloroplastos_y_su_ADN
33. ***Estévez R. 2016***. Biomarcadores de luteína, zeaxantina y otros carotenoides en la relación dieta y salud ocular humana. Tesis para optar el grado de Doctor. España: Universidad complutense de Madrid. 375 p.
34. ***Estrada GT, González DN. 2017.*** Tratado de estadística experimental. 1° Ed. Jalisco: Centro de estudios e investigaciones para el desarrollo docente. 267p.
35. ***Fletcher DL. 1992.*** Methodology for achieving pigment specifications. Poult Sci 71: 733-743. DOI: 10.3382/ps.0710733
36. ***Flores DF.*** **2015**. La alfalfa (*Medicago sativa*): origen, manejo y producción. Conexagro JDC Vol. 5 Nro 1: 27 – 43
37. ***Frade N, Hernández X, Fuente B, Quiroz M, Ávila E, Tellez G. 2016***. Efecto de la infección con *Eimeria acervulina, E. maxima y E. tenella* en la absorción y el depósito del pigmento en la piel de pollos de engorde. SciElo Vol 48 nro 2. DOI: 10.4067/S0301-732X2016000200010

38. ***Frank H, Cogdell R. 1996***. Carotenoids in Photosynthesis. Photochemistry and Photobiology, 63(3): 257-264
39. ***Fundacion española para el desarrollo de la nutricion animal (FEDNA). 2018.*** Alfalfa en rama. [Internet], [17 mayo 2024]. Disponible en: https://bit. ly/3EkDieK
40. ***Galobart J, Sala R, Rincòn-Carruyo X, Manzanilla E, Vila B, Gasa J. 2004.*** Egg Yolk Color as Affected by Saponification of Different Natural Pigmenting Sources. J. Appl. Poult. Res. 13: 328–334 DOI: 10.1093/japr/13.2.328
41. ***Gamon JA, Penuelas J, Field CB. 1992.*** A narrow-waveband spectral index that tracks diurnal changes in photosynthetic efficiency. *Remote Sensing of environment*, *41*(1), 35-44.
42. ***Ganguly J, Mehl JW, Deuel HJ. 1953.*** Studies on carotenoid metabolism: XII. The effect of dietary carotenoids on the carotenoid distribution in the tissues of chickens. The Journal of Nutrition 50 (1): 59–72. DOI: 10.1093/jn/50.1.59
43. ***Garlich JD, Bryant DM, Covington HM, Chamblee DS, Purcell AE. 1974.*** Egg yolk and broiler skin pigmentation with sweet potato vine meal. Poultry Science, 53(2), 692-699.
44. ***Gitelson AA, Merzlyak MN. 1994.*** Quantitative estimation of chlorophyll-a using reflectance spectra: experiments with autumn chestnut and maple leaves. J. Photochem. Photobiol. B 22, 247–252.
45. ***Gitelson AA, Kaufman YJ, Merzlyak M.N. 1966.*** Use of a green channel in remote sensing of global vegetation from EOS-MODIS. Remote Sens. Environ. 58, 289–298.
46. ***Gitelson AA, Merzlyak MN, Chivkunova OB. 2001.*** Optical properties and non-destructive estimation of anthocyanin content in plant leaves. Photochem. Photobiol. 74, 38–45.
47. ***Gitelson AA, Zur Y, Chivkunova OB, Merzlyak MN. 2002.*** Assessing carotenoid content in plant leaves with reflectance spectroscopy. Photochemistry and photobiology, 75(3), 272-281.
48. ***Guano FJ. 2021.*** Utilización de tres niveles de harina de alfalfa (*Medicago sativa*) en la etapa de finalización para la pigmentación de la carne en pollos broiler. Proyecto de Investigación para optar el Título de Médico Veterinario y Zootecnista. Ecuador: Universidad técnica de Cotopaxi. 57 p.
49. ***Guiwen H, Li Z, Md Safiqur R, Yajin Y, Qingqing L, Long C, Aiwei G. 2021.*** Influence of alfalfa meal, as a source of dietary fibre, on growth performance, development, pH of gastrointestinal tract, blood biochemical profile, and meat quality of broilers. Journal of Applied Animal Research 49: 1, 431-439. DOI: 10.1080/09712119.2021.2000417

50. ***Hashimoto H, Uragami C, Cogdell R. 2016.*** Carotenoides y fotosíntesis. En carotenoides en la naturaleza. 1ra ed. EEUU: Springer. p 111 - 139.
51. ***Hencken H. 1992***. Comportamiento químico y fisiológico de los carotenoides para alimentación y sus efectos en la pigmentación. Poul. Sc. 71: 711 – 717.
52. ***Hernández M. 2018***. La pigmentación de huevos y pollos de engorda. [Internet] [07 enero 2023] . Disponible en: https://bmeditores.mx/avicultura/la-pigmentacion-de-huevos-y-pollos-de-engorda-1254/
53. ***Holdridge LR. 2000.*** *Ecología basada en zonas de vida (Quinta reimpresión)*. San José, Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
54. ***Jiang, J,Song, X, Huang, J, Wu D, Zhou H, Zheng, 2012***. Effects of alfalfa meal on carcase quality and fat metabolism of Muscovy ducks. Br. Poult. Sci. 53:681–688
55. ***Kuzmicky DD, Kohler GO, Livingston AL, Knowles RE, Nelson JW. 1967.*** Pigmentation potency of xanthophyll sources. Poult Sci 47 (2): 389-397. DOI: 10.3382/ps.0470389
56. ***Lambers H, Chapin F, Pons T. 2008.*** Ecología fisiológica de las plantas. 2da ed. USA: Springer. 604 p.
57. ***Laudadio V, Ceci N, Lastella M, Tufarelli V. 2014.*** Low-fiber alfalfa (*Medicago sativa* L.) meal in the laying hen diet: effects on productive traits and egg quality. Poult. Sci. 93:1868–1874.
58. ***Leeson S, y Summers J. 2001.*** Scott's. Nutrition of the chicken. 4rd edition. University Books, Guelph, Ontario, Canada.
59. ***Littlefiel LH, Bletner JK, Shirley HV, Goff OE. 1972.*** Locating the site of absorption of xanthophyll in the chicken by a surgical technique. Poult Sci 51 (5): 1721-1725. DOI: 10.3382/ps.0511721
60. ***Liu T, Li Z, Wang T, Zhu X. 2016.*** Effects of Alfalfa Saponins on Cholesterol Metabolism in Broilers. J Nutr Food Sci 2016, 6:5. DOI: 10.4172/2155-9600.1000546
61. ***Livingston AL; Knowles RE; Nelson JW; Kohler GO. 1968***: "Xanthophylls and carotene loss during pilot and industrial scale alfalfa processing". J. Agr. Food Chem. 16 (1), 84-87
62. ***Llamas F; Acedo C. 2016***. Las Leguminosas (Leguminosae o Fabaceae): una síntesis de los usos y de las clasificaciones, taxonomía y filogenia de la familia a lo largo del tiempo. AmbioCiencias 14: 5-18.
63. ***Loayza H, Moya I, Quiroz R, Ounis A, Goulas Y. 2023.*** Active and passive chlorophyll fluorescence measurements at canopy level on potato crops. Evidence of similitude of diurnal cycles of apparent fluorescence yields. Photosynthesis Research, 155(3), 271-288.

64. Logan BA, Barker DH, Adams WW, Demmig AB. 1997. La respuesta de la disipación de energía dependiente del ciclo de la xantofila en Alocasia brisbanensis a las manchas solares en una selva tropical subtropical. Aust. J. Plant Physiol. , 24 , 27–33.

65. ***McGilvery R. 1977.*** Fotosíntesis. Conceptos bioquímicos. España: Reverté. p pp. 311–312.

66. ***Manrique E. 2003.*** Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz. Revista Ecosistemas vol 12 (1).

67. ***Martínez M, Cortez A, Ávila E. 2004.*** Evaluación de tres niveles de pigmento de flor de cempasúchil (*Tagetes erecta*) sobre la pigmentación de la piel en pollos de engorda. Téc Pecu Méx, 42(1):105-111

68. ***Marusich WL, Ogrinz EF, Camerlengo N, McCambley J, Mitrovic M. 1976.*** Zeaxanthin as a broiler pigmenter. Poultry Science, 55(4), 1486-1494.

69. ***Meléndez MA, Vicario I, Heredia F. 2004***. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. Archivos latinoamericanos de nutrición ALAN 54: 2. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000200011

70. ***Miniguano VJ***. 2020. Efecto de la utilización de harina de zanahoria (*Daucus carota*) y alfarina (*Medicago sativa*) en la pigmentación y características organolépticas de la carne de pollo broiler. Proyecto de Investigación para optar del Título de Médico Veterinario y Zootecnista. Ecuador: Universidad técnica de Cotopaxi. 92 p.

71. ***Moya I, Loayza H, López ML, Quiroz R, Ounis A, Goulas Y. 2019***. Fluorescencia de clorofila del dosel aplicada a la detección de estrés mediante un micro-lidar fácil de construir. Fotosíntesis Res 142:1–15. https://doi.org/10.1007/s11120-019-00642-9

72. ***Müller P, Li XP, Niyogi KK. 2001.*** Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. Plant Physiol 125(4):1558–1566. https://doi.org/10.1104/pp.125.4.1558

73. ***Nakaji T, Oguma H, Fujinuma Y. 2006.*** Seasonal changes in the relationship between photochemical reflectance index and photosynthetic light use efficiency of Japanese larch needles. *International Journal of Remote Sensing*, *27*(3), 493-509.

74. ***Nie W, Zhang YX. 1999.*** Progress of the immunomodulating effect of polysaccharides and their mechanisms. Chin. Pharmacol. Bull. 15: 484–487

75. ***Ortega R, Solorzano J, Benitez E, Chamba H, Cordero F, Vacacela W. 2020.*** Efecto de zanahoria (*Daucus carota*) y alfalfa (*Medicago sativa*) en pigmentación de carne de pollo. Bosques latitude cero vol 10 (1): 39 – 45.

76. ***Pantoja L, Gonzales O. 2020.*** Salud intestinal y pigmentación del pollo de engorde. Revista NutriNews. [Internet], [28 marzo 2024]. Disponible: https://nutrinews.com/salud-intestinal-y-pigmentacion-del-pollo-de-engorde/

77. ***Paredes M, Risso AL.*** 2020. Efectos de la inclusión dietaria de harina de alfalfa sobre rendimiento productivo, carcasa y peso de órganos digestivos y linfoides del pollo de engorde tipo orgánico. Rev Inv Vet Perú 31 (2). DOI: 10.15381/rivep.v31i2.17846
78. ***Pasaporte MS, Rabaya FJ, Toleco MM, Flores DM. 2014.*** Xanthophyll content of selected vegetables commonly consumed in the Philippines and the effect of boiling. Food Chemistry, 158, 35-40.
79. ***Peterman JG, Gradinaru CC, Calkoen F, Borst JC, Grondelle R, Amerongen H. 1997.*** Xanthophylls in light-harvesting complex II of higher plants: light harvesting and triplet quenching. Biochemistry 36, 12208–12215.
80. ***Peguero PJ, Gil PE, Morales F. 2013***. Three pools of zeaxanthin in Quercus coccifera leaves during light transitions with different roles in rapidly reversible photoprotective energy dissipation and photoprotection. Journal of Experimental Botany, 64(6), 1649-1661.)
81. ***Pérez M. 2000***. El ciclo de las xantofilas en plantas sometidas a estrés nutricional o climático. Tesis para optar el grado de Doctor en Ciencias. Zaragoza: Universidad de Zaragoza. 249 p.
82. ***Pérez AM, Hernandez JM, Llaurado L, Schierle J, Brufau J. 2001.*** Influence of source and ratio of xanthophyll pigments on broiler chicken pigmentation and performance. Poultry science, 80(3), 320-326.
83. ***Pérez J. 2023.*** Efecto de dos niveles de harina de alfalfa (*Medicago sativa*) sobre la coloración de la yema de huevo en gallinas de postura de la línea isa brown en la comunidad apinguela. Tesis para optar el grado de Ingeniero de producción y comercialización agropecuaria. Universidad Mayor de San Andrés. Bolivia. 29 p.
84. ***Perry A, Rasmussen H, Johnson EJ. 2009.*** Xanthophyll (lutein, zeaxanthin) content in fruits, vegetables and corn and egg products. *Journal of food Composition and Analysis*, *22*(1), 9-15.
85. ***Pfündel E, Bilger W. 1994.*** Regulation and possible function of the violaxanthin cycle. Photosynth Res 42: 89-109. DOI: 10.1007/bf02187121
86. ***Ponte P, Mendes I, Quaresma M, Aguiar M, Lemos J, Ferreira L, Soares M, Alfaia C, Prates J, Fontes C. 2004.*** Cholesterol Levels and Sensory Characteristics of Meat from Broilers Consuming Moderate to High Levels of Alfalfa. Poultry Science 83: 810–814. DOI: 10.1093/ps/83.5.810
87. ***Quituisaca NM. 2022.*** Uso de harina de alfalfa (*Medicago sativa*) como fuente de proteína en la dieta de pollos de engorde. Tesis para optar el grado de Ingeniero Agropecuario. Ecuador. 61 p.

88. ***Rajput N, Naeem M, Ali S, Rui Y, Tian W. 2012.*** Effect of dietary supplementation of marigold pigment on immunity, skin and meat color, and growth performance of broiler chickens. Brazilian Journal of Poultry Science, 14, 291-295.
89. ***Rajput N, Naeem M, Ali S, Zhang JF, Zhang L, Wang T. 2013***. The effect of dietary supplementation with the natural carotenoids curcumin and lutein on broiler pigmentation and immunity. Poultry Science, 92(5), 1177-1185.
90. ***R Core Team. 2021.*** R: A Languageand environment for statistical compu-ting. R Foundation for Statistical Compu-ting, Vienna, Austria. URL: https://www.R-project.org/.
91. ***Rodriguez-Amaya DB. 2001***. A guide to carotenoid analysis in foods. ILSI Human Nutrition Institute. [Internet], [18 diciembre 2023]. Disponible en: https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1127576
92. ***Rojas J. 2016.*** Efecto de la harina de acidote (*Bixa orellana*.) en la pigmentación de pollos de carne COBB- 500. Tesis para optar el grado de Ingeniero Zootecnista. Chachapoyas: Univ. Nac. Toribio Rodríguez de Mendoza. 61p.
93. ***Romero A. 2014.*** Utilización de harina de alfalfa (*Medicago sativa*) como pigmentante en el engorde de pollos parrilleros. Tesis para optar el título de Médico Veterinario y Zootecnista. Machala: Universidad técnica de Machala. 52 p.
94. ***Russell AE, Laird DA, Mallarino AP. 2006.*** Nitrogen fertilization and cropping system impacts on soil quality in Midwestern Mollisols. Soil Science Society of América Journal, 70(1), 249-255.
95. ***Saavedra HH, Rojas MA, González I. 2022.*** *Medicago sativa*, suplemento en la alimentación de pollos de engorde. ECOAgropecuaria Vol. 1 (1) 2022. 24-29 p.
96. ***Sánchez A, Flores LB, Langley E, Martin R, Maldonado G, Sánchez G. 1999.*** Carotenoides: estructura, función, biosíntesis, regulación y aplicaciones. Revista Latinoamérica de microbiología. 41: 175-191.
97. ***Sánchez AR, Chuquisala DV, Pogo GA, Chalco AM, Peláez HO, Álvarez CA. 2022.*** Efecto de la inclusión de Medicado sativa en la alimentación de pollos Cobb 500. Rev Cient FVC-LUZ/Vol 32 DOI: 10.52973/rcfcv-e32108
98. ***Schiefthaler U, Russell AW, Bolhàr-Nordenkampf HR, Critchley C. 1999***. Photoregulation and photodamage in *Schefflera arboricola* leaves adapted to different light environments. *Functional Plant Biology*, *26*(5), 485-494.
99. ***Sims DA, Gamon JA. 2002.*** Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote sensing of environment*, *81*(2-3), 337-354.
100. ***Sirri F, Iaffaldano N, Minelli G, Meluzzi A, Rosato M, Franchini A. 2007.*** Comparative Pigmentation Efficiency of High Dietary Levels of Apo-Ester and Marigold Extract on

Quality Traits of Whole Liquid Egg of Two Strains of Laying Hens. Journal of Applied Poultry Research 16: 3, 429-437. DOI: 10.1093/japr/16.3.429

101. ***Solorzano J. 2018***. Efecto de la zanahoria (*Daucus carota*) y alfalfa forrajera (*Medicago sativa*) en la pigmentación y características organolépticas de la carne de pollo broiler, en la ciudad de Loja. Tesis para optar el título de Ingeniero en administración y producción agropecuaria. Universidad nacional de Loja. Ecuador. 53 p
102. ***Soto P, Jahn B, Velasco H, Arredondo S. 2005.*** Especies Leguminosas Forrajeras para Cortes en Suelos Arcillosos de Mal Drenaje. Agricultura Técnica 65 (2): 157-164
103. ***Taiz, L, Zeiger E. 2002***. Plant physiology. Sinauer Associates. Third Edition. New York. 690 p.
104. ***Tang W, Guo H, Baskin C, Xiong W, Yang C, Li Z, Sun J. 2022.*** Effect of light intensity on morphology, photosynthesis and carbon metabolism of alfalfa (*Medicago sativa*) seedlings. Plants, 11(13), 1688. DOI: 10.3390/plants11131688
105. ***Tepox M. 2013.*** Absorción, depósito y eliminación de pigmento con diferentes programas de adición de xantofilas en dietas de pollo de engorda. Tesis para optar el grado de Magister en Medicina Veterinaria y Zootecnia. México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México. 80 p.
106. ***Toledo-Ortiz G, Huq E, Rodríguez M. 2010.*** Regulación directa de la expresión del gen fitoeno sintasa y la biosíntesis de carotenoides mediante factores que interactúan con el fitocromo. PNAS vol 107 nro 25. DOI: 10.1073/pnas.0914428107
107. ***Tunio MT, Yang S, Chen Z, Zubair M, Qiu J, Zhao Y, Chen A. 2013.*** Effect of pigments with different origins on pigmentation and performance of broilers. Pakistan Journal of Zoology, 45(6).
108. ***Tupayachi G, Zea O, Vílchez C. 2016.*** Efecto de la suplementación con harina de yacón o aceite de copaiba sobre el comportamiento productivo e integridad intestinal de pollos inoculados con coccidias. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 27(3), 475-485.
109. ***Tyczkowski J, Hamilton B. 1986.*** Absorption, transport and deposition in chickens of lutein diester a carotenoid extracted from marigold (*Tagetes erecta*) petals. Poult Sci 65: 1526-1531. DOI: 10.3382/ps.0651526
110. ***Val J, Heras L, Monge E. 1987.*** El cloroplasto: composición, función y estructura. An Edafol Agrobiol 46 (11-12):1477-1502.
111. ***Varas B, Beltrán L. 2010.*** Evaluar la pigmentación en la crianza de pollos broiler de engorde, con un balanceado comercial, adicionando tres porcentajes extras de harina de alfalfa (5%, 10% y 15%) a su composición alimenticia. Tesis para optar el título de Ingeniero Agropecuario Industrial. Cuenca: Universidad Politécnica Salesiana. 90 p.

112. ***Wang, J, Fan H, Zhou J. 2017***. Pyrosequencing of the broiler chicken gastrointestinal tract reveals the regional similarity and dissimilarity of microbial community. Can. J. Anim. Sci. 97:302–313.

113. ***Zavala J. 2019.*** Comparación entre pigmento natural y sintético para la coloración de la yema de huevo en aves de postura de la hacienda "la concepción", pichincha. Tesis para optar el título de médico veterinario zootecnista. Universidad de las Américas UDLA. Ecuador. 59 p.

114. ***Zermeño GA, Montemayor TJ, Munguía LJ, Ibarra JL, Cadena ZM. 2005.*** Reflectividad y absortividad de la radiación en tres densidades de planta y su relación con el rendimiento de maíz variedad Cafime. Agrociencia, 39(3), 285-292.

115. ***Zheng M, Mao P, Tian X, Guo O, Meng L. 2019.*** Effects of dietary supplementation of alfalfa meal on growth performance, carcass characteristics, meat and egg quality, and intestinal microbiota in Beijing-you chicken. Poultry science vol 98 (5): 2250-2259 DOI: 10.3382/ps/pey550

116. ***Zhu NH, Zhang RJ, Wu H, Zhang B. 2009.*** Effects of Lactobacillus cultures on growth performance, xanthophyll deposition, and color of the meat and skin of broilers. Journal of Applied Poultry Research, 18(3), 570-578.

117. ***Zur Y, Gitelson AA, Chivkunova OB, Merzlyak MN. 2000.*** The spectral contribution of carotenoids to light absorption and reflectance in green leaves. In Proceedings of the Second International Conference on Geospatial Information in Agriculture and Forestry, Vol. 2, pp. II-17–II-23. Lake Buena Vista, FL.

VII. ANEXOS

Anexo 1. Promedio de los niveles de pigmentación de los tratamientos dados por los tres evaluadores

Tratamiento 1

Evaluador			T1	
1	2	3	Promedio	Final
3	3	3	3.00	3
3	3	4	3.33	3
2	3	3	2.67	3
4	5	4	4.33	4
3	2	3	2.67	3
3	4	3	3.33	3
2	3	2	2.33	2
2	2	2	2.00	2
2	3	3	2.67	3
3	2	3	2.67	3
2	3	2	2.33	2
3	3	2	2.67	3
2	2	2	2.00	2
2	2	2	2.00	2
2	3	3	2.67	3
2	3	2	2.33	2
2	3	3	2.67	3
2	5	4	3.67	4
2	3	3	2.67	3
2	2	3	2.33	2

Tratamiento 2

Evaluador			T2	
1	2	3	Promedio	Final
4	4	4	4.00	4
3	2	2	2.33	2
3	3	4	3.33	3
2	3	2	2.33	2
3	3	3	3.00	3
5	4	4	4.33	4
2	3	3	2.67	3
3	3	5	3.67	4
2	4	3	3.00	3
2	2	3	2.33	2
2	4	2	2.67	3
2	3	2	2.33	2
3	2	3	2.67	3
3	2	2	2.33	2
3	3	2	2.67	3
3	2	3	2.67	3
2	2	3	2.33	2
2	2	3	2.33	2
2	2	3	2.33	2
2	2	2	2.00	2
5	4	4	4.33	4
6	4	3	4.33	4
3	2	2	2.33	2
5	5	5	5.00	5
2	2	4	2.67	3
2	3	3	2.67	3
5	3	3	3.67	4
2	3	2	2.33	2
3	4	3	3.33	3
3	2	3	2.67	3

Tratamiento 3

Evaluador			T3	
1	2	3	Promedio	Final
3	3	4	3.33	3
2	3	3	2.67	3
5	4	4	4.33	4
2	4	4	3.33	3
3	4	4	3.67	4
3	3	4	3.33	3
2	4	3	3.00	3
4	4	5	4.33	4
4	4	4	4.00	4
5	4	5	4.67	5
3	4	5	4.00	4
3	5	3	3.67	4
5	5	4	4.67	5
2	4	2	2.67	3
3	3	2	2.67	3
2	3	3	2.67	3
3	2	2	2.33	2
3	3	2	2.67	3
2	3	2	2.33	2
5	5	6	5.33	5
5	5	5	5.00	5
3	2	3	2.67	3
4	4	5	4.33	4
2	3	3	2.67	3
4	6	6	5.33	5
4	4	5	4.33	4
4	5	5	4.67	5
3	4	4	3.67	4
3	3	5	3.67	4
6	6	5	5.67	6

Tratamiento 4

Evaluador			T4	
1	2	3	Promedio	Final
4	4	3	3.67	4
5	5	3	4.33	4
2	3	3	2.67	3
3	4	3	3.33	3
4	5	5	4.67	5
3	3	4	3.33	3
4	3	3	3.33	3
5	6	5	5.33	5
2	3	3	2.67	3
4	4	5	4.33	4
5	5	4	4.67	5
3	2	4	3.00	3
2	3	3	2.67	3
3	4	4	3.67	4
4	4	3	3.67	4
3	2	3	2.67	3
5	4	5	4.67	5
4	4	5	4.33	4
3	5	4	4.00	4
2	3	3	2.67	3
2	4	4	3.33	3
3	3	4	3.33	3
3	4	4	3.67	4
3	2	2	2.33	2
3	2	2	2.33	2
3	3	2	2.67	3
2	3	3	2.67	3
3	4	3	3.33	3
3	4	3	3.33	3
3	3	4	3.33	3

Tratamiento 5

Evaluador			T5	
1	2	3	Promedio	final
3	4	4	3.67	4
3	4	3	3.33	3
2	3	3	2.67	3
3	6	5	4.67	5
3	4	3	3.33	3
3	5	5	4.33	4
3	4	3	3.33	3
4	5	4	4.33	4
4	6	6	5.33	5
2	3	3	2.67	3
3	5	5	4.33	4
2	3	4	3.00	3
3	3	5	3.67	4
5	4	4	4.33	4
5	5	3	4.33	4
4	3	4	3.67	4
2	3	3	2.67	3
2	2	3	2.33	2
4	5	5	4.67	5
5	4	5	4.67	5
2	3	3	2.67	3
3	3	2	2.67	3
3	3	2	2.67	3
3	4	4	3.67	4
3	4	3	3.33	3
4	3	4	3.67	4
4	5	5	4.67	5
2	2	3	2.33	2
3	6	5	4.67	5
3	2	2	2.33	2

Tratamiento 6

Evaluador			T6	
1	2	3	Promedio	Final
3	2	2	2.33	2
2	3	4	3.00	3
3	2	2	2.33	2
3	2	2	2.33	2
3	3	4	3.33	3
3	2	2	2.33	2
7	6	6	6.33	6
3	4	3	3.33	3
2	2	3	2.33	2
2	2	2	2.00	2
4	4	5	4.33	4
3	4	4	3.67	4
3	3	4	3.33	3
2	3	3	2.67	3
5	4	4	4.33	4
3	2	2	2.33	2
2	2	4	2.67	3
3	2	3	2.67	3
3	2	3	2.67	3
3	2	2	2.33	2
3	3	2	2.67	3
3	4	4	3.67	4
3	5	4	4.00	4
2	3	3	2.67	3
5	6	5	5.33	5
3	5	5	4.33	4
3	4	3	3.33	3
4	3	3	3.33	3
3	3	4	3.33	3
3	3	2	2.67	3

Tratamiento 7

Evaluador			T7	
1	2	3	Promedio	Final
2	3	3	2.67	3
3	4	4	3.67	4
2	4	2	2.67	3
2	3	3	2.67	3
5	5	6	5.33	5
4	5	5	4.67	5
5	6	5	5.33	5
3	3	2	2.67	3
4	3	3	3.33	3
5	4	4	4.33	4
4	6	5	5.00	5
6	6	5	5.67	6
6	5	5	5.33	5
5	3	5	4.33	4
6	4	6	5.33	5
5	5	6	5.33	5
2	3	3	2.67	3
4	3	4	3.67	4
3	2	3	2.67	3
4	4	5	4.33	4
4	4	5	4.33	4
2	4	2	2.67	3
2	2	3	2.33	2
5	4	4	4.33	4
5	5	6	5.33	5
3	4	3	3.33	3
4	4	5	4.33	4
2	3	2	2.33	2
2	3	3	2.67	3
3	2	3	2.67	3

Anexo 2. Comparación por pares "*pairwise*" para la variable porcentaje de inclusión de harina de alfalfa en la dieta.

```
Pairwise comparisons using Pairwise comparison of proportions
  1     2     3
2 0.899 -     -
3 0.004 0.170 -
4 0.133 1.000 1.000
```