



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

**DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES**

**EVALUAR EL IMPACTO NUTRICIONAL Y METABÓLICO DEL
EXTRACTO DE MORINGA (*Moringa oleífera*) EN RUMIANTES**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

PRESENTA:

JUAN PEDRAZA HERNÁNDEZ

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, Enero de 2021



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

**DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES**

**EVALUAR EL IMPACTO NUTRICIONAL Y METABÓLICO DEL
EXTRACTO DE MORINGA (*Moringa oleifera*) EN RUMIANTES**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

PRESENTA:

JUAN PEDRAZA HERNÁNDEZ

COMITÉ DE TUTORES:

DR. ABDELFATTAH ZEIDAN MOHAMED SALEM

Director de Tesis

**DRA. MONA MOHAMED MOHAMED YASSEEN
ELGHANDOUR**

Codirectora de Tesis

DR. LUIS MIGUEL CAMACHO DÍAZ

Asesor de Tesis

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, Enero 2021

RESUMEN

En los últimos años, los investigadores se concentraron en la utilización de los aditivos para la nutrición animal como: extracto de plantas, levaduras, aceites esenciales, enzimas como estrategias de alimentación buscando alternativas en la nutrición animal; Por tal motivo constantemente se están evaluando aditivos alimenticios tales como los extractos derivados de arbóreas y arbustivas forrajeras motivo de la presente investigación la cual la dividimos en dos etapas: Experimento 1, se evaluó un ensayo *in vitro* con el objetivo de evaluar el impacto nutricional del extracto de Moringa (*Moringa oleífera*) y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) sobre la fermentación ruminal y emisión de gases (CH₄ y CO₂). En el experimento 2, se realizaron dos experimentos *in vivo* donde se evaluó el impacto nutritivo del extracto de moringa sobre la respuesta productiva en caprinos y efecto antiparasitario. En la primera etapa se realizó evaluación *in vitro*, se evaluó para explorar la mitigación sostenible de la producción de metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) en caprinos, utilizando extracto de *M. oleífera* y cultivo de levadura viva *S. cerevisiae* como suplementos alimenticios. Los tratamientos incluyen la suplementación de 0 (control), 0.6 y 1.8 mL/g de materia seca de extracto de *M. oleífera* y 0 (control), 2 y 4 mg/g de materia seca de *S. cerevisiae* comercialmente disponibles en la dieta de alimentación. La producción de gas *in vitro*, las emisiones de CH₄ y CO₂ a partir de inóculos de rumen se estimaron utilizando la metodología estándar. Dosis más altas de extracto de *M. oleífera* y *S. cerevisiae* tendieron a aumentar la producción de gas asintótica (P>0.05). Se estimó que la tasa fraccional de producción de gas era significativa (P<0.05) debido a la suplementación de extracto de *M. oleífera* y *S. cerevisiae*. El tiempo de retraso aumentó linealmente pero solo el extracto de *M. oleífera* lo afectó de manera cuadrática (P=0.041). La producción asintótica de CH₄, la tasa de emisión de CH₄ y el tiempo de retraso tendieron a disminuir (P>0.05) con las dosis variadas de aditivos. La interacción extracto de *M. oleífera* × *S. cerevisiae* tuvo una influencia no significativa (P>0.05) sobre la emisión asintótica de CO₂, la tasa fraccional de emisión de CO₂ y el tiempo de retraso, además, la inclusión de *S. cerevisiae* exhibió la producción de gas aumentada de una manera dependiente del tiempo.

Se estimó que la producción proporcional de CH₄ disminuía ($P>0.05$) a altas dosis de extracto de *M. oleífera* y *S. cerevisiae* a las 72 h de incubación. Contrariamente a esto, la producción proporcional de CO₂ se redujo (efecto cuadrático, $P=0.031$) a las 72 h de incubación. De manera concisa, la adición de extracto de *M. oleífera* en combinación con *S. cerevisiae* en las dietas es una novedad, sería un enfoque invaluable en términos de mitigar la emisión de CH₄ y CO₂ de las ovejas. Estos aditivos en concentraciones diversificadas pueden utilizarse como productos limpiadores y agentes aditivos pronunciados para el ecosistema y el ganado. En la segunda etapa evaluación *in vivo* el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de compuesto bioactivos del extracto de hojas de *M. oleífera* como aditivo alimentario para la carga de helmintos y el rendimiento de crecimiento de las cabras. Los atributos antihelmínticos de los compuestos bioactivos de *M. oleífera* se evaluaron frente a diferentes 30 nematodos utilizando metodología estándar. Un experimento completamente aleatorio con tres tratamientos compuestos por 10 cabras en cada tratamiento. Tratamientos utilizados en el presente experimento fueron: Tratamiento 1 (T1) - 0 mL de extracto, Tratamiento 2 (T2) - 30 mL de extracto, y Tratamiento 3 (T3) - 60 mL de extracto. Parámetros sobre respuesta productiva; ganancia diaria de peso, conversión alimenticia, pesos de los animales alimentadas con concentraciones variadas de *M. oleífera* se estimaron compuestos bioactivos de *M. oleífera*. Los compuestos bioactivos del extracto de *M. oleífera* se analizaron mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS). Además, el análisis GC-MS mostró la presencia de Heneicosano (35,69%), 1,2- 38 ácido bencenodicarboxílico (22,89%), heptacosano (18,26%), pentatriacontano (4,77%) y 39 Ácido hexadecanoico, éster etílico (3%) como compuestos predominantes en el extracto de hojas de *M. oleífera*. El extracto de hojas de *M. oleífera* exhibió actividades antihelmínticas significativas ($P=0.002$) contra *Trichuris* sp. y *Ostertagia* sp. con recuentos reducidos de huevos. Las cabras T2 ofrecieron importantes ($P<0.05$) incremento en el peso corporal de la cabra de 14.74 kg (d 0) a 16.52 (d 30), 17.72 (d 45), y 19,64 kg (día 60). De manera similar, las cabras T3 mejoraron significativamente ($P<0.05$) el peso corporal de 15,41 kg (d 0) a 19,19 (d 30), 20,87 (d 45) y 22,73 kg (d 60). El aumento de peso diario fue aumentó de 14,66 g (d 0) a 14,74 (d 15), 16,27

(d 30), 17,44 (d 45) y 19,34 g (d 60) en T2, mientras que en el grupo T3 la ganancia diaria de peso aumentó de 15,41 g (d 0) a 17,16 (d 15), 18,9 47 (d 30), 20,55 (d 45) y 22,38 g (d 60). El grupo T3 exhibió un valor máximo de ingesta de alimento de 588, 678, 652 y 678 g/d a los 0, 30, 45 y 60 días, respectivamente. Conversión de alimento se incrementó la eficiencia para cabras T2 y T3 versus T1. Los hallazgos de este estudio concluyeron que Los compuestos bioactivos de *M. oleífera* pueden usarse no solo como un agente antihelmíntico eficaz contra nematodos, sino también como aditivo alimentario prominente para mejorar el rendimiento de crecimiento de cabras.

PALABRAS CLAVE: *M. oleífera*, dióxido de carbono, producción de biogás, metano, levadura, aditivo alimentario, antihelmíntico, compuestos bioactivos, cabras.

ABSTRACT

In recent years, researchers have focused on the use of additives for animal nutrition such as: plant extract, yeast, essential oils, enzymes as feeding strategies, seeking alternatives in animal nutrition; For this reason, food products such as extracts derived from arboreal and shrubby forage crops are constantly being evaluated, which is the reason for this research, which is divided into two stages: Experiment 1, an *in vitro* test was evaluated in order to evaluate the nutritional impact of the Moringa (*Moringa oleífera*) and yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) extract on ruminal fermentation and gas emissions (CH₄ and CO₂). In experiment 2, two *in vivo* experiments were carried out where the nutritional impact of the moringa extract on the productive response in goats and the antiparasitic effect was evaluated. In the first stage, *in vitro* evaluation was carried out, it was evaluated to explore the sustainable mitigation of methane (CH₄) and carbon dioxide (CO₂) production in goats, using *M. oleífera* extract and culture of live yeast *S. cerevisiae* as Food supplements. Treatments include supplementation of 0 (control), 0.6 and 1.8 mL/g dry matter of *M. oleífera* extract and 0 (control), 2 and 4 mg/g of dry matter of *S. cerevisiae* commercially were available in the diet. feeding. *in vitro* gas production, CH₄ and CO₂ emissions from rumen inocula were estimated using standard methodology. Higher doses of *M. oleífera* and *S. cerevisiae* extract tend to increase asymptotic gas production (P>0.05). The fractional gas production rate was estimated to be significant (P<0.05) due to the supplementation of *M. oleífera* and *S. cerevisiae* extract. The delay time increased linearly but only the *M. oleífera* extract affected it in a quadratic manner (P=0.041). The asymptotic production rate and lag time, the CH₄, emission tended to decrease (P>0.05) with the varied doses of additives. The *M. oleífera* × *S. cerevisiae* extract interaction had a non-significant influence (P>0.05) on the asymptotic CO₂ emission, the fractional CO₂ emission rate and the lag time, in addition, the inclusion of *S. cerevisiae* exhibited gas production increased in a time-dependent manner.

The proportional production of CH₄ was estimated to decrease ($P>0.05$) at high doses of extract of *M. oleífera* and *S. cerevisiae* at 72 h of incubation. Contrary to this, the proportional production of CO₂ was reduced (quadratic effect, $P=0.031$) at 72 h of incubation. Briefly, the addition of *M. oleífera* extract in combination with *S. cerevisiae* in diets is a novelty, it would be an invaluable approach in terms of mitigating CH₄ and CO₂ emission from sheep. These additives in diversified concentrations can function as cleaners and pronounced additive agents for the ecosystem and livestock. In the second *in vivo* evaluation stage, the objective of this study was to evaluate the effect of bioactive compounds from *M. oleífera* leaf extract as a food additive for helminth loading and growth performance of goats. The anthelmintic attributes of the bioactive compounds of *M. oleífera* were evaluated against 30 different nematodes using standard methodology. A completely randomized experiment with three treatments consisting of 10 goats in each treatment. The treatments used in the present experiment were: Treatment 1 (T1) - 0 mL of extract, Treatment 2 (T2) - 30 mL of extract, and Treatment 3 (T3) - 60 mL of extract. Parameters on productive response; daily weight gain, feed conversion, weights of animals fed with varying concentrations of *M. oleífera*, bioactive compounds of *M. oleífera* were estimated. The bioactive compounds of the *M. oleífera* extract were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). In addition, the GC-MS analysis showed the presence of Heneicosan (35.69%), 1,2- 38 benzenedicarboxylic acid (22.89%), heptacosane (18.26%), pentatriacontane (4.77%) and 39 Hexadecanoic acid, ethyl ester (3%) as predominant compounds in the extract of *M. oleífera* leaves. The *M. oleífera* leaf extract exhibited significant anthelmintic activities ($P=0.002$) against *Trichuris* sp. and *Ostertagia* sp. with reduced egg counts. The T2 goats offered significant ($P<0.05$) increases in the body weight of the goat from 14.74 kg (d 0) to 16.52 (d 30), 17.72 (d 45), and 19.64 kg (day 60). Similarly, T3 goats significantly improved ($P<0.05$) in body weight from 15.41 kg (d 0) to 19.19 (d 30), 20.87 (d 45) and 22.73 kg (d 60). The daily weight gain was increase from 14.66 g (d 0) to 14.74 (d 15), 16.27 (d30), 17.44 (d 45) and 19.34 g (d 60) in T2, while in group T3 the daily weight gain increased from 15.41 g (d 0) to 17.16 (d 15), 18.9 47 (d 30), 20.55 (d 45) and 22.38 g (d 60). Group T3 exhibited a maximum value of feed intake (588, 678, 652 and 678 g/d at 0, 30, 45 and

60 days, respectively). Feed conversion efficiency was increased for goats T2 and T3 versus T1. The findings of this study concluded that *M. oleifera* bioactive compounds can be used not only as an effective anthelmintic agent against nematodes, but also as a prominent feed additive to enhance the growth performance of goats.

KEY WORDS: *M. oleifera*, carbon dioxide, biogas production, methane, yeast, food additive, anthelmintic, bioactive compounds, goats.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA.....	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	vi
ÍNDICE.....	ix
ÍNDICE DE CUADROS	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 Origen y distribución de la Moringa.....	5
2.2 Taxonomía de la especie	6
2.3 Información botánica.....	7
2.4 Composición química	8
2.5 Aplicaciones	12
2.6 Usos de la moringa	13
2.7 Importancia nutricional	14
2.8 Factores anti-nutricionales	15
2.9 Compuestos bioactivos del extracto de Moringa.....	16
2.10 Efecto de la moringa sobre la fermentación ruminal	18
2.11 Efecto de la moringa sobre la digestibilidad de los nutrientes.....	18
2.12 Efecto de la moringa sobre la carga parasitaria	19
2.13 Efecto de la moringa sobre la respuesta productiva	20
2.14 Efecto de la moringa sobre la degradabilidad ruminal	21
2.15 Características generales de los sistemas de producción caprina en México	22
2.16 Importancia de la alimentación de las cabras	22
2.17 Factores que influyen en la nutrición de cabras	22
III. JUSTIFICACIÓN	24
IV. HIPÓTESIS	25
V. OBJETIVOS	26
5.1 General	26
5.2 Específicos.....	26

VI. MATERIALES Y MÉTODOS	27
6.1 Experimento 1:	27
6.1.1 Localización del estudio	27
6.1.2 La preparación del extracto de la planta	27
6.1.3 Sustratos y tratamientos	27
6.1.4 Incubaciones <i>in vitro</i>	27
6.1.5 Estimación de las emisiones de CH ₄ y CO ₂	28
6.2 Experimento 2:	29
6.2.1 Características agroecológicas	29
6.2.2 Planta utilizada	29
6.2.3 Preparación del extracto	29
6.2.4 Análisis del extracto por cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS).....	30
6.3 Actividad antihelmíntica	30
6.3.1 Prueba de parasitología	30
6.4 Animales, alimentación y tratamientos	31
6.4.1 Animales	31
6.4.2 Alimentación.....	31
6.4.3 Tratamientos	31
6.4.4 Ganancia diaria de peso	32
6.4.5 Ingestión diaria de alimento	32
6.4.6 Digestibilidad de los nutrientes.....	32
6.5 Análisis estadístico.....	33
VI. RESULTADOS	34
7.1 Mitigation of ruminal biogases production from goats using <i>Moringa oleifera</i> extract and live yeast culture for a cleaner agriculture environment.....	34
7.2 Anthelmintic potential activities of the identified bioactive compounds of <i>Moringa oleifera</i> leaf extract to enhance the growth performance of goats.....	41
VIII. DISCUSIÓN GENERAL	64
IX. CONCLUSIONES	71
X. REFERENCIAS	72

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Taxonomía de la Moringa.....6

Cuadro 2. Especies del género Moringa.....7

Cuadro 3. Algunos componentes encontrados en las hojas de *Moringa oleífera*...9

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años, los investigadores se concentraron en la utilización más segura de distintos aditivos naturales para piensos, como el extracto de plantas (Cedillo et al., 2015), la sal de ácido orgánico (Elghandour et al., 2016b), enzimas variadas (Vallejo et al., 2016), aceite esencial (Hernández et al., 2017), levaduras (Elghandour et al., 2017) y Lactobacilli (Elghandour et al., 2018). Estos complementos alimenticios pueden mejorar el rendimiento de los animales y provocar la reducción de la liberación de contaminantes al ecosistema (Johnson y Johnson, 1995). Los suplementos alimenticios pueden influir en las emisiones de CH₄ y CO₂ al variar la microbiota ruminal. Sin embargo, pocos suplementos metabolizan el hidrógeno por otro mecanismo que no sea su utilización con microbios metanogénicos, lo que provoca una reducción en la emisión de CH₄ (Reddish y Kung, 2007).

Sin duda, la producción perpetua de gases de efecto invernadero, particularmente metano (CH₄) y dióxido de carbono (CO₂) del ganado debido a la fermentación ruminal, son una carga colosal para los nutricionistas de rumiantes a nivel mundial. Estos gases de efecto invernadero se consideran no solo contaminantes ambientales sino también peligrosos para la salud humana. La emisión de CH₄ y CO₂ del ganado es un mecanismo energéticamente extravagante, que contribuye con alrededor del 18% y el 9% de todas las emisiones de gases de efecto invernadero, respectivamente (FAO, 2006). De hecho, la producción de gases de efecto invernadero en el ecosistema es la causa principal del calentamiento global (Elghandour et al., 2017). Por este medio, los investigadores se han centrado en la manipulación de la microbiota ruminal y del sistema de fermentación a través de medios diversificados con el fin de mejorar la utilización del alimento y, por lo tanto, mitigar la producción de gases perjudiciales. Por lo tanto, la búsqueda de recursos naturales alternativos propicios para mitigar la emisión de gases de efecto invernadero para una sociedad más limpia y un medio ambiente sostenible ha ganado un inmenso interés entre los veterinarios de todo el mundo. Si bien se incorporan aditivos alimentarios naturales, entre los aditivos

bioenergéticos, los estudios anteriores se centraron en la utilización de distintas fuentes vegetales y pocos probióticos potentes.

Las plantas medicinales constituyen cantidades considerables de metabolitos secundarios, que pueden utilizarse no solo como ingredientes de alimentos, sino también como aditivos de piensos para mitigar la producción de gases perjudiciales del ganado. Los metabolitos fitogénicos no son tóxicos y generalmente se sabe que alteran el mecanismo fermentativo ruminal (Salem et al., 2014a). Además, la presencia de potentes metabolitos secundarios bioactivos y sus fuentes indica la eficiencia de esos suplementos en las industrias ganaderas (Kholif et al., 2015). *Moringa oleífera* (Moringácea) es un árbol tropical multipropósito tolerante a la sequía que tiene numerosos usos etnofarmacológicos y agrícolas. Las hojas de esta planta son una valiosa fuente de proteínas para los rumiantes, pero tienen una palatabilidad moderada. Por otro lado, según la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos, entre las levaduras, la utilización de *S. cerevisiae* como complemento alimenticio para el ganado se considera segura. De hecho, la levadura exhibe potencial para mantener el proceso fermentativo del rumen al mejorar los conteos viables de bacterias (Jouany, 2001) y evitar cualquier tipo de desorden en el rumen (Pinloche et al., 2013). Las levaduras también son responsables de mejorar la utilización del amoníaco por la microbiota ruminal (Chaucheyras-Durand et al., 2008).

Esto se debe principalmente a que esos aditivos no solo consumen menos energía, sino que tampoco compiten con las propiedades de los piensos (Njakou Djomo et al., 2015). Sorprendentemente, la mayoría de las fuentes vegetales utilizadas en las industrias ganaderas es estacional y su impacto en la ligera reducción de la producción de gases perjudiciales de no rumiantes enfatizó a los investigadores de todo el mundo por la explotación de fuentes naturales prominentes como nuevo complemento alimenticio. Hasta donde sabemos, la combinación de *M. oleífera* con *S. cerevisiae* como fuentes alternativas de alimento en la nutrición de las ovejas para mitigar la emisión de gases efecto invernadero aún no está evidenciada. De hecho, para reducir la emisión de gases efecto invernadero del ganado, el papel sinérgico de *M. oleífera* y

S. cerevisiae como recursos alternativos podría ser un enfoque prometedor en el escenario actual.

Las industrias ganaderas desempeñan un papel socioeconómico primordial tanto en los países en desarrollo como en los países desarrollados para satisfacer las crecientes demandas mundiales de carne. Entre los rumiantes y no rumiantes dispares, las cabras se consideran animales versátiles debido a su valiosa contribución en países económicamente desfavorecidos como fuentes fundamentales de alimentos e ingresos (Moyo et al., 2013). Las cabras pueden adaptarse a ambientes adversos y pueden consumir diferentes tipos de hierbas y hojas. Desafortunadamente, la productividad de las cabras en la mayoría de las regiones subtropicales es a menudo limitada debido a la baja calidad o inadecuación de los alimentos prominentes (Damor et al., 2017). Por otro lado, actualmente, los nematodos gastrointestinales son una limitación colosal en la productividad de las cabras de las regiones tropicales. Nematodos de diferentes géneros como *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Eimeria*, *Cooperia*, *Trichuris* y *Ostertagia* provocan anemia, pérdida de peso, diarrea, disminución del rendimiento de leche y lana, alteración del ciclo reproductivo y alta mortalidad de las cabras (Tayo et al., 2014). Levamisol, mebendazol, morantel, dormactina, tiabendazol, albendazol e ivermectina son los fármacos antihelmínticos convencionales de uso común. Sin embargo, estos fármacos son el factor principal para la aparición de nematodos resistentes a los fármacos (Hafiz et al., 2009).

En general, los agricultores alimentan a las cabras con forrajes de mala calidad nutritiva que contienen no solo un bajo nivel de nitrógeno, vitaminas y otros minerales, sino también una alta concentración de lignina y celulosa (Sultana et al., 2014). Por lo tanto, conduce a una digestibilidad reducida y un bajo consumo de alimento (Gebregiorgis et al., 2012). Además, alimentar a los rumiantes con una dieta libre de suplementos provoca una pérdida significativa de peso y, a veces, la muerte del animal (Tona et al., 2014). Por lo tanto, la disponibilidad de forrajes libres de aditivos, aumentando el costo de piensos nutritivos, la prohibición de antibióticos promotores del crecimiento y el desarrollo de nematodos gastrointestinales resistentes a fármacos

han hecho hincapié en que los veterinarios identifiquen piensos adecuados para los animales.

En los últimos años, se ha aprovechado una gran cantidad de extractos de plantas y árboles ramificados como suplementos alternativos prometedores a los antibióticos existentes para promover el rendimiento del crecimiento sin toxicidad, mejorar la ingesta de forraje, mejorar la eficiencia en los animales y determinar las propiedades antihelmínticas. (Shalaby, 2013; Voemesse, 2018). Asimismo, la incorporación de arbustos y árboles forrajeros podría ser un enfoque potente para incrementar la disponibilidad y calidad de forrajes durante la estación seca (Damor et al., 2017). *M. oleífera* (familia - Moringácea), también llamada "árbol milagroso" o "árbol de baqueta" es una planta leñosa de rápido crecimiento en las zonas tropicales y subtropicales del sur de Asia, Arabia y África (Moyo, et al., 2016). Las semillas, flores y hojas de esta planta han revelado aplicaciones terapéuticas de amplio espectro en el pasado (Mahfuz, 2019). Sin embargo, las hojas de *M. oleífera* son muy nutritivas y contienen lípidos, proteínas, vitaminas (complejo vitamínico B, vitamina C, betacaroteno y vitamina K), aminoácidos y minerales (Onunkwo, 2015). Los extractos de hojas constituyen un bajo nivel de polifenoles, lo que muestra su impacto potencial en el metabolismo de los lípidos en sangre (Leone et al., 2015). Además de la enorme importancia medicinal, *M. oleífera* también ha demostrado su potencial como aditivo alimentario en animales. Estudios anteriores revelaron la utilización de *M. oleífera* como aditivos alimentarios alternativos en pollos de engorde (Voemesse, 2018; Wapi et al., 2013), peces (Afuang, 2003), ganado (Mendieta-Araica, 2011) y cabras (Damor, 2017; Sultana, 2014; Qwele, 2013). Sin embargo, los informes sobre sus efectos alimentarios sobre el rendimiento de crecimiento de las cabras y los atributos antihelmínticos son escasos. Teniendo esto en cuenta, el presente contexto se centró no sólo en evaluar el efecto de las hojas de *M. oleífera* como aditivo alimentario natural sobre el rendimiento de crecimiento de las cabras, sino también como agente antihelmíntico ideal contra ciertos nematodos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

En la antigüedad, la única fuente de alimentos eran las plantas y derivados de origen vegetal, las cuales eran utilizadas como alimento por la humanidad, fuente de esencias, colorantes y medicamentos. A partir de los vegetales se han aislado diferentes compuestos de interés.

Hoy en día se realizan investigaciones para encontrar nuevos productos que contengan proteínas y vitaminas que contribuyan a la dieta alimenticia humana y que brinden un balance nutricional, siendo empleadas en particular las plantas frescas como alimento directo. Actualmente es de gran interés las especies vegetales, entre ellas la *Moringa oleífera*, el cual es un árbol originario de la India que muestra gran número de aplicaciones en el tratamiento de enfermedades. Existen 13 especies de *Moringa oleífera*, siendo la cañafístula la más cultivada. La moringa pertenece al género de los arbustos y árboles, en los cuales sus hojas, raíces y vainas no maduras son consumidas como hortalizas. Sus hojas pueden ser consumidas frescas, secas o molidas (en polvo); y las vainas son cosechadas cuando aún se encuentran verdes, comiéndose frescas o cocidas. Las semillas se pueden comer verdes, tostadas, en polvo, en infusión para té o pueden ser utilizadas para hacer curry (Isitua, 2015).

En general es un alimento rico en micro y macronutrientes, sus frutos son ricos en ácido ascórbico y otras vitaminas, mientras que las hojas poseen un perfil de aminoácidos. Es la especie económicamente más valiosa y se encuentra en localidades como India, Etiopía, Filipinas y Sudán (Cooperazione Internazionale (COOPI)).

2.1 Origen y distribución de la Moringa

Moringa oleífera Lam. Originaria del sur del Himalaya noreste de la india, Pakistán, Bangla Desh, Arabia Saudita y Afganistán se ha naturalizado en la mayoría de los países tropicales. En Centroamérica se introdujo y naturalizo en 1920 como un árbol ornamental y se usó como cercas vivas, para cortinas rompevientos (Rocha, 1998).

El rango natural de este árbol se extiende de Arabia a la India, hoy es común en paisajes de todos los trópicos del viejo mundo del sur de Asia y África occidental. Es más visible en partes del este y sur de África. También se le puede encontrar en huertos caseros de muchas islas del pacifico, desde Kiribati hasta las Marianas del Norte (Von Maydell, 1986).

2.2 Taxonomía de la especie

Moringa oleífera Lam. (sinónimo de *Moringa pterygosperma gaertner*) comúnmente llamado Marango miembro de la familia moringácea teniendo de esta familia una amplia variedad de especies de las cuales encontramos las siguientes según su origen.

Cuadro 1. Taxonomía de la Moringa

Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Viridiplantae</i>
Infrareino	<i>Streptophyta</i>
Supervisión	<i>Embriophyta</i>
División	<i>Tracheophyta</i>
Subdivisión	<i>Espermatophytina</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Superorden	<i>Rosanae</i>
Orden	<i>Brassicales</i>
Familia	<i>Moringaceae</i>
Género	<i>Moringa</i>
Especie	<i>Moringa oleífera</i> Lam

Integrated Taxonomic Information System, 2013

Cuadro 2. Especies del género *Moringa*

Especie del género <i>Moringa</i>	Lugar donde se encuentra
<i>Moringa drouhardii</i>	Madagascar.
<i>Moringa concanensis</i>	Asia, principalmente en la India.
<i>Moringa arbórea</i>	Noreste de Kenia.
<i>Moringa hildebrandtii</i>	Madagascar.
<i>Moringa oleífera</i>	India.
<i>Moringa borziana</i>	Kenia y Somalia.
<i>Moringa ovalifolia</i>	Namibia y el extremo sur-occidental de Angola.
<i>Moringa peregrina</i>	Mar Rojo, Arabia y Cuerno de África.
<i>Moringa longituba</i>	Kenia, Etiopía y Somalia.
<i>Moringa stenopetala</i>	Kenia y Etiopía.
<i>Moringa pygmaea</i>	Norte de Somalia.
<i>Moringa rivae</i>	Kenia y Etiopía.

Agrodesierto, 1998

2.3 Información botánica

La *Moringa* (*Moringa oleífera* Lam.), es nativa de África oriental y quizás de las Indias orientales. En América tropical se cultiva, en forma general, como ornamental. Es una planta introducida al país posiblemente en el siglo pasado. Se cree que fue llevada de la India a África por los ingleses, introducida al Caribe por los franceses y de allí, a Centro América (Alfaro, 2008). Es un arbusto grande o árbol pequeño y frondoso, que rara vez sobrepasa 10 metros de altura. La corteza es blanquecina, el tronco generalmente espeso e irregular en tamaño y forma y la corona pequeña y densa. Las hojas son compuestas, de unos 20 cm de largo, con hojuelas delgadas, oblongas u ovaladas de 1 a 2 cm de largo y de color verde claro. Las flores son de color crema, muy numerosas y fragantes que miden de 1 a 1.5 cm de largo. Éstas se encuentran agrupadas y están compuestas por sépalos lineales a lineal-oblongo, de 9 a 13 mm de largo. Los pétalos son un poco más grandes que los sépalos.

El fruto está formado por tres lígulas en forma triangular y lineal, que dan la apariencia de vaina. Miden de 20 a 45 cm de largo y 1 a 2 cm de espesor o grosor. Si se corta transversalmente se observa una sección triangular con varias semillas dispuestas a lo largo (Alfaro, 2008).

Las semillas son carnosas, cubiertas por una cáscara de color café. Poseen tres alas, o semillas aladas de 2.5 a 3 mm de largo. Al quitar la cáscara se obtiene el endospermo que es blanquecino y muy oleaginoso (Alfaro, 2008).

La raíz principal mide varios metros y es carnosa en forma de rábano. Es pivotante y globosa lo que le brinda a la planta cierta resistencia a la sequía en períodos prolongados. Cuando se le hacen cortes, produce una goma de color rojizo parduzco (Alfaro, 2008).

2.4 Composición química

En general posee un alto contenido de carbohidratos, aminoácidos, flavonoides, glucósidos, esteroides, alcaloides y taninos (Rastogi et al., 2009). La raíz contiene alcaloides (Moringina y Moringinina), y un antibiótico (pterigospermina). Las hojas son ricas en vitamina C, tocoferol (Sánchez-Machado et al., 2006), proteínas, caroteno, bencilnitrilos, N-bencil carbamatos, tiocarbamatos, calcio, fósforo, selenio, (Jaiswal et al., 2009), niaririna, niazinina, isotiocianato, niacinamina A y B (Karadi et al., 2006). La composición proximal de los frutos es de 3.7 % carbohidratos, 2.5 % proteína, 0.1 % de grasa, 4.8 % fibra, y 2 % minerales, son ricos en ácido ascórbico y aminoácidos libres, también poseen un benciléster que estimula la producción de insulina (Jaiswal et al., 2009). Las semillas poseen 7-9 % de humedad, 6-7 % minerales, 37-40 % proteína cruda, 4-5% de fibra cruda y 28-32 % de aceite, destacando ácido behénico (C22:0), lignocérico (C24:0), pentadecanóico, pentadecenóico y trazas de ácido láurico. (Abdulkarim et al., 2005). Contiene un péptido coagulante, con peso molecular alrededor de 13 KDa, y punto isoeléctrico entre 10 y 11 (Muyibi et al., 2002).

Cuadro 3. Algunos componentes encontrados en las hojas de *Moringa oleífera*

Componente	Hojas	Valores encontrados	País	Año	Referencia
Energía	Secas	332.68 kcal	Egipto	2015	El Sohaimy et al. (2015)
Fibra	Secas	11.23 g/100 g	Egipto	2015	El Sohaimy et al. (2015)
Proteínas	Secas	9.38 g/100 g	Egipto	2015	El Sohaimy et al. (2015)
Lípidos	Secas	7.76 g/100 g	Egipto	2015	El Sohaimy et al. (2015)
Carbohidratos	Secas	56.33 g/100 g	Egipto	2015	El Sohaimy et al. (2015)
Retinol (Vit. A)	Frescas	23.000 UI	Brasil	2008	Pinheiro et al. (2008)
	Secas	13.48 mg/100 g	Egipto	2015	El Sohaimy et al. (2015)
Tiamina (Vit. B1)	Frescas	0.21 mg/100 g	EUA	1985	Price (1985)
	Secas	2.64 mg/100 g			
Riboflavina (Vit. B2)	Frescas	0.05 mg/100 g	EUA	1985	Price (1985)
	Secas	20.5 mg/100 g			
Niacina (Vit. B3)	Frescas	0.8 mg/100 g	EUA	1985	Price (1985)
	Secas	8.2 mg/100 g			
Ácido Ascórbico (Vit. C)	Frescas	220 mg/100 g	India	1980	Ramachandran et al. (1980)
	Secas	38.8 mg/100 g	Pakistán	2006	Iqbal y Bhangar (2006)
α-Tocoferol (Vit. E)	Frescas	9 mg/100 g	Malasia	2001	Ching y Mohamed (2001)
	Secas	77 mg/ 100 g	Sudáfrica	2011	Moyo et al. (2011)

β-caroteno	Frescas	6.63 mg/100 g	Taiwán	2006	Kidmose et al. (2006)
	Secas	39.6 mg/100 g	India	2010	Joshi y Mehta, (2010)
Luteína	Frescas	6.94 mg/100 g	Taiwán	2006	Kidmose et al. (2006)
	Secas congeladas	102 mg/100 g	EUA	2011	Zhang et al. (2011)
Fenoles Totales	Secas	2070 mg EAT/100 g	India	2012	Bhatta et al. (2012)
Ácido cafeico	Secas	0.409 mg/g	India	2005	Bajpai et al. (2005)
Ácido clorogénico	Secas	286.13 µg/g	México	2015	Valdez et al. (2015)
Ácido elágico	Secas	0.189 mg/g	India	2009	Singh et al. (2009)
Ácido ferúlico	Secas	0.128 mg/g	India	2009	Singh et al. (2009)
Ácido gálico	Secas	49.07 µg/g	México	2015	Valdez et al. (2015)
Sinalbina	Secas congeladas	0.59 mg/g	Ghana	2010	Amaglo et al. (2010)
4-(α-L-ramnopiranosilo)-bencilo	Secas congeladas	5.64 mg/g	Ghana	2010	Amaglo et al. (2010)
Kaempferol	Secas	46.43 µg/g	México	2015	Valdez et al. (2015)
Epicatequina	Secas congeladas	5.68 mg/g	EUA	2011	Zhang et al. (2011)
Isoramnetina	Secas congeladas	0.18 mg/g	Ghana	2010	Amaglo et al. (2010)
Quercetina	Secas	5.2 mg/g 5.8 mg/g 7.57 mg/g	Ghana, Senegal y Zambia	2013	Coppin et al. (2013)

Rutina	Secas congeladas	1.674 mg/g	EUA	2011	Zhang et al. (2011)
Flavonoides totales	Secas	846.67 mg/100 g	Nigeria	2015	Okiki et al. (2015)
Saponinas	Secas	2.0 gED/kg	Nicaragua	1996	Makkar y Becker, (1996)
Taninos	Secas	13.2 gEAT/kg	India	2012	Bhatta et al. (2012)
Fitatos	Secas congeladas	794.17 mg/100 g	Nigeria	2015	Okiki et al. (2015)
Oxalatos	Secas	1050 mg/100 g	Brasil	2014	Teixeira et al. (2014)
Calcio (Ca)	Secas	2620.5 mg/100 g	México	2015	Valdez et al. (2015)
Magnesio (Mg)	Secas	340.6 mg/100 g	México	2015	Valdez et al. (2015)
Potasio (K)	Secas	1817 mg/100 g	México	2015	Valdez et al. (2015)
Sodio (Na)	Secas	40.78 mg/100 g	México	2015	Valdez et al. (2015)
Hierro (Fe)	Secas	7.07 mg/100 g	México	2015	Valdez et al. (2015)
Cobre (Cu)	Secas	0.41 mg/100 g	México	2015	Valdez et al. (2015)
Selenio (Se)	Secas	0.107 mg/100 g	México	2015	Valdez et al. (2015)
Zinc (Zn)	Secas	1.6 mg/100 g	México	2015	Valdez et al. (2015)
Arsénico (As)	Secas	0.28 mg/100 g	México	2015	Valdez et al. (2015)
Plomo (Pb)	Secas	0.2 mg/100 g	México	2015	Valdez et al. (2015)
Alanina	Secas	3.46 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)

Arginina	Secas	0.63 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Aspartato	Secas	2.72 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Cisteína	Secas	0.19 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Glutamato	Secas	2.54 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Glicina	Secas	3.63 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Histidina	Secas	0.42 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Isoleucina	Secas	0.77 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Leucina	Secas	1.84 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Lisina	Secas	0.79 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Metionina	Secas	0.27 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Fenilalanina	Secas	1.08 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Prolina	Secas	1.432 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Serina	Secas	1.75 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Treonina	Secas	0.92 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Tirosina	Secas	0.33 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)
Valina	Secas	1.36 nmoles	Ecuador	2015	Isitua et al. (2015)

Padilla Santamaría et al. (2018)

Abreviaturas: Vit= Vitamina; EAT= Equivalentes de Ácido Tánico; ED= Equivalentes de Diosgenina.

2.5 Aplicaciones

En la antigüedad ya se conocía su valor contra diferentes enfermedades (Karadi et al., 2006), sus acciones farmacológicas han sido muy utilizadas tradicionalmente (Rastogi et al., 2009). La mayor parte del árbol se utiliza como alimento (Chumark et al., 2008), posee actividad antimicrobiana. (Fakurazi et al., 2008). Los extractos etílicos de toda la planta muestran actividad anticancerígena (Roy et al., 2007), de los tallos se extraen analgésicos y antibióticos, aunque se utilizan más para alimentación animal, y el tronco para producción de papel (Jaiswal et al., 2009).

Las hojas frescas sirven de alimento y conservador de comidas ricas en grasa, por su alto contenido de antioxidantes (Sánchez-Machado et al., 2006), tienen efecto antiulceroso, diurético, antiinflamatorio, y cicatrizante. Los extractos etílicos muestran actividad anti fúngica, mientras que el extracto metílico posee un efecto depresivo del Sistema Nervioso Central (Jaiswal et al., 2009), relacionado con los compuestos con actividad hipotensiva reportados (Karadi et al., 2006). De las hojas se obtiene un gel aplicable para la industria farmacéutica (Panda et al., 2006). El extracto acuoso tiene actividad anticonceptiva, regula la tiroides en ratas (Jaiswal., 2009), y es promotor de crecimiento (Roy et al., 2007). La raíz se utiliza como condimento picante, son útiles para tratar lumbago, gota, asma, problemas hepáticos, inflamaciones y cálculos renales. También se han estudiado por su actividad diurética y antiinflamatoria (Karadi et al., 2006). En té son cardiotónico y estimulante (Chumark et al., 2008), y tiene cierto efecto antiviral (Roy et al., 2007), preparada en pasta reduce dolor e inflamación por artritis reumatoide (Rastogi et al., 2009).

Las flores son estimulantes, diurético y beneficia el flujo de bilis, y un extracto metílico del fruto estimula la liberación de insulina en roedores, e inhibe la enzima ciclooxigenasa y la peroxidación de lípidos (Jaiswal et al., 2009).

El aceite de semilla posee un sabor suave, parecido al cacahuete, es usado para cocinar y en ensaladas gourmet, su composición es similar al aceite de oliva, por lo que puede ser su competencia en el mercado (Abdulkarim et al., 2005), es resistente a la degradación oxidativa, y utilizado en perfumería, además tiene potencial para la producción de biodiesel (Rashid et al., 2008).

2.6 Usos de la moringa

Todas las partes del árbol de moringa son comestibles y han sido consumidas por los humanos durante mucho tiempo. Fuglie (1999) menciona los usos de la moringa de la siguiente manera: cultivo en el callejón (producción de biomasa), forraje (hojas y torta de semillas tratada), biogás (de hojas), agente limpiador doméstico (triturado azul (madera), fertilizante (semilla-torta), nutriente foliar (jugo expresado desde las hojas), estiércol verde (de las hojas), goma de mascar (de troncos de árboles), miel y jugo de caña de azúcar-clarifier (semillas en polvo), miel (néctar de flores), medicina (todas las

partes de la planta), plantaciones ornamentales, biopesticida (incorporación de hojas en el suelo para evitar la amortiguación de las plántulas), pulpa (madera), cuerda (la corteza), taninos para broncear pieles (la corteza y goma), y purificación de agua (semillas en polvo).

2.7 Importancia nutricional

Diversos estudios sobre la moringa, en los cuales se ha establecido que la misma puede ser usada para prevenir la desnutrición, de igual manera se ha establecido que la moringa es una fuente alimenticia por su alto contenido de proteínas, grasa, calcio, potasio, hierro, carotenos, vitamina C, entre otros; y por lo tanto, también como una fuente energética, Información nutricional de harina de *M. oleífera* es que, se han identificado a las hojas de moringa como el vegetal con el más alto valor nutricional, que posee un alto concentrado en proteínas, vitaminas y minerales, también contienen todos los aminoácidos esenciales, lo que no es muy común en una sola planta. (Mathur, 2005).

Las plantas medicinales constituyen considerables cantidades de metabolitos secundarios, que pueden usarse no sólo como aditivos alimentarios para mitigar la producción de los gases perjudiciales del ganado, generalmente son conocidos para alterar mecanismo fermentativo ruminal (Salem et al., 2014a). Además, la presencia de metabolitos secundarios bioactivos potentes y sus fuentes indica la eficiencia de esos suplementos en las industrias ganaderas (Kholif et al., 2015). *M. oleífera* es un árbol tropical tolerante a la sequía de usos múltiples que tiene numerosos usos farmacológicos y agrícolas. Las hojas de esta planta son fuente valiosa de proteínas para los rumiantes, pero tienen un sabor moderado. Por otra parte, de acuerdo con la Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos, entre las levaduras, la utilización de *S. cerevisiae* como suplementos alimenticios para el ganado, la suplementación con levadura se ha demostrado que ayuda a mantener proceso fermentativo rumen mediante la mejora de los recuentos viables de bacterias (Jouany, 2001) y evitando cualquier tipo de trastornos en rumen (Pinloche et al., 2013). Las levaduras son también responsables de la mejora de la utilización de amoníaco por microbiota ruminal (Chaucheyras-Durand et al., 2008).

2.8 Factores anti-nutricionales

Los factores anti-nutricionales son compuestos principalmente orgánicos, que cuando están presentes en una dieta, pueden afectar salud del animal o interferir con la utilización normal de los alimentos.

Pueden presentarse como componentes naturales de los alimentos vegetales y animales, como factores añadidos durante el procesamiento o como contaminantes del ecosistema (Barnes y Amega, 1984). La ingestión de alimentos que contengan tales sustancias induce, en algunos casos, la intoxicación crónica y en otros interfieren con la digestión y utilización de proteínas dietéticas y carbohidratos y también interfiere con la disponibilidad de algunos minerales, por lo tanto, la eficiencia de los alimentos y la tasa de crecimiento y, en consecuencia, la producción de los productos comestibles.

Aunque los factores anti-nutricionales están presentes en muchos alimentos convencionales, son más comunes en la mayoría de los alimentos no convencionales. Nityanand (1997) clasificó los diversos factores en los piensos de acuerdo con su naturaleza química y su actividad en los animales como:

1. La naturaleza química, en esta categoría son ácidos, enzimas, compuestos nitrogenados, saponinas, taninos, glucosinolatos y compuestos fenólicos.
2. Factores que interfieren con la digestión y uso de proteínas dietéticas e hidratos de carbono, por ejemplo, taninos, tripsina o proteasa inhibidores, saponinas y hemaglutininas.
3. Los factores que interfieren con la disponibilidad de minerales son, por ejemplo, fitatos o ácido fítico, oxalatos o ácido oxálico, glucosinolatos y gossypol. Taninos que son fenoles poliméricos complejos con un peso molecular superior a 500 son componentes naturales de muchas plantas, y agrupados en dos formas hidrolizables y condensadas taninos (Nityanand, 1997).

Los taninos hidrolizables son potencialmente tóxicos y causan intoxicación si grandes cantidades de material vegetal que contiene tanino, como hojas de roble (*Quercus*

spp.) y madera amarilla (*Terminalia oblongata*) se consume, los taninos pueden inhibir las actividades de los microbios de rumen (Garg et al., 1992).

Los taninos forman complejos con proteínas, celulosa, hemicelulosas, lignina y almidón e interfieren con su utilización óptima en el tracto digestivo y los sistemas. Fuentes proteicas de origen vegetal que contenga grandes cantidades de taninos y, en particular, taninos hidrolizables utilizado con precaución (Becker y Makker, 1999). Ranjhan (1999) informó que el remojo y el lavado elimina una cantidad sustancial de taninos y esto suele ir acompañado de alguna pérdida de materia seca. Se ha comprobado que los taninos afectan a la digestibilidad y, por lo tanto, a 19 nutrientes dietéticos tanto en rumiantes (Kumar y Singh, 1984) como en no rumiantes (Okai et al., 1984).

Las saponinas son de sabor amargo y por lo tanto reducen la palatabilidad; también son hemolíticos y alteran la permeabilidad de las membranas celulares y producir efectos tóxicos en los tejidos organizados cuando se ingiere. Remojar y lavar en agua es bastante eficaz para eliminar una mayor proporción de saponinas (Nityanand, 1997). Se ha reportado que las saponinas causan depresiones en la ingesta de alimentos (Cheeke, 1976).

Los fitatos se encuentran en casi todos los alimentos de origen vegetal, son presente en asociación con proteínas y generalmente alta en alimentos proteicos. El ácido fítico posee una alta capacidad quelante y en las plantas, es se encuentran como fitatos de muchos minerales que en su mayoría no están disponibles para el monogástrico, ya que carecen de la enzima fitasa. El uso de la enzima fitasa puede hacer minerales como el fósforo monogástrico (Nityanand, 1997). Según Nityanand (1997) las actividades anti vitamínicas contra las vitaminas A y D. Las anomalías surgirán debido al aumento de la tasa metabólica de los órganos en un intento de reducir estos elementos tóxicos o factores anti-nutricionales a metabolitos.

2.9 Compuestos bioactivos del extracto de Moringa

Existe una gran diversidad de fitoquímicos presentes en *M. oleífera* como los glucosinolatos, compuestos fenólicos y carbamatos. Sin embargo, a los compuestos

azufrados se le atribuyen efectos biológicos como anticancerígenos y quimiopreventivos. Cabe mencionar, que la planta es rica en compuestos azufrados, especialmente en glucosinolatos, presentes prácticamente en casi todos los tejidos. No obstante, los compuestos que realmente poseen el efecto biológico son los isotiocianatos que se liberan por acción enzimática de la mirosinasa sobre los glucosinolatos. Una peculiaridad de los glucosinolatos en moringa es que poseen un azúcar simple adicional de ramnosa, la cual confiere estabilidad a los isotiocianatos (Fahey, 2005). Se han identificado compuestos azufrados que se consideran los responsables de las actividades biológicas, algunos de ellos se les atribuye efecto hipotensor, anticancerígeno y antibacterial incluyendo al(4'-O-acetil- α -L-ramnopiranosiloxi) bencil isotiocianato, 4(α -L-ramnopiranosiloxi) bencil isotiocianato, niazinin, pterygospemin, bencil isotiocianato y 4(α -L-ramnopiranosiloxi) bencil glucosinolato (Siddhuraju y Becker, 2003; Waterman et al., 2014). Estos compuestos son únicos de la familia de la moringa, sin embargo, cabe mencionar que también es rica en otros fitoquímicos como carbamatos y tiocarbamatos, así como carotenoides, incluyendo el β -caroteno precursor de la vitamina A. De acuerdo a un estudio del perfil de la composición química en *M. oleífera* llevado a cabo por Bennett et al. (2003) encontraron a su vez algunos flavonoides y ácidos clorogénicos como el ácido cafeico, kaempferol, y quercetina.

La planta de *M. oleífera*, se ha reportado como una planta medicinal, muy popular por sus propiedades nutricionales, alto contenido de proteína y minerales (Fahey, 2005; Anwar et al., 2007; Moyo et al., 2011). Al consumo de diferentes tejidos de esta planta se le han atribuido algunos efectos benéficos a la salud, tales como: regulador de la presión arterial, hipoglucemiante, anticancerígeno, regulador hormonal, antirreumático, principalmente (Faizi et al., 1995; Guevara et al., 1999; Gupta et al., 2012). Aunque no se conocen los compuestos que proporcionan dichos efectos, se considera que los compuestos azufrados presentes en el género de las brassicas como los glucosinolatos y sus productos de hidrólisis; los isotiocianatos, pueden ser responsables de esta acción. Algunos glucosinolatos e isotiocianatos, como 4(α -L-ramnopiranosiloxi) bencil glucosinolato, (4'-O-acetil- α -L-ramnopiranosiloxi) bencil

isotiocianato y 4(α -L-ramnopiranosiloxi) bencil isotiocianato, se les han atribuido el efecto hipotensor en *M. oleífera* (Guevara et al., 1999; Anwar et al., 2007).

2.10 Efecto de la moringa sobre la fermentación ruminal

Durante fermentación ruminal de los alimentos, grandes cantidades de gases de efecto invernadero se producen haciendo del ganado uno de los problemas más importantes en la producción de gases efecto invernadero (FAO, 2006).

La presencia de metabolitos secundarios de las plantas puede una razón para la fermentación ruminal se vea afectada negativamente, generalmente, los metabolitos secundarios a dosis altas tienen una gran actividad antimicrobiana contra bacterias ruminales, protozoos y hongos (Bodas et al., 2012).

2.11 Efecto de la moringa sobre la digestibilidad de los nutrientes

Las dietas suplementadas con hojas secas de *M. oleífera* a razón de 15 g/kg materia seca tienen un efecto positivo sobre la digestibilidad de nutrientes, la producción de leche, la composición de la leche y un incremento en el perfil de ácidos grasos (14 %) de las ovejas Rhamani lactantes sin efectos nocivos sobre su salud lado (Azzaz et al., 2016). Cuando se suplementa con hoja de moringa y heno de pasto de Rhodes mejora la ingesta, digestibilidad de proteína cruda, retención de nitrógeno y aumento de peso, por lo tanto, la suplementación con moringa es una opción viable para mejorar la producción y la productividad del ganado bajo condiciones de pequeños agricultores, donde las fuentes convencionales de proteínas como suplemento están fuera del alcance (Gebregiorgis et al., 2012).

M. oleífera como suplemento en dietas de rumiantes puede ser una alternativa prometedora de mejorar el rendimiento del crecimiento, el rendimiento y la composición de la leche, así como minimizar el daño oxidativo de la leche y el suero de ovejas y cabras. Por otra parte, Kholif et al. (2015) reemplazando la harina de sésamo en una dieta para cabras lactantes, aseveran que la inclusión del 15 % de harina de hoja de moringa en la dieta, aumenta la ingesta de alimento, la digestibilidad de los nutrientes, la fermentación ruminal y el rendimiento de la leche; además, la moringa modifica positivamente el perfil de ácidos grasos, incrementando su

porcentaje de ácidos grasos insaturados mientras que los saturados disminuyen. El ensilado de moringa, seguido de la moringa en fresco, y finalmente heno de moringa, reemplazando tres cuartas partes de la harina de sésamo como fuente de proteínas en dietas para cabras lactantes, se logra un aumento de la ingesta de alimento, la digestibilidad de los nutrientes y la fermentación ruminal, así como incrementos en el rendimiento y la composición de la leche (Kholif et al., 2016). La inclusión de la harina de hoja de *M. oleífera* a razón del 15 % del total de la dieta, aumentó el volumen celular medio, el volumen de células empaquetadas, así como el número glóbulos blancos y por ende, sobre el estado de salud de las cabras (Jiwuba et al., 2017). Fadiyimu et. al (2010) incluyó *M. oleífera* en diferentes niveles en la dieta de ovejas y reporto un aumento de la digestibilidad de los nutrientes.

2.12 Efecto de la moringa sobre la carga parasitaria

La propiedad antiparasitaria depende de la estructura del compuesto secundario, del nivel de ingestión y de su disponibilidad en el tracto gastrointestinal de los animales (Athanasiadou and Kyriazakis, 2004).

Actividad antiparasitaria de *M. oleífera*: Se observa que *M. oleífera* está teniendo una potente actividad antihelmíntica y su encía es como agente anti-filarial (Kushwaha et al., 2011). Las especies de parásitos más específicas con el uso de *M. oleífera* son helmintos incluyendo Dracunculiasis, esquistosomas y tripanosomas (Fahey, 2005). In vitro actividad de *M. oleífera* ha demostrado algunos anti protozoos actividad (Kohlberg et al., 2002) y es parricida debido a lactina soluble presente en su extracto de semilla. Dificulta el proceso de desarrollo larvario y debido a su actividad hemaglutinante por lo tanto causa mortalidad en *Aedes aegypti* (Coelho et al., 2009; Ferreira et al., 2009). Agua extracto de *M. oleífera* es conocido por tener parricida, así como propiedades sobre los mosquitos adultos contra el *Culex quinquefasciatus* (Ashfaq y Ashfaq, 2012). Está siendo utilizado como antipalúdico (Eilert et al., 1980; Gbeassor et al., 1990). La actividad antihelmíntica mayor es mostrada por el extracto de la planta que cuando se utiliza en varias concentraciones pueden causar parálisis y la muerte de los gusanos. Varias concentraciones de extracto de *M. oleífera* toman un período variado tiempo para la parálisis y la muerte de los gusanos como 25 mg/mL toma 14.32 ± 2.2 min y

63.57±12.6 min, 50 mg/mL toma±1,6 min y 52,33±3,1 min, mientras que 100 mg/ml toma 6±1,2 min y 45±11.4 min respectivamente, como se señaló experimentalmente por Gosh et al., (2005).

El estudio *in vitro* evaluó la eficacia del extracto acuoso macerado e infundido, así como el extracto etanólico de *M. oleífera* contra huevos frescos, huevos embrionados, larvas L₁ y L₂ de *Haemonchus contortus*. Se prepararon cinco concentraciones diferentes de extractos (0.625, 1.25, 2.5, 3.75 y 5 mg/mL). Los huevos frescos se expusieron a estas diferentes concentraciones durante 48 horas, mientras que los huevos embrionados y las larvas se expusieron durante 6 y 24 horas respectivamente. Se utilizó agua destilada y DMSO al 1,5% como control negativo. Los resultados revelaron que el extracto etanólico de hojas de *M. oleífera* fue más eficiente en huevos al inhibir 60.3% ± 8.2% y 92.8% ± 6.2% de embrionamiento de huevos a 3.75 y 5 mg/mL respectivamente (Tayo et al., 2014).

2.13 Efecto de la moringa sobre la respuesta productiva

La *Moringa oleífera* tiene el potencial de mejorar indicadores productivos como ganancias de peso, conversión alimenticia, producción y calidad de la leche, en caprinos la inclusión de 9 % de hojas de moringa aumenta la ingesta de materia seca (MS) de 258 a 335 g/animal/día (Sarwatt et al., 2002).

Aregheore, (2002), reportó que la ganancia de peso aumenta con *M. oleífera*, una alternativa forrajera de 55 a 86 g/animal /día mediante la suplementación en un 20 % en la dieta base. Lo anterior coincide con lo reportado por Reyes et al. (2009) quienes indican que existe una mejor respuesta en la ganancia de peso (de 31 a 118 g/animal/día) en ovinos al complementar el consumo ad libitum de pasto *Panicum máximum* con 500 g de materia seca de moringa. Con respecto a la producción de leche en pequeños rumiantes, Babiker et al. (2017), evaluaron el efecto de la sustitución de 25 % de heno de alfalfa por pellet de hoja de moringa en cabras y ovejas, donde encontraron un incremento sustancial en la producción de 1.84 a 2.63 kg/día y de 3.46 a 5.34 kg/día, respectivamente.

El rendimiento de crecimiento de pollos de engorde alimentados con harina de hoja de *M. oleífera* (1, 3 y 5% de la ingesta de materia seca) mostró significativamente mayor peso corporal, ganancia diaria media y conversión de alimento superior (es decir, el número de unidades (kg) de pienso utilizado para producir una unidad (kg) de carne) que las aves alimentaron la dieta de control, mejorando así el rendimiento de crecimiento (Nkukwana et al., 2014).

2.14 Efecto de la moringa sobre la degradabilidad ruminal

La susceptibilidad a la degradación ruminal de la fracción fibrosa del follaje de árboles y arbustos, cambia en función de la especie, edad y el estado de madurez. A medida que la planta avanza en su crecimiento vegetativo hacia el estado de madurez, ocurre una disminución del contenido de proteína y un aumento del contenido de fibra, todo ello asociado a un incremento en la concentración de lignina. La lignina actúa como una barrera que impide la acción microbiana y la hidrólisis enzimática de la celulosa y la hemicelulosa, haciendo menos disponibles los carbohidratos estructurales potencialmente degradables, disminuyendo la digestibilidad de la fibra y la calidad y aprovechamiento del forraje, es importante destacar que este proceso es mucho más acentuado en los tallos que en las hojas y pecíolos. La evaluación de la degradación ruminal del follaje a diferentes edades permite determinar el mejor estado de madurez para su utilización como forraje, lo cual se debe correlacionarse con la producción de materia seca para seleccionar la edad de corte del follaje donde se obtenga un excelente rendimiento con la calidad y digestibilidad más adecuada. Sin embargo, la información referida a la degradación ruminal del follaje de *M. oleífera* a diferentes edades de rebrote es escasa.

Con 48 horas de incubación ruminal, la degradabilidad potencial de la materia seca y materia orgánica disminuyó ($P < 0.001$) de 81.48% a 73.27% y desde 58.87% a 52.28%, respectivamente, y esto ocurrió cuando la edad de rebrote del follaje de *M. oleífera* se incrementó de 45 a 75 días. En conclusión, el follaje de *M. oleífera* con edad de rebrote de 45 días y a 48 horas de incubación ruminal presentó la mejor ($P < 0.001$) degradabilidad ruminal de la materia seca y materia orgánica con 81.46% y 58.87% respectivamente (Almanza et. al., 2014).

2.15 Características generales de los sistemas de producción caprina en México

La explotación caprina en México ha sido una actividad que se ha venido utilizando como una forma de vida para un gran número de pobladores del campo, es una actividad que con frecuencia es referente a zonas marginales, en la cual, los productores de ella obtenida son destinados al autoconsumo. Muchos son los países en los que la producción de caprina, es la principal actividad económica, sin embargo, en México se realiza de manera tradicional en donde está ligada al desarrollo sociocultural de poblaciones. Generalmente es una actividad desarrollada en núcleos familiares, bajo sistemas de producción que carecen de tecnología e innovación, la alimentación es basada en pastoreo y no se cuenta con ningún manejo reproductivo ni sanitario (Cotler et al., 2006; Hernández, 2000; Devendrá, 1988).

2.16 Importancia de la alimentación de las cabras

Una producción animal eficiente está dada en su mayor parte por la alimentación, tomando en consideración que este rubro constituye hasta el 70% de los costos de producción, un buen comportamiento es esperado cuando se proporcionan al animal todos los requerimientos nutricionales de mantenimiento, además de los necesarios para producción de carne o leche, según el objetivo de la explotación, por medio de alimentos de alto valor nutritivo, entendiendo a este concepto como la presencia y disponibilidad de un nutriente en el alimento, además de su facilidad de ser consumido y absorbido por el animal, usualmente expresado en unidades estándar, (energía, proteína, fibra, vitaminas y minerales). Para los rumiantes, la constitución básica de la dieta son forrajes, cuya calidad nutritiva está afectada principalmente por el factor madurez de la planta (Ramírez, 2003), donde a medida que aumenta, disminuye su contenido de proteína y azúcares solubles, por ende, incrementando el contenido de fibra principalmente celulosa y lignina, lo que trae consigo un decremento gradual en la digestibilidad (Shimada, 2003).

2.17 Factores que influyen en la nutrición de cabras

Existen muchos factores que están influenciados para que la cabra y todas las especies estén en un óptimo estado productivo y reproductivo. Con lo que respecta a la reproducción, en cabras, el factor de mayor relevancia es la luz o fotoperiodo. Este

efecto suele tener una influencia más pronunciada hacia el lado norte y sur de la zona ecuatorial en donde se ubique el animal, sin importar la especie (oveja o cabra), no así para la raza, donde suele expresarse una mayor sensibilidad para algunas razas. Las cabras explotadas, son en su mayoría poliestricas estacionales, con la aparición de la actividad estral después del solsticio de verano. Por lo tanto, se encuentran en anestro durante la primavera y el verano. La época de pariciones se presenta a finales de invierno e inicios de primavera. Dado a que su origen es cerca del ecuador, las hembras Nubia y sus cruza, tienden a tener una estación de cría más larga (junio-marzo), en contraste con las razas británicas y europeas como la Saanen, la Toggenburg y la Alpina Francés, cuya estación de cría es más corta (septiembre-febrero) (Martínez et al., 2005).

III. JUSTIFICACIÓN

Actualmente los costos por alimentación representan uno de los factores más importantes en la alimentación humana y animal. La competencia que existe con la alimentación humana y animal con granos y cereales han ocasionado un gran problema en la nutrición, por ello es necesario la búsqueda de alternativas alimenticias, como lo es el uso de aditivos, que aporten los nutrientes suficientes.

En los últimos años, investigadores y productores se dan a la tarea a buscar alternativas alimenticias que les permitan cubrir los requerimientos nutricionales de los animales, por tal motivo constantemente se están evaluando aditivos alimenticios tales como los extractos derivados de arbóreas y arbustivas forrajeras

La *Moringa oleífera* es una opción muy atractiva como un alimento nutritivo y benéfico que podría servir para la alimentación animal, si bien existen trabajos sobre sus beneficios nutricionales sobre la *M. oleífera*, estos han recibido relativamente pocas investigaciones científicas, por lo que la escasa información científica que existe sobre la planta, limita mucho la posibilidad de hacer un estudio más exhaustivo.

En el presente trabajo de investigación se pretende evaluar el impacto nutricional y metabólico del extracto de moringa en rumiantes sobre la respuesta productiva control antiparasitario con la finalidad de generar investigación científica debido a que existe poca información acerca de esta planta en la alimentación de pequeños rumiantes.

IV. HIPÓTESIS

El uso de extracto de *Moringa oleífera* como aditivo alimentario en dietas de caprinos en crecimiento mejora la respuesta productiva, disminuirá la emisión de gases efecto invernadero y control parasitario en los animales.

V. OBJETIVOS

5.1 General

Evaluar el impacto nutricional y metabólico del extracto de (*Moringa oleífera*) como aditivo sobre parámetros de fermentación, respuesta productiva y efecto antiparasitario en caprinos.

5.2 Específicos

- Determinar el impacto del extracto de moringa (*Moringa oleífera*) y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) *In vitro* sobre la emisión de gases de efecto invernadero (CH₄ y CO₂).
- Evaluar la digestibilidad *In vitro* del extracto de Moringa (*Moringa oleífera*) y Levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) con diferentes niveles y tratamientos.
- Determinar el impacto extracto de moringa (*Moringa oleífera*) *In vivo* sobre la sobre la respuesta productiva en caprinos.
- Determinar el impacto extracto de moringa (*Moringa oleífera*) *In vivo* sobre el control parasitario.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Experimento 1:

6.1.1 Localización del estudio

El experimento se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México. Los donantes de líquido ruminal fueron 10 animales caprinos tratados y manejados de acuerdo con las normas oficiales mexicanas para el cuidado de los animales.

6.1.2 La preparación del extracto de la planta

Se colectaron hojas frescas de *Moringa oleífera* en Veracruz, México se secaron a temperatura ambiente durante 72h, se molieron, 10 gramos de polvo se sumergieron en 80 ml de agua destilada. La extracción se realizó en frascos cerrados durante 72 h a 28 °C, seguido por una segunda extracción a 39 °C durante 1 h, a continuación, el extracto se filtró a través de gasa y se conservó a 4 °C.

6.1.3 Sustratos y tratamientos

La fermentación *In vitro* se llevó a cabo utilizando una dieta equilibrada basada en 60 de forraje y 40% de concentrado consistía en 40% paja de avena y 60% de una mezcla de maíz molido (36 %), pasta de soja (12%), urea (1%), la melaza (7%), aceite de girasol (3%) y de vitaminas y remezcla mineral (1%). Los tratamientos incluyen la administración de aditivos fue de: 0, 0,6, y 1,8 mL/g de materia seca de extracto de *M. oleífera* y 0, 2, y 4 mg/g de materia seca de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la dieta. Un sustrato control (sin suplementación de extracto *M. oleífera* y *S. cerevisiae*) se mantuvo también en el estudio.

6.1.4 Incubaciones *in vitro*

El contenido ruminal se recogió en la mañana antes de la alimentación de 10 caprinos machos alojados en jaulas individuales de aproximadamente 1.5 m x 1.0 m. Los animales fueron alimentados durante dos frecuencias 8:00 am y 5:00 pm. La

Alimentación inicial fue formulada para los animales de acuerdo con el (NRC, 2001). Se proporcionó agua fresca durante la fase de recogida de inóculo. Además, el contenido del ruminal de los caprinos se enjuagó con CO₂ y se filtró usando una gasa por triplicado. El líquido ruminal se llevó al laboratorio, se mezcló con solución nutritiva (1: 4 v/v) (Goering y Van Soest, 1970). Se diluyó fluido del rumen y después se añadió a la botella de incubación que contenía sustratos pesados previamente (0.5 g de materia seca) para posteriormente ser incubada a 39°C.

6.1.5 Estimación de las emisiones de CH₄ y CO₂

Tres repeticiones fueron realizadas en botellas con el sustrato, usando tapones de goma, se incubaron a 39 °C. La producción de gas se estimó hasta 72 h utilizando un transductor de presión (Extech Instruments, Waltham, US) como por la metodología de Theodorou et al. (1994). De la misma manera, los niveles de CH₄ y CO₂ en el espacio superior de las botellas se estimaron hasta 72 h utilizando un detector de gas basado en difusión (Crowcon Analizador de Gas Modelo Tetra3, Abingdon, Reino Unido). Además, se midió el pH después de 72 h utilizando un medidor de pH digitales (Conductronic pH 15.0, Puebla, México). Los residuos finales después de filtraron en bolsa de papel watman 541, el contenido se metió a la estufa de aire forzado a 60 °C durante 48 h para el cálculo de degradabilidad de la materia seca (Orskov y McDonald, 1979).

6.2 Experimento 2:

6.2.1 Características agroecológicas

El trabajo se realizó en el municipio de Tejupilco en la unidad metabólica experimental rancho el cajón ubicado el Sur del Estado de México, presenta una altura media sobre el nivel del mar de 1250 m, con un clima del tipo cálido sub-húmedo con presencia de lluvias en verano (García, 1986).

6.2.2 Planta utilizada

Se recolectaron hojas frescas de cinco árboles de *M. oleífera* de diferentes estados fenológicos del Sur del Estado de México, Tejupilco, Rancho ICAMEX. Se secaron a la sombra durante 72 h y llevaron al laboratorio dentro de una bolsa de polietileno y almacenado para otros fines experimentales.

6.2.3 Preparación del extracto

Las hojas frescas (1 kg) de *M. oleífera* se secaron a la sombra durante 7-10 días a temperatura ambiente. Después de secar, las hojas se trituraron y se mezclaron en 8 L de agua destilada, etanol (99,9%, grado analítico, Fermont®, Monterrey, México) y metanol (99,8%, grado analítico, Fermont®, Monterrey, México), elaborado en proporción 80:10:10. La mezcla se incubó a 30 °C durante 72 h en un agitador orbital. Después del período de incubación requerido, la mezcla se centrifugado para separar la fracción sólida de la solución. La solución recogida se filtró a través de papel de filtro (Whatman No. 1). El filtrado se concentró por evaporación el solvente a 50 °C usando un evaporador rotatorio. El extracto obtenido se almacenó a 4 °C hasta análisis adicionales.

6.2.4 Análisis del extracto por cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS)

El extracto de *M. oleífera* se analizó para sus compuestos bioactivos utilizando un aparato de espectrómetro de masas Focus GC-DSQ (Thermo Scientific, Austin, TX, EE. UU.) Con una columna capilar directa TG-5MS (30 m × 0,25µm × 0,25 espesor de película µm). La temperatura del horno de la columna se mantuvo inicialmente a 45 °C, se incrementó más en 5 °C/min a 250 °C, y luego se incrementó a 280 °C (10 °C/min). Las temperaturas del inyector y del detector (línea de transferencia materia seca) se mantuvieron a 250 °C. Se utilizó helio como gas portador a un caudal constante de 1 mL/min. El retardo del disolvente fue de 2 min y se inyectaron automáticamente muestras diluidas de 1 µL utilizando Autosampler AS3000 acoplado con GC en el modo split. Los espectros de masas EI se recogieron a 70 eV voltajes de ionización en el rango de m/z 40–550 en modo de escaneo completo. La fuente de iones se fijó en 200. Los componentes se identificaron mediante la comparación de sus tiempos de retención y espectros de masas con los de la base de datos espectral de masas WILEY 09 y NIST 11.

6.3 Actividad antihelmíntica

6.3.1 Prueba de parasitología

La técnica de recuento de oocistos y huevos se realizó utilizando la metodología descrita por Hernández et al. 2014. Brevemente, las muestras fecales de cada animal se recolectaron individualmente directamente del recto antes de la alimentación matutina el día 0 (administración previa al extracto), y luego el día 7 y el día 15 después de la primera administración del extracto (el día 0). Se evaluó la presencia de huevos de lombriz u oquistes de *Eimeria* en muestras fecales mediante flotación de sal. técnica (MAFF, 1979), y posteriormente se cuantificó la carga parasitaria mediante el método McMaster (Ojeda et al., 2008). Los sedimentos fecales se recogieron y se pesaron. Se mezcló un gramo de heces con 60 mL de solución de NaCl. Los gránulos se rompieron mediante un agitador mecánico y luego se filtraron en un matraz cónico de 250 mL usando un tamiz.

La solución filtrada (10 mL se utilizó para la determinación de recuento de huevos fecales utilizando una cámara 2-McMaster con un límite de detección de 200 huevos g^{-1} de excrementos. Los cultivos fecales se prepararon durante cada tiempo de muestreo como dos réplicas de muestras de cada animal para permitir el desarrollo de larvas de tercer estadio a partir de huevos de strongílidos. El género del parásito se identificó luego de 12 días a 27 °C en una cámara con humedad y oxigenación constantes. Luego se recolectaron las larvas de un equipo Baermann y se llevó a cabo la identificación genérica de los nematodos Strongylidae utilizando claves taxonómicas de identificación. Se utilizaron los recuentos medios de huevos u ooquistes (huevos g^{-1} de heces) de cada animal dentro de cada período experimental para las comparaciones estadísticas.

6.4 Animales, alimentación y tratamientos

6.4.1 Animales

Un total de 30 machos raza Bóer-Nubia, con peso vivo promedio entre 15 y 18 kg, se mantendrán alojados en jaulas individuales de 1.0 m de ancho x 1.50 m de largo, los animales estarán durante 45 días, con 15 días de adaptación a la dieta y 30 días de colección de muestras.

6.4.2 Alimentación

Los animales fueron alimentados durante dos frecuencias a las 8:00 am y 5:00 pm con la finalidad de mantener una fermentación ruminal homogénea. Además, se brindará de agua fresca durante todo el día. La dieta balanceada basada es un concentrado, Alimentos los Ángeles ALPA 12% proteína cruda, la cual fue formulada de acuerdo a las necesidades para las cabras de engorda.

6.4.3 Tratamientos

1. Grupo de animales control (sin adición de extracto)
2. Grupo de animales nivel 1 30 mL de extracto de moringa
3. Grupo de animales nivel 2 60 mL extracto de moringa

6.4.4 Ganancia diaria de peso

Se calcula la ganancia diaria de peso a través de pesarse los caprinos cada 15 días durante los 60 días del experimento.

6.4.5 Ingestión diaria de alimento

Se determinó la ingestión diaria del alimento, a cada animal se ofrecerán .700 kg de alimento diario y se medirá el rechazo de alimento el día siguiente antes de ofrecer la nueva comida a cada animal del grupo de animales de cada tratamiento.

6.4.6 Digestibilidad de los nutrientes

De las heces que se colectaran de cada grupo de animales durante 7 días de colección, se tomarán solo el 10% diario, se almacenarán y congelarán en bolsas de plástico, para hacer un compuesto total por tratamiento al final del periodo de colección de los 7 días. Las muestras almacenadas, se pesarán y se secarán en una estufa a una temperatura de 60 °C hasta peso constante y después se volverán a pesar al final y se obtendrá el % de materia seca parcial; enseguida se molerán en molino Wiley Mill con malla de 1-2 mm y se guardarán para someterlas a análisis para su composición química (Materia seca total, cenizas, proteína cruda según la AOAC (1990) y fibra detergente neutra, fibra detergente ácida según Van Soest et al. (1991).

Con los valores de consumo voluntario (ofrecido y rechazado), y los de la composición química, se procederá al cálculo de digestibilidades de las diferentes fracciones (digestibilidad de materia seca, materia orgánica, proteína cruda, fibra detergente neutra, fibra detergente ácida).

6.5 Análisis estadístico

Cada tratamiento se utilizó como unidad experimental utilizando el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable de respuesta

μ = Media general

T_i = efecto de tratamiento (3 tratamientos)

ε_{ij} = Error experimental

VI. RESULTADOS

7.1 Mitigation of ruminal biogases production from goats using *Moringa oleifera* extract and live yeast culture for a cleaner agriculture environment.

Journal of Cleaner Production 234 (2019) 774–786



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Cleaner Production

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jclepro



Mitigation of ruminal biogases production from goats using *Moringa oleifera* extract and live yeast culture for a cleaner agriculture environment



Juan Pedraza-Hernández^a, Mona M.M.Y. Elghandour^a, Ameer Khusro^b,
Luis M. Camacho-Díaz^c, Laura H. Vallejo^a, Alberto Barbabosa-Pliego^a,
Abdelfattah Z.M. Salem^{a,*}

^a Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, México

^b Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Guerrero, México

^c Research Department of Plant Biology and Biotechnology, Loyola College, Mangumbalakan, Chennai, 605004, India

ARTICLE INFO

Article history:

Received 17 December 2018

Received in revised form

11 June 2019

Accepted 12 June 2019

Available online 20 June 2019

Handling editor: CT Lee

Keywords:

Carbon dioxide

Goats

Moringa oleifera

Methane

Saccharomyces cerevisiae

ABSTRACT

The present investigation was assessed to explore the sustainable mitigation of methane and carbon dioxide production from goats using *Moringa oleifera* extract and live yeast culture (*Saccharomyces cerevisiae*) as feed supplements. Treatments include supplementation of 0 (control), 0.6, and 1.8 mL/g dry matter of *M. oleifera* extract and 0 (control), 2, and 4 mg/g dry matter of commercially available *S. cerevisiae* into the feeding diet. Higher doses of *M. oleifera* extract and *S. cerevisiae* increased the asymptotic gas production from 88.8 to 147.5 mL/g dry matter. The fractional rate of gas production was increased ($P < 0.05$) due to the supplementation of *M. oleifera* extract and *S. cerevisiae*. Lag time increased linearly from 1.32 to 3.99 h but only *M. oleifera* extract affected it quadratically ($P = 0.041$). The asymptotic methane production, rate of methane emission, and lag time decreased ($P > 0.05$) with the varied doses of additives. *M. oleifera* extract \times *S. cerevisiae* interaction had non-significant ($P > 0.05$) influence on asymptotic carbon dioxide emission, fractional rate of carbon dioxide emission, and lag time. Furthermore, the inclusion of *S. cerevisiae* exhibited increased gas production in a time dependent manner. The proportional methane production was estimated to be decreased ($P > 0.05$) at high doses of *M. oleifera* extract and *S. cerevisiae* at 72 h of incubation with the lowest emission of 11.7%. In contrary to this, the proportional carbon dioxide production was reduced (quadratic effect, $P = 0.031$) at 72 h of incubation with the lowest emission of 50.3%. In conclusion, the addition of *M. oleifera* extract and *S. cerevisiae* in diets would be an invaluable approach for mitigating methane and carbon dioxide emission from goats. These additives at diversified concentrations may be utilized as pronounced cleaner product and additive agents for the ecosystem as well as livestock.

© 2019 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

The perpetual production of greenhouse gases (GHG), particularly methane (CH_4) and carbon dioxide (CO_2) from livestock due to ruminal fermentation is the huge burden for ruminant nutritionists globally. These GHG are considered not only environmental pollutants but also hazardous to human health. The emission of CH_4

and CO_2 from livestock is an energetically extravagant mechanism, contributing about 18% and 9% of all GHG emissions, respectively (FAO, 2006). The production of GHG into the ecosystem is the preeminent cause of global warming (Elghandour et al., 2017a,b). Researchers have focused on the manipulation of ruminal microbiota as well as fermentation system through diversified means in order to improve feed utilization, and mitigate the production of detrimental gases. Conventional antibiotics have exhibited promising influence on the utilization of feed, but the European Union has banned their further exploitation in view of the public concern. The quest for auspicious natural alternative resources to mitigate

* Corresponding author.

E-mail addresses: salem@uamex.mx, salem76@yahoo.com (A.Z.M. Salem).

vacuum filtration was dried at 65 °C for calculating DM degradability (DMD) (Orskov and McDonald, 1979).

2.6. Calculations and statistical analyses

The kinetic parameters of GP, CH₄, and CO₂ were calculated by NLIN option of SAS (2002) as per the below mentioned equation of France et al. (2000).

$$A = b \times (1 - e^{-c(t-\text{Lag})}) \quad (1)$$

where: A is the volume of GP, CH₄, or CO₂ at time t; b is the asymptotic GP, CH₄, or CO₂ (mL/g DM); c is the rate of GP, CH₄, or CO₂ (/h), and Lag (h) is the discrete lag time prior to GP, CH₄, or CO₂.

Experiments were completely randomized with repeated measures in time. However, data of each of the three runs within the same treatment of each of the three individual treatments doses (M. oleiferu extract and/or S. cerevisiae) were averaged prior to statistical analysis, then mean values of each individual sample were used as the experimental unit. Analysis was done using statistical model (Elghandour et al., 2017a,b) as follows:

$$y_{ijk} = \mu + d_i + a(d)_{ij} + p_k + (dp)_{ik} + e_{ijk} \quad (2)$$

where, y_{ijk} is the value measured at period k (day of rumen collection) on the j^{th} goats assigned to the i^{th} plant, μ the overall mean effect, d_i is the i^{th} fixed plant effect, $a(d)_{ij}$ is the random effect of the j^{th} goats within the i^{th} extract, p_k is the fixed k^{th} period (age time) effect when the measurement was taken, $(dp)_{ik}$ is the fixed interaction effect between plant and period, and e_{ijk} is the random error associated with the j^{th} goats assigned to the i^{th} diet at period k. Data were estimated using MIXED procedure of SAS (2002) for repeated measures. Results shown in tables were least square means of fixed effects with their corresponding standard errors.

3. Results

3.1. In vitro fermentation kinetics

Despite the increment in asymptotic GP at higher doses of

M. oleiferu extract and S. cerevisiae, the effect was observed to be non-significant ($P > 0.05$). The fractional rate of GP was significantly increased due to the supplementation of M. oleiferu extract (linear = 0.004; quadratic = 0.024) and S. cerevisiae (linear = 0.006; quadratic = 0.005). Lag time increased linearly (1.32–3.99 h) but only M. oleiferu extract affected it quadratically ($P = 0.041$). M. oleiferu extract \times S. cerevisiae interaction had non-significant ($P > 0.05$) effect on asymptotic total GP, rate of GP, and lag time. The asymptotic CH₄ emission (22.4 mL CH₄/0.5 g DM), rate of CH₄ emission (0.01/h), and lag time (8.19 h) reduced non-significantly ($P > 0.05$) due to varied doses of M. oleiferu extract, S. cerevisiae, and M. oleiferu extract \times S. cerevisiae interaction. The supplementation of M. oleiferu extract and S. cerevisiae showed non-significant ($P > 0.05$) impact on the asymptotic and fractional rate of CO₂ production. S. cerevisiae decreased (linear = 0.029) the lag time (2.43 h). M. oleiferu extract \times S. cerevisiae interaction had no significant ($P > 0.05$) influence on asymptotic CO₂ emission, fractional rate of CO₂ emission, and lag time (Table 1).

3.2. Ruminal gas production

The fermentation pH and DMD were found to be non-significant ($P > 0.05$) because of the inclusion of M. oleiferu extract. The supplementation of S. cerevisiae affected significantly (linear = 0.004) the DMD. M. oleiferu extract \times S. cerevisiae interaction revealed significant ($P = 0.031$) impact on DMD (Table 2).

Fig. 1 illustrates in vitro ruminal GP (mL/0.5 g incubated DM) from goats as influenced due to the dietary inclusion of varied levels of M. oleiferu extract and S. cerevisiae. The supplementation of S. cerevisiae with respect to M. oleiferu extract estimated the enhanced amount of GP in a time dependent manner. The supplementation of M. oleiferu extract and S. cerevisiae exhibited no significant ($P > 0.05$) increment in GP up to 72 h with respect to the control. The GP (mL/0.5 g degraded DM) was increased at all incubation periods, showing maximum production of 206 (mL/0.5 g degraded DM) at 72 h due to inclusion of M. oleiferu extract with S. cerevisiae but the production was not significant (linear and quadratic, $P > 0.05$) (Table 2).

Table 1

Effect of M. oleiferu and S. cerevisiae at different concentrations as feed additives on in vitro rumen total gas production, CH₄ and CO₂ kinetics.^a

M. oleiferu extract (mg/g DM)	S. cerevisiae (mg/g DM)	Total gas production			CH ₄			CO ₂		
		b	c	Lag	b	c	Lag	b	c	Lag
0	0	85.4	0.046	1.32	31.3	0.011	9.05	64.7	0.02	4.83
0	2	128.4	0.027	1.31	41.6	0.012	8.90	84.0	0.017	7.36
0	4	88.8	0.069	1.69	77.8	0.01	13.64	45.0	0.019	2.43
0.6	0	128.8	0.023	1.69	51.4	0.013	14.18	87.7	0.018	8.75
0.6	2	107.9	0.019	5.60	58.2	0.013	14.56	81.8	0.018	8.18
0.6	4	101.1	0.041	1.99	33.9	0.015	13.87	62.3	0.019	8.06
1.8	0	121.6	0.027	1.95	77.6	0.014	16.68	61.9	0.021	12.01
1.8	2	147.5	0.029	0.57	86.8	0.013	12.04	100.8	0.019	6.62
1.8	4	129.1	0.033	2.46	22.4	0.013	8.19	86.8	0.02	4.98
Pooled SEM ^b		16.8	0.004	1.25	11.4	0.001	3.18	10.0	0.0009	1.10
Additive effect:										
Extract										
Linear		0.22	0.004	0.231	0.034	0.117	0.774	0.242	0.448	0.057
Quadratic		0.752	0.024	0.041	0.89	0.214	0.233	0.789	0.347	0.123
S. cerevisiae										
Linear		0.683	0.006	0.896	0.558	0.872	0.782	0.653	0.77	0.029
Quadratic		0.383	0.005	0.083	0.987	1.0	0.254	0.131	0.341	0.67
Extract \times S. cerevisiae		0.834	0.105	0.836	0.106	0.817	0.511	0.609	0.874	0.207

^a b is the asymptotic gas production (mL/g DM); c is the rate of gas production (/h); Lag is the initial delay before gas production begins (h).
^b SEM^b, Standard error of mean.

Table 2

Effect of *M. oleifera* and *S. cerevisiae* at different concentrations as feed additives on *in vitro* rumen fermentation parameters as well as total gas production at different incubation period (h).

<i>M. oleifera</i> extract (mL/g DM)	<i>S. cerevisiae</i> (mg/g DM)	Fermentation parameters		Gas production (mL/0.5 g dry matter incubated)				Gas production (mL/0.5 g dry matter degraded)			
		pH	DMD ^a	8	24	48	72	8	24	48	72
0	0	6.7	52.4	32.1	66.5	82.8	96.2	35.3	72.7	90.9	105.3
0	2	6.7	72.2	44.2	84.2	114.5	132.8	64.0	121.4	164.6	191.2
0	4	6.8	70.5	48.3	74.4	81.6	91.6	56.4	104.2	114.1	129.0
0.6	0	6.7	68.0	47.9	85.0	118.9	135.0	66.1	116.4	162.4	185.5
0.6	2	6.7	71.5	38.0	65.1	96.3	110.6	54.0	92.5	136.8	157.1
0.6	4	6.6	68.8	39.7	72.0	94.8	107.4	54.2	88.6	120.4	146.6
1.8	0	6.8	65.5	42.3	72.4	108.2	122.6	56.6	96.5	142.1	162.1
1.8	2	6.8	66.1	68.1	107.3	146.2	156.4	91.1	141.5	192.6	206.0
1.8	4	6.7	72.8	57.6	94.9	125.6	138.3	83.5	138.2	183.2	202.0
Pooled SEM ^b		0.04	2.03	0.11	12.62	15.57	17.18	12.57	17.54	21.75	13.08
Additive effect:											
Extract											
Linear		0.087	0.26	0.175	0.237	0.121	0.175	0.15	0.279	0.103	0.145
Quadratic		0.097	0.219	0.56	0.511	0.796	0.792	0.649	0.611	0.828	0.918
<i>S. cerevisiae</i>											
Linear		0.013	0.004	0.648	0.723	0.897	0.795	0.462	0.418	0.721	0.799
Quadratic		0.045	0.136	0.51	0.582	0.35	0.37	0.451	0.491	0.281	0.288
Extract × <i>S. cerevisiae</i>		0.714	0.031	0.804	0.744	0.736	0.742	0.755	0.64	0.592	0.56

^aDMD is dry matter degradability.

^bSEM^b, Standard error of mean.

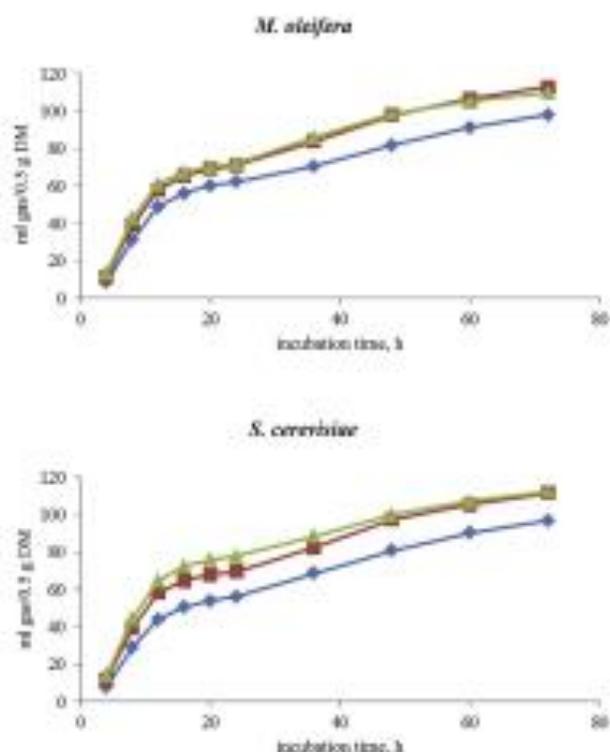


Fig. 1. Ruminal CP (mL/0.5 g incubated DM) in goats as affected by the dietary inclusion of *M. oleifera* extract [0 (-+), 0.6 (-●), and 1.8 (-▲)] mL/g DM and *S. cerevisiae* [0 (-+), 2.0 (-●), and 4.0 (-▲)] mg/g DM.

3.3. Ruminal CH₄ production

In vitro ruminal CH₄ emission (mL/0.5 g incubated DM) as influenced due to the inclusion of varied levels of *M. oleifera* extract and *S. cerevisiae* in diet fed to goats is shown in Fig. 2. The

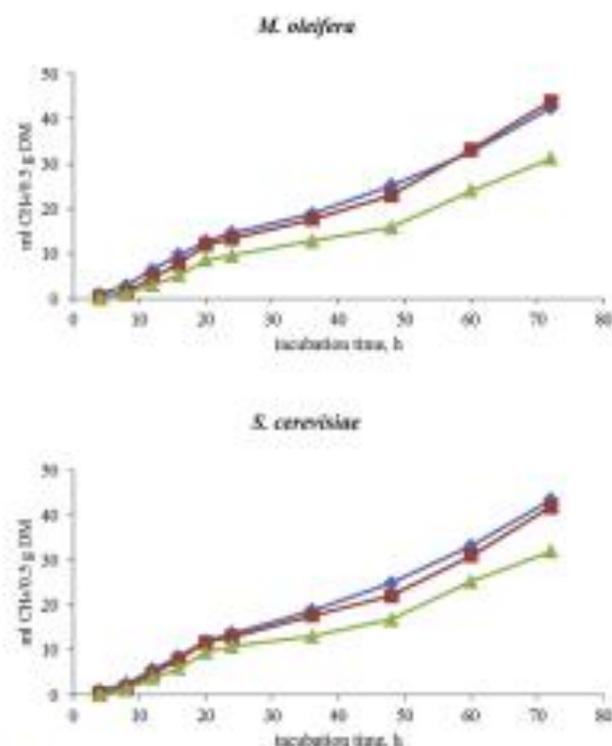


Fig. 2. Ruminal CH₄ production (mL/0.5 g incubated DM) in goats as affected by the dietary inclusion of *M. oleifera* extract [0 (-+), 0.6 (-●), and 1.8 (-▲)] mL/g DM and *S. cerevisiae* [0 (-+), 2.0 (-●), and 4.0 (-▲)] mg/g DM.

supplementation of *M. oleifera* extract and *S. cerevisiae* revealed mitigation in CH₄ emission (mL/0.5 g incubated DM) with respect to the control diet. No significant differences were reported for *M. oleifera* extract × *S. cerevisiae* interaction. On the other hand, CH₄ emission (mL/0.5 g degraded DM) was improved ($P > 0.05$) at 8, 24, 48, and 72 h due to the inclusion of *M. oleifera* extract and

Table 3Effect of *M. oleiferus* and *S. cerevisiae* at different concentrations as feed additives on *in vitro* rumen CH₄ production at different incubation period (h).

<i>M. oleiferus</i> extract (mL/g DM)	<i>S. cerevisiae</i> (mg/g DM)	mL CH ₄ /0.5 g dry matter incubated				mL CH ₄ /0.5 g dry matter degraded				Proportional CH ₄ production				
		8	24	48	72	8	24	48	72	8	24	48	72	
0	0	0.4	0.9	15.3	28.8	0.5	10.9	17.2	31.8	1.4	14.5	17.8	29.1	
0	2	2.2	14.7	21.7	38.5	3.2	21.2	31.2	55.4	3.5	12.2	13.3	30.3	
0	4	0.8	0.9	15.7	30.3	1.07	14.1	22.4	43.02	1.4	8.4	11.8	21.0	
0.6	0	0.8	13.5	23.2	46.1	1.1	18.4	31.7	63.2	1.5	11.0	14.4	24.7	
0.6	2	1.7	14.8	26.7	54.3	2.5	20.8	37.6	76.8	2.8	14.0	18.4	33.6	
0.6	4	0.3	10.7	16.8	32.4	0.5	14.9	23.1	44.5	0.7	10.9	13.1	22.3	
1.8	0	0.7	10.5	18.8	39.5	0.9	13.8	24.7	51.8	2.3	14.3	15.5	26.6	
1.8	2	0.6	12.8	22.4	46.08	0.9	16.8	29.2	60.3	0.7	9.1	11.8	22.5	
1.8	4	1.7	0.4	12.5	23.07	2.5	13.8	18.3	33.7	2.08	6.9	6.9	11.7	
Pooled SEM ^a		0.4	2.02	5.11	7.82	0.56	4.1	7.11	10.87	0.94	1.8	2.45	2.78	
Additive effect:														
Extract														
Linear			0.825	0.88	0.956	0.728	0.845	0.913	0.96	0.73	0.516	0.512	0.387	0.396
Quadratic			0.779	0.586	0.433	0.260	0.807	0.521	0.381	0.209	0.634	0.421	0.368	0.319
<i>S. cerevisiae</i>														
Linear			0.596	0.736	0.536	0.354	0.52	0.98	0.724	0.548	0.577	0.051	0.11	0.03
Quadratic			0.126	0.312	0.277	0.163	0.109	0.269	0.242	0.132	0.161	0.059	0.056	0.376
Extract × <i>S. cerevisiae</i>			0.302	0.995	0.982	0.94	0.244	0.962	0.971	0.891	0.124	0.674	0.759	0.235

Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$). SEM^a, Standard error of mean.

S. cerevisiae. The proportional CH₄ production was estimated to be decreased (11.7%) with high doses of *M. oleiferus* extract and *S. cerevisiae* at 72 h. The proportional CH₄ emission was not influenced ($P > 0.05$) by *M. oleiferus* extract × *S. cerevisiae* interaction [Table 3].

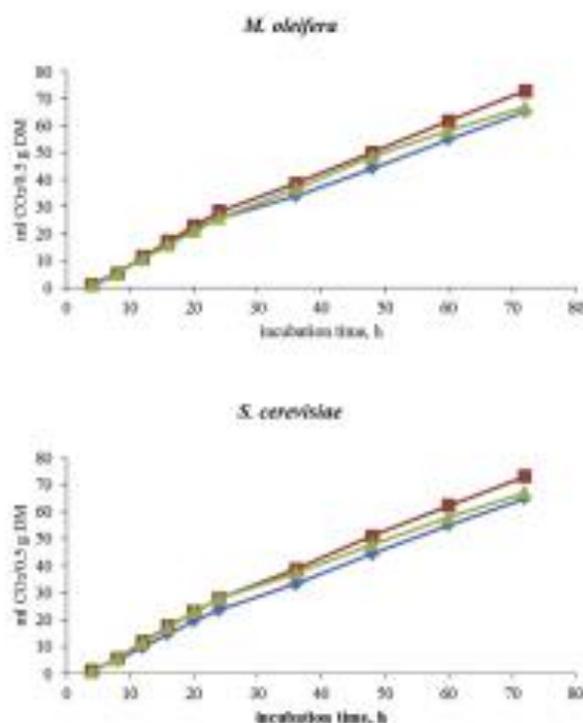


Fig. 3. Ruminal CO₂ production (mL/0.5 g incubated DM) in goats as affected by the dietary inclusion of *M. oleiferus* extract [0 (○), 0.6 (■), 1.8 (△), and 4.0 (▲) mL/g DM] and *S. cerevisiae* [0 (○), 2.0 (■), and 4.0 (▲) mg/g DM].

3.4. Ruminal CO₂ production

Fig. 3 depicts *in vitro* ruminal CO₂ emission (mL/0.5 g incubated DM) because of the inclusion of varied levels of *M. oleiferus* extract and *S. cerevisiae* in diet fed to goats. No significant differences were estimated on CO₂ production (mL/0.5 g incubated DM) due to the inclusion of *M. oleiferus* extract and *S. cerevisiae*. The CO₂ production (mL/0.5 g degraded DM) was increased at varied doses of *M. oleiferus* extract and *S. cerevisiae* but results obtained were not significant ($P > 0.05$). The proportional CO₂ production was reduced significantly (quadratic effect, $P = 0.031$) at 72 h of incubation. *M. oleiferus* extract × *S. cerevisiae* interaction mitigated the proportional CO₂ production significantly ($P < 0.05$) at 8, 24, 48, and 72 h of incubation period [Table 4].

4. Discussion

Sustainable ruminant husbandry requires diminished influence on natural vegetation, improved animal wellbeing, and regulation of the abundance of rumen fermentation gases (CH₄ and CO₂) emitted into the environment. Anaerobic digestion is an efficient tool to provide cleaner environment by reducing GHG emissions from digestate (Huopana et al., 2013). Moraes et al. (2017) studied the proficient role of anaerobic digestion treatment on the reduction of GHG release from organic waste. CH₄ and CO₂ emission during fermentation in ruminants was reported to cause a loss in dietary energy of 2–12% (Johnson and Johnson, 1995). The improvement of animal performances by mitigating the emission of detrimental gases into the ecosystem is an urgent call of this hour.

According to Liu et al. (2018), it is imperative to understand the influence of diverse methods on varied industries on the socio-economic system to identify the most effective GHG mitigation approaches. Livestock are being regarded as leading responsible factors towards the significant contribution in GHG emission. Proper management system in livestock industries may help reduce the production of detrimental gases (Vasconcelos et al., 2018). The significant mitigation of GHG production from animals is obtained by modifying the ruminant's feed using diversified

supplements. An additive should not only be inexpensive and easily available but also has the potentiality to modify the rumen fermentative mechanism without leaving any residue in the animal products. Considering the emerging public concern of conventional antibiotics and prominent cause for the development of multiple drugs resistance microorganisms, several natural additives have been supplemented into the feeding diets of animals as effectual sources for manipulating ruminal microbial ecosystem. Phytogetic extracts and yeasts cells have been considered as requisite alternatives to conventional auspicious agents that might be supplemented for modulating the rumen fermentative process (Elghandour et al., 2017a,b).

In this context, higher doses of *M. oleifera* extract and *S. cerevisiae* caused non-significant ($P > 0.05$) increment in asymptotic GP *in vitro*. Higher GP indicates the ruminal fermentation of feeds at better extent, causing greater availability of nutrients for livestock (Salem et al., 2014b). *M. oleifera* extract and *S. cerevisiae* successfully provided enough nutrients to ruminal microbiota, resulting in good feed degradability and fermentation. The microbial growth and feed accessibility suggest the fermentation rate of components (Medjekal et al., 2017). Previous report depicted that phytocomponents at diversified doses improved rumen fermentative trait and GP. The administration of *Salix babylonica* extract tended to increase ruminal GP with improved weight gain in growing lambs (Cedillo et al., 2014). The graminaceous and leguminous forages reduced ruminal CH_4 emission with advancing harvest date which might be due to the variations in the chemical composition and condensed tannin in forages (Rong-zhen et al., 2016). The increased GP because of *M. oleifera* extract inclusion suggests the presence of fermentable and digestible saccharides in phytoconstituents. In this study, the fractional rate of GP was estimated to be significant due to the supplementation of *M. oleifera* extract. Lag time increased linearly but only *M. oleifera* extract affected it quadratically. The improvement of GP likely induced higher availability of nutrients to animals. The supplementation of *M. oleifera* extract delayed the adaptation strategies of microbes to the feeds, depicting extended lag period and GP. Reduced lag phase indicates its easy contribution for providing significant amount of nutrients (Salem et al., 2007). It should be noteworthy that the variation observed in responses of plants

towards GP factors might be because of the concentration and nature of bioactive components, activity towards ruminal microbiota, and other pivotal parameters that may influence the stability of phytocomponents. The genome characteristics of plant species may also be a plausible factor towards altering *in vitro* GP among distinctly fermented feeds (Elghandour et al., 2017a,b).

The incorporation of *S. cerevisiae* into diet showed increased impact on GP from goats. The inclusion of yeast induces the cellulolytic activity of microbes present in the hindgut, resulting in increased digestion of fibre (Jouany et al., 2009). Lattimer et al. (2005) suggested that the incorporation of yeasts into the dietary feeds enhanced the growth of microbiota and *in vitro* GP. In this study, the short fermentation lag time because of *S. cerevisiae* addition is due to the reason that yeast contains various macromolecules, which are essential to induce cellulolytic microbes for initiating growth and improving its activity (Callaway and Martin, 1997).

CO_2 and CH_4 are emitted during the ruminal fermentative mechanism. In this context, the asymptotic CH_4 emission, rate of CH_4 emission, and lag period decreased non-significantly ($P > 0.05$) with the inclusion of varied doses of *M. oleifera* extract, *S. cerevisiae*, and *M. oleifera* extract \times *S. cerevisiae* interaction, which is in fact crucial for the environment. The supplementation of *M. oleifera* extract and *S. cerevisiae* showed no significant ($P > 0.05$) impact on the asymptotic and fractional rate of CO_2 emission, while *S. cerevisiae* decreased the lag time significantly. *M. oleifera* extract \times *S. cerevisiae* interaction showed no significant ($P > 0.05$) effect on asymptotic CO_2 , fractional rate of CO_2 emission, and lag time. This might be mainly because of the increment in fibre content and decreased non-structural carbohydrates in feeds constituting *M. oleifera* extract. An increase in cell wall composition may mitigate activities of microbes, resulting reduced CO_2 emission and decreased lag period of CO_2 emission. The alteration in detrimental gases production because of the inclusion of *S. cerevisiae* is primarily due to the dose-dependent interactions between yeast and feeding diet (Patra, 2012).

In the present investigation, the fermentation pH and DMD values were found to be non-significantly ($P > 0.05$) affected due to the supplementation of *M. oleifera* extract. The addition of *S. cerevisiae* affected significantly the DMD. *M. oleifera*

Table 4
Effect of *M. oleifera* and *S. cerevisiae* at different concentrations as feed additives on *in vitro* rumen CO_2 production at different incubation period (h).

<i>M. oleifera</i> extract (ml/g DM)	<i>S. cerevisiae</i> (mg/g DM)	ml CO_2 /0.5 g dry matter incubated				ml CO_2 /0.5 g dry matter degraded				Proportional CO_2 production			
		8	24	48	72	8	24	48	72	8	24	48	72
0	0	4.3	26.6	43.4	62.7	4.7	29.4	48.0	68.9	13.2	40.2	52.4	65.2
0	2	5.1	29.9	54.0	79.3	7.4	40.0	77.7	114.1	11.5	35.4	47.2	59.7
0	4	4.8	22.8	31.2	46.9	6.5	32.0	43.8	65.6	11.5	30.6	37.6	50.7
0.6	0	4.7	31.2	58.3	84.3	6.5	42.7	79.5	115.0	10.7	37.1	49.3	62.3
0.6	2	6.4	32.2	56.0	80.6	9.0	45.5	79.3	114.1	15.8	47.7	56.8	71.3
0.6	4	4.0	23.9	42.0	61.4	5.5	32.8	57.6	84.2	10.3	33.2	44.7	57.6
1.8	0	4.0	18.5	41.3	60.2	5.3	24.6	54.4	79.5	9.3	26.8	39.3	50.3
1.8	2	8.3	38.0	73.2	99.5	10.9	50.0	96.4	131.0	12.1	35.5	50.1	63.6
1.8	4	7.8	37.0	67.0	86.6	11.3	53.9	97.7	126.5	13.8	38.8	52.9	62.3
Pooled SEM ¹		1.21	5.15	8.51	11.58	1.68	7.17	11.9	16.13	0.84	1.89	2.28	2.52
Additive effect:													
Extract													
Linear		0.232	0.497	0.138	0.229	0.196	0.409	0.114	0.187	0.747	0.514	0.585	0.959
Quadratic		0.618	0.963	0.967	0.82	0.715	0.849	0.850	0.703	0.702	0.605	0.16	0.084
<i>S. cerevisiae</i>													
Linear		0.45	0.717	0.833	0.784	0.303	0.435	0.713	0.838	0.481	0.851	0.509	0.465
Quadratic		0.342	0.269	0.169	0.158	0.216	0.223	0.139	0.122	0.164	0.03	0.056	0.031
Extract \times <i>S. cerevisiae</i>		0.774	0.588	0.553	0.671	0.768	0.563	0.449	0.58	0.026	0.007	0.014	0.039

Means in the same column with different superscripts differ significantly ($P < 0.05$). SEM¹, Standard error of mean.

extract \times *S. cerevisiae* interaction revealed significant influence on DMDD too. Findings of the present study partially support the results of Elghandour et al. (2017a,b) who revealed that plant leaves incorporation caused reduction and increment in the ruminal pH and *in vitro* DMDD values. The impact of yeasts on pH depends on the fermentative feed. Previous study demonstrated increased cecal pH in horses fed the yeast cells with respect to control diet (Hall and Miller-Auwerda, 2005).

The inclusion of *S. cerevisiae* with respect to *M. oleifera* extract depicted the improved rate of GP in a time dependent manner. The proportional CH_4 production was estimated to be decreased ($P > 0.05$) at high doses of *M. oleifera* extract and *S. cerevisiae* at 72 h of incubation. *M. oleifera* extract \times *S. cerevisiae* interaction mitigated the proportional CO_2 production significantly ($P < 0.05$) at 8, 24, 48, and 72 h of incubation period. Our finding favours the previous report of Polvorach et al. (2014) who revealed increased GP and decreased CH_4 emission due to the supplementation of dose dependent ration. This might be because of an improved proportion of ration protein, which alters the concentration of short chain fatty acids and releases lower level of acetic acid and more amount of propionic acid (Johal et al., 2008). Elghandour et al. (2014) estimated improved CH_4 emission due to the supplementation of lower doses of yeasts into the feeding diet. However, higher dose of yeast mitigated CH_4 emission. Authors indicated that yeasts might induce the acetogens for competing or co-metabolizing H_2 with methanogens, causing reduction in GHG production. Polvorach et al. (2014) demonstrated that CH_4 emission was mitigated when animal feed was supplemented with yeast fermented cassava chip protein in lieu of soybean meal. Martin and Nisbet (1992) demonstrated an improved CH_4 emission after dietary supplementation. Variations observed in our finding and previous reports might be because of the distinct type of strains and nature of rations used (Patra, 2012).

5. Conclusions

The supplementation of *M. oleifera* extract (18 mL/g DM) and *S. cerevisiae* (4 mg/g DM) exhibited improvement in asymptotic GP from 88.8 to 147.5 mL/g DM. The fractional rate of GP (0.069) and lag time (1.32–3.99 h) were increased too due to the supplementation of these additives. *In vitro* CH_4 (11.7%) and proportional CO_2 (50.3%) emission from goats were mitigated at higher doses of additives with respect to the control diet. Supplementing dietary feeds of goats with *M. oleifera* extract and *S. cerevisiae* could be valuable resources of sustainability and can undeniably be utilized as valuable cleaner product or feedstuff for ecosystem and livestock by avoiding the ruminal gases (CH_4 and CO_2) produced anaerobically at greater extent. In view of the colossal side effects of conventional antibiotics, *M. oleifera* extract and *S. cerevisiae* may be considered as requisite additives for animals and can undeniably manage socio-economic aspects in livestock industries. *In vivo* studies are essential to understand the mechanism of action of *M. oleifera* extract and *S. cerevisiae* at varied concentrations on fermentation kinetics and nutrients digestibility in goats.

Conflicts of interest

None declared.

Acknowledgement

Author would like to thank the financial support from the Autonomous University of the State of Mexico (Project UAEM 4304/2017/C1).

References

- Callaway, E.S., Martin, S.A., 1967. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. *J. Dairy Sci.* 80, 2035–2044.
- Coffin, J., Vazquez-Arenas, J.F., Gonzalez-Boya, A., Salem, A.Z.M., Khafif, A.E., Hernandez-Molina, J., Martinez-Gonzalez, J.C., Jimenez, R.M.D.O., Rivera, N., Lopez, D., 2004. Effects of different doses of *Solanum tuberosum* extract on growth performance and diet *in vitro* gas production in Fleischschaff growing lambs. *Ital. J. Anim. Sci.* 33, 809–813.
- Charuchitran-Durand, F., Wiedler, M.D., Bach, A., 2008. Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: past, present and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 5–26.
- Hjorsto, S.N., Winters, N., Dast, M.V., Gattardo, B., Cerdaneras, R., 2015. Impact of feedstock, land use change, and soil organic carbon on energy and greenhouse gas performance of biomass cogeneration technologies. *Appl. Energy* 154, 122–130.
- Elghandour, M.M.Y., Khafif, A., Grewar, R., Salem, A.Z.M., Lago de la Fuente, J., Manzano-Molina, O., Barbatana-Piñero, A., Munoz-de-Oca Jimenez, R., 2016. Horse fecal methane and carbon dioxide production and fermentation kinetics influenced by *Lactobacillus fermentis* supplemented diet. *J. Equine Vet. Sci.* 62, 98–101.
- Elghandour, M.M.Y., Vazquez-Chagoyán, J.C., Salem, A.Z.M., Khafif, A.E., Martinez-Castaneda, J.S., Cantucha, L.M., Cervillo-Lera, M.A., 2014. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* at diet addition or pre-fermentation on *in vitro* gas production kinetics and degradability of four fibrous feeds. *Ital. J. Anim. Sci.* 33, 295–301.
- Elghandour, M.M.Y., Salem, A.Z.M., Khafif, A., Cipriano-Salazar, M., Olivares-Perez, J., Barro-Rodriguez, M.A., Coyac, R., 2017a. Assessment of some browse tree leaves on gas production and sustainable mitigation of CH_4 and CO_2 emissions in dairy calves at different ages. *J. Clean. Prod.* 162, 1302–1309.
- Elghandour, M.M.Y., Khafif, A.E., Salem, A.Z.M., Ghalafelhat, O.A., Khafif, A.M., 2018. Sustainable anaerobic rumen methane and carbon dioxide production from prickly pear cactus fruit by organic acid salts addition. *J. Clean. Prod.* 139, 1362–1369.
- Elghandour, M.M.Y., Vazquez, J.C., Salem, A.Z.M., Khafif, A.E., Cipriano, M.M., Cantucha, L.M., Manzano, D., 2017b. *In vitro* gas and methane production of two ruminant rations influenced by three different cultures of *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Appl. Anim. Res.* 45, 389–395.
- FAO, 2006. *Livestock a Major Threat to the Environment: Remedies Urgently Needed*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Hanus, J., Dejmek, J., Džurina, M.S., Lopez, S., Baranik, A., 2006. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed *in vitro*: derivation of models and other mathematical considerations. *Br. J. Nutr.* 83, 143–150.
- Goering, H.K., Van Soest, P.J., 1970. *Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications)*. Agricultural Research Service, USDA, Washington, DC, USA.
- Hall, M.M., Miller-Auwerda, P.A., 2005. Effect of a *Saccharomyces cerevisiae* galactol product on cecal pH in the equine hindgut. In: Proceedings of the 10th Equine Science Society Symposium, Arizona State University, AZ, pp. 45–46.
- Hernandez, A., Khafif, A.E., Lago-Coyac, R., Elghandour, M.M.Y., Cipriano, M., Rodriguez, C.B., Osorno, N.E., Salem, A.Z.M., 2017. The effect of garlic oil, *Aspergillus oryzae* and yeast on biogas and carbon dioxide production from 60-d old Holstein dairy calves fed a high concentrate diet. *J. Clean. Prod.* 142, 2394–2397.
- Huopana, T., Song, H., Kulkarni, M., Niemi, H., 2013. A regional model for sustainable biogas electricity production: a case study from a Finnish province. *Appl. Energy* 102, 678–686.
- Iqbal, M.F., Cheng, Y.F., Zhu, W.Y., Zhai, B., 2008. Mitigation of ruminant methane production: current strategies, constraints and future options. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24, 2747–2755.
- Johansen, K.A., Johnson, D.E., 1995. Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73, 2480–2492.
- Jouany, J.P., Medina, B., Berrin, C., Julland, V., 2001. Effect of live yeast culture supplements on hepatic microbial communities and their polysaccharides and glycolytic hydrolase activities in horses fed high-fiber or high-starch diet. *J. Anim. Sci.* 93, 2844–2852.
- Jouany, J.P., 2001. A new look to the yeast culture as probiotics for ruminants. *Feed Mix* 9, 17–18.
- Khafif, A.E., Grewar, G.A., Morry, T.A., Salem, A.Z.M., Lopez, S., Khafif, A.M., 2015. Mango oleifer leaf meal as a protein source in lactating goat's diets: feed intake, digestibility, ruminal fermentation, milk yield and composition, and its fatty acid profile. *Small Rumin. Res.* 128, 126–137.
- Larrosa, J.M., Cooper, S.R., Freeman, D.W., Lakran, D.A., 2005. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* on *in vitro* fermentation of a high concentrate or high fiber diet in horses. In: Proceedings of the 10th Symposium of the Equine Science Society, Tucson, AZ, pp. 168–171.
- Li, L., Huang, C., Bao, B., Zhang, K., 2018. Environmentally-extended input-output simulation for analyzing production-based and consumption-based industrial greenhouse gas mitigation policies. *Appl. Energy* 213, 69–78.
- Martin, S.A., Nisbet, D.J., 1992. Effect of dietary-fed microbials on rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* 75, 1736–1744.
- Medjeral, S., Bodas, E., Bousaboua, H., Lopez, S., 2007. Evaluation of three microbial plants for methane production potential, fiber digestion and rumen

- fermentation *in vitro*. *Energy Procedia* 118, 632–643.
- Mirani, B.S., Peterson, S.O., Zolan, M., Sommer, S.C., Truitt, J.M., 2017. Reduction in greenhouse gas emissions from viscose through anaerobic digestion. *Appl. Energy* 189, 21–30.
- National Research Council, 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Orskov, E.R., McDonald, L., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to the rate of passage. *J. Agric. Sci. Camb.* 82, 499–503.
- Patra, A.K., 2012. The use of live yeast products as microbial feed additives in ruminant nutrition. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 7, 366–375.
- Pitelko, E., McDwan, N., Marles, J.P., Raperath, C., Asstair, E., Newbold, C.J., 2013. The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. *PLoS One* 8, e78224.
- Poljoracki, S., Waniapat, M., Christborg, A., 2014. Influence of yeast fermented ruminant chip protein (YRICHAP) and roughage to concentrate ratio on ruminal fermentation and microorganisms using *in vitro* gas production technique. *Asian-Australian J. Anim. Sci.* 27, 36–43.
- Reddish, M.A., Kang, I., 2007. The effect of feeding a dry enzyme mixture with fibrolytic activity on the performance of lactating cows and digestibility of a diet for sheep. *J. Dairy Sci.* 90, 4724–4728.
- Shang-zhen, Z., Yi, F., Hai-xia, S., Min, W., Dao-wen, Z., 2000. Rumen methane output and fermentation characteristics of grasshopper forage and leguminous forage at differing harvest dates determined using an *in vitro* gas production technique. *J. Integr. Agr.* 15, 404–407.
- Saleh, A.Z., Khalil, A.E., Elgharabaa, M.M., Hernandez, S.R., Dominguez-Vaza, I.A., Mellado, M., 2014a. Effect of increasing levels of seven tree species extracts added to a high concentrate diet on *in vitro* rumen gas output. *Anim. Sci. J.* 85, 853–860.
- Saleh, A.Z.M., Khalil, A.E., Othman, M., Elgharabaa, M.M.Y., Mellado, M., Ayres, J., 2014b. Influence of *S. habylesku* extract on feed intake, growth performance and diet *in vitro* gas production profile in young lambs. *Trop. Anim. Health Prod.* 46, 213–218.
- Saleh, A.Z.M., Rabieaux, F.H., El-Adawy, M.M., Hassan, A.A., 2007. *In vitro* fermentation and microbial protein synthesis of some browse tree leaves with or without addition of polyethylene glycol. *Asian. Feed Sci. Technol.* 126, 318–330.
- SAS, 2002. *SAS User's Guide Statistics*, version 9.0. SAS Institute, Cary, NC (New York, USA).
- Theodorou, M.E., Williams, B.A., Othman, M.S., McAllan, A.B., France, J., 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Asian. Feed Sci. Technol.* 48, 185–193.
- Valleja, L.H., Saleh, A.Z.M., Khalil, A.E., Elgharabaa, M.M.Y., Fajardo, R.C., Rivero, N., Ramirez, A.Z., Mariscalcarria, M.D., 2016. Influence of cellulase or xylanase on the *in vitro* rumen gas production and fermentation of corn stover. *Indian J. Anim. Sci.* 96, 70–74.
- Vasconcelos, K., Farinha, M., Bernardo, L., do N Larpert, V., Gianetti, M., da Costa, J.S., Soares Filho, A., Moraes Genero, T.C., Faverani Raviaro, C., 2008. Livestock-derived greenhouse gas emissions in a diversified grazing system in the subtropical Pampa biome, Southern Brazil. *Land Use Policy* 75, 442–448.

7.2 Anthelmintic potential activities of the identified bioactive compounds of *Moringa oleifera* leaf extract to enhance the growth performance of goats

- Forwarded message -----

From: Carol Millman <onbehalf@manuscriptcentral.com>

To: "asalem70@yahoo.com" <asalem70@yahoo.com>

Sent: Thursday, 19 November 2020, 19:36:07 GMT-6

Subject: Manuscript submitted - AAB-2020-0418

Dear Professor A.Z.M. Salem

Thank you for submitting your paper entitled "Anthelmintic potential activities of the identified bioactive compounds of *Moringa oleifera* leaf extract to enhance the growth performance of goats" to *Annals of Applied Biology*. The paper has been allocated reference number AAB-2020-0418.

You will be able to track the progress of this submission by logging on to the Author Centre in the Manuscript Central site and selecting "submitted manuscripts".

If you have any queries please contact the Editorial Administrator, Carol Millman at carol@aab.org.uk.

You can now enjoy 30 days free access to *Annals of Applied Biology*. Click on the link below to activate your free trial then follow the online instructions: www.interscience.wiley.com/trial/aabauthors

Additionally, if you would like to be advised of the activities of the Association on a quarterly basis, including information of our upcoming conferences, please email Bernadette Lawson at bernadette@aab.org.uk with PLEASE ADD ME TO AAB DATABASE in the title line.

Regards

Annals of Applied Biology

Mrs C A Millman, Editorial Office

Annals of Applied Biology

<http://mc.manuscriptcentral.com/aab>

<http://www.aab.org.uk>

Annals of Applied Biology

An international journal of the **aab**



Anthelmintic potential activities of the identified bioactive compounds of Moringa oleifera leaf extract to enhance the growth performance of goats

Journal:	<i>Annals of Applied Biology</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Salem, A.Z.M.; Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Key Words:	Anthelmintic, Bioactive compounds, Feed additive, GC-MS, Goats, Growth performances, M. oleifera

SCHOLARONE™
Manuscripts

**Anthelmintic potential activities of the identified bioactive compounds of
Moringa oleifera leaf extract to enhance the growth performance of goats**

Juan Pedraza-Hernández¹, Mona M.M.Y. Elghandour¹, Ameer Khusro², Mohamed
Z.M. Salem³, Luis M. Camacho-Diaz⁴, Alberto Barbabosa-Pliego¹, Abdelfattah Z.M.
Salem^{1*}

¹*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado
de México, México*

²*Research Department of Plant Biology and Biotechnology, Loyola College,
Nungambakkam, Chennai-600034, India*

³*Forestry and Wood Technology Department, Faculty of Agriculture (El-Shatby),
Alexandria University, Alexandria 21545, Egypt*

⁴*Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de
Guerrero, México*

*Correspondence:

Dr. Abdelfattah Z.M. Salem

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Universidad Autónoma del Estado de México

México

E-mails: salem@uaemex.mx; asalem70@yahoo.com

Running Head: *Bioactive compounds of Moringa oleifera and goat's health and
performance*

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of bioactive compounds of *Moringa oleifera* leaves extract as dietary feed additive on helminths load and growth performances of goats. Anthelmintic attributes of *M. oleifera* bioactive compounds were evaluated against disparate nematodes using standard methodology. A completely randomized experiments of 3 treatments comprised of 10 goats in each treatment was designed. Treatments used in the present experiment were: Treatment 1 (T1) - 0 mL of extract, Treatment 2 (T2) - 30 mL of extract, and Treatment 3 (T3) - 60 mL of extract. Growth performance parameters (body weight, daily weight gain, and feed intake values) of goats fed varied concentrations of *M. oleifera* bioactive compounds were estimated. The bioactive compounds composition of *M. oleifera* extract was analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Further, GC-MS analysis showed the presence of Heneicosane (35.69%), 1,2-benzenedicarboxylic acid (22.89%), Heptacosane (18.26%), Pentatriacontane (4.77%), and Hexadecanoic acid, ethylester (3%) as predominant compounds in *M. oleifera* leaves extract. *M. oleifera* leaves extract exhibited significant ($P=0.002$) anthelmintic activities against *Trichuris* sp. and *Ostertagia* sp. with reduced counts of eggs. The T2 goats offered significant ($P<0.05$) increment in body weight of goat from 14.74 kg (d 0) to 16.52 (d 30), 17.72 (d 45), and 19.64 kg (d 60). Similarly, the goats T3 significantly ($P<0.05$) enhanced the body weight from 15.41 kg (d 0) to 19.19 (d 30), 20.87 (d 45), and 22.73 kg (d 60). Daily weight gain was increased from 14.66 g (d 0) to 14.74 (d 15), 16.27 (d 30), 17.44 (d 45), and 19.34 g (d 60) in T2, while in group T3 the daily weight gain

increased from 15.41 g (d 0) to 17.16 (d 15), 18.9 (d 30), 20.55 (d 45), and 22.38 g (d 60). The group T3 exhibited maximum feed intake value of 588, 678, 652, and 678 g d⁻¹ at 0, 30, 45, and 60 days, respectively. Feed conversion efficiency was increased for T2 and T3 goats *versus* T1. Findings of this study concluded that *M. oleifera* bioactive compounds can be used not only as effective anthelmintic agent against disparate nematodes but also as prominent feed additive to improve growth performances of goats.

KEYWORDS: Anthelmintic; Bioactive compounds; Feed additive; GC-MS; Goats; Growth performances; *M. oleifera*

1 INTRODUCTION

Livestock industries play a paramount socio-economic role in both the developing and developed countries in order to fulfil the growing global demands of meat. Among disparate ruminants and non-ruminants, goats are considered versatile animals due to their valuable contribution in economically deprived countries as pivotal sources of food and income [1]. Goats can adapt to adverse environments and can consume disparate kinds of grasses and leaves. Unfortunately, the productivity of goats in most of the sub-tropical regions is often limited because of the low quality or inadequacy of prominent feeds [2]. On the other hand, currently, gastro-intestinal nematodes are colossal constraint in the productivity of goats of tropical regions. Nematodes of different genera such as *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Eimeria*, *Cooperia*, *Trichuris*, and *Ostertagia* cause anaemia, weight loss, diarrhoea, reduced yield in milk and wool, alteration in the reproductive cycle, and high mortality of goats [3]. Levamisol, mebendazole, morantel, dormectin, thiabendazole, albendazole, and ivermectin are the commonly used conventional anthelmintic drugs. However, these drugs are the leading factor for the emergence of drug-resistant nematodes [4].

Generally, farmers feed goats with poor nutritious quality of forages containing not only low level of nitrogen, vitamins, and other minerals but also high concentration of lignin and cellulose [5]. Thus, it leads to reduced digestibility and low feed intake [6]. In addition, feeding ruminants a supplement-free diet causes significant loss in weight and sometimes death of animal [7]. Therefore, the availability of additive-free forages, increasing cost of nutritious feed, ban of antibiotic growth promoters, and

development of drug resistant gastro-intestinal nematodes have emphasized veterinarians to identify suitable feedstuff for animals.

Over the past few years, plethora of plants extracts and browse trees has been exploited as promising alternative supplements to the existing antibiotics in order to promote growth performances with no toxicity, improve the intake of roughage, enhance the efficiency in animals, and determine anthelmintic properties [8,9]. Likewise, the incorporation of shrubs and fodder trees could be a potent approach to increase the availability and quality of forages during the dry season [2]. *Moringa oleifera* (family - Moringaceae), also called as 'miracle tree' or 'drumstick tree' is a fast-growing woody plant in tropical and sub-tropical zones of South Asia, Arabia, and Africa [10]. Seeds, flowers, and leaves of this plant have revealed broad spectrum therapeutic applications in the past [11]. However, leaves of *M. oleifera* are highly nutritious containing lipids, proteins, vitamins (vitamin B complex, vitamin C, beta-carotene, and vitamin K), amino acids, and minerals [12]. Leaf extracts constitute low level of polyphenols, thereby showing its potential impact on blood lipid metabolism [13]. Additionally, varied phytochemicals present in the leaves of *M. oleifera* show anti-septic, anthelmintic, and antioxidant properties [1,14,15].

Beside the colossal medicinal importance, *M. oleifera* has shown its potential as feed additives in animals too. Previous studies revealed the utilization of *M. oleifera* as alternative feed additives in broilers [9,16], fish [17], cattle [18], horse [19], and goats [2,5,20]. However, reports on its feeding effects on growth performances of goats and anthelmintic attributes are scarce. Considering this, the present context was focussed not only to evaluate the effect of *M. oleifera* leaves as natural feed additive

on growth performances of goats but also as ideal anthelmintic agent against certain nematodes.

2 MATERIALS AND METHODS

2.1 Study location

The experiment was carried out at Rancho el Cajon located in the Libramiento Oriente Tejupilco-Amatepec. Animals were cared for and managed in accordance with the official Mexican standards for animal care [21].

2.2 Plant used

Fresh leaves of five *M. oleífera* trees of different phenological stages were collected from South of the State of Mexico, Tejupilco, Rancho ICAMEX. Samples were brought to the laboratory inside a polythene bag and stored for further experimental purposes.

2.2.1 Extract preparation of *M. oleífera* leaves

Fresh leaves (1 kg) of *M. oleífera* were dried in shade for 7-10 days at room temperature. After drying, leaves were ground and mixed into 8 L of distilled water, ethanol (99.9%, analytical grade, Fermont®, Monterrey, Mexico), and methanol (99.8%, analytical grade, Fermont®, Monterrey, Mexico), prepared in 80:10:10 ratio. The mixture was incubated at 30°C for 72 h in an orbital shaker. After required incubation period, the mixture was centrifuged to separate the solid fraction from solution. The collected solution was filtered further through filter paper (Whatman No. 1). The filtrate was concentrated by evaporating the solvent at 50°C using a rotary evaporator. The extract obtained was stored at 4°C until further analyses [22].

2.2.2 Gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) analysis of extract

M. oleifera extract was analyzed for its bioactive compounds using Focus GC-DSQ Mass Spectrometer (Thermo Scientific, Austin, TX, USA) apparatus with a direct capillary column TG–5MS (30 m × 0.25 µm × 0.25 µm film thickness). The column oven temperature was initially held at 45°C, increased further by 5°C min⁻¹ to 250°C, and then increased to 280°C (10°C min⁻¹). The injector and detector (MS transfer line) temperatures were kept at 250°C. Helium was used as a carrier gas at a constant flow rate of 1 mL min⁻¹ [27]. The solvent delay was 2 min and diluted samples of 1 µL were injected automatically using Autosampler AS3000 coupled with GC in the split mode. EI mass spectra were collected at 70 eV ionization voltages over the range of m/z 40–550 in full scan mode. The ion source was set at 200. The components were identified by comparison of their retention times and mass spectra with those of WILEY 09 and NIST 11 mass spectral database [28].

2.3 Anthelmintic activity-

2.3.1 Animals used

Eight goats (age – 5 to 6 months) with an average weight of 15-17 kg were used for determining *in vivo* anthelmintic activity. Animals were fed balanced diet (Table 1) during two frequencies at 8:00 pm and 5:00 pm in order to maintain a homogeneous ruminal fermentation. Animals were provided clean water throughout the day.

2.3.2 Treatments

Treatments used in the present experiment were as follows: Treatment 1 or control (T1): 0 mL of extract animal⁻¹; Treatment 2 (T2): 60 mL of extract animal⁻¹

2.3.3 Parasitology test

The oocyst and egg count technique were performed using the methodology as described by Hernandez et al. [23]. Briefly, faecal samples of each animal were collected individually directly from the rectum before morning feeding on day 0 (pre-extract administration), and thereafter on day 7 and day 15 after the first administration of the extract (on day 0). Faecal samples were evaluated for the presence of worm eggs or *Eimeria* oocysts by a salt flotation technique [24], and afterwards the parasite load was quantified using the McMaster method [25]. Faecal pellets were collected and weighed. One gram of faeces was mixed with 60 mL of NaCl solution. Pellets were broken by a mechanical stirrer and then strained into a 250 mL conical flask using sieve. The strained solution (10 mL) was used for the determination of faecal egg counts using a 2-McMaster chamber with a limit of detection of 200 eggs g⁻¹ of faeces. Faecal cultures were prepared during each sampling time as two replicates of pooled samples from each animal in order to allow the development of third-stage larvae from strongylidae eggs. The genus of the parasite was identified after 12 days at 27°C in a chamber with constant humidity and oxygenation. Larvae were then collected from a Baermann equipment, and generic identification of strongylidae nematodes was carried out using identification taxonomic keys [26]. Mean egg or oocyst counts (eggs g⁻¹ of faeces) from each animal within each experimental period were used for statistical comparisons.

2.4 Growth performance-

2.4.1 Animals used

A total of 30 male Boer breed, with an average live weight between 15 and 18 kg were used in this study. Animals were kept in individual cages of 1 m × 1.5 m. Animals were fed balanced diet (Table 1) during two frequencies at 8:00 pm and 5:00 pm in order to maintain a homogeneous ruminal fermentation. In addition, fresh water was provided throughout the day.

2.4.2 Treatments

A completely randomized experimental design of 3 treatments containing 10 goats in each treatment was used. Treatments used in the present experiment were as follows: Treatment 1 or control (T1): 0 mL of extract animal⁻¹; Treatment 2 (T2): 30 mL of extract animal⁻¹; y Treatment 3 (T3): 60 mL of extract animal⁻¹.

Each treatment was used as an experimental unit using the following statistical model:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

Where:

Y_{ij} = "Response variable"

μ = "Overall mean"

T_i = "Treatment effect (3 treatments)"

ε_{ij} = "Experimental error"

2.4.3 Measurement and analysis parameters-

2.4.3.1 Body weight

Goats were fed non-supplemented and *M. oleifera* supplemented diets as per the treatment groups. Body weight was measured at 30, 45, and 60 days (d) for control and treated goats.

2.4.3.2 Daily weight gain

Daily weight gain was calculated by weighing the goats every 15 d during 60 d of the experiment.

2.4.3.3 Feed intake

Each animal was offered 700 g of diet daily as per the treatment groups and the rejection of the feed was measured the next day before offering the fresh diet to each animal in the group of animals for each treatment.

2.5 Statistical analyses

Data of the two experiments were analyzed as a complete randomized design using SAS software (version 9.1, the ANOVA procedure) and the *standard error* (\pm SE) was considered for differences between means. The polynomial contrasts of linear and quadratic effects were used to assess response values of each treatment. Value $P < 0.05$ was considered significance.

3 RESULTS

3.1 GC-MS analysis of *M. oleifera* extract

The GC-MS analysis showed the presence of 14 bioactive compounds in *M. oleifera* extract. Among them, Heneicosane (35.69%), 1,2-benzenedicarboxylic acid

(22.89%), Heptacosane (18.26%), Pentatriacontane (4.77%), and Hexadecanoic acid, ethylester (3%) were predominantly present (Table 2).

3.2 Anthelmintic activity

The anthelmintic characteristics of *M. oleifera* extract against the eggs of *Eimeria* sp., *Cooperia* sp., *Chabertia* sp., *Moniezia* sp., *Trichuris* sp., *Trichostrongylus* sp., and *Ostertagia* sp. The treatment revealed significant ($P=0.002$) effect against *Trichuris* sp. and *Ostertagia* sp. with reduced numbers of eggs/gram of faeces (Table 3). However, sampling days and treatment \times sampling day exhibited no significant ($P>0.05$) effect on the egg output (Fig. 1).

3.4 Body weight

Goats fed with *M. oleifera* extract at varied doses showed significant ($P<0.05$) increment in the body weight at 30, 45, and 60 d (Table 4). Consequently, the non-supplemented goats showed significant ($P<0.05$) reduction in body weight from 16.58 kg (d 0) to 15.1 (d 30), 15.73 (d 45), and 16.49 kg (d 60). The supplementation of 30 mL of extract into the diet (group T2) exhibited significant ($P<0.05$) improvement in body weight of goats from 14.74 kg (d 0) to 16.52 (d 30), 17.72 (d 45), and 19.64 kg (d 60). Likewise, the addition of 60 mL of extract into the diet (group T3) significantly ($P<0.05$) increased the body weight of goats from 15.41 kg (d 0) to 19.19 (d 30), 20.87 (d 45), and 22.73 kg (d 60).

3.5 Daily weight gain

Goats fed with 30 mL of extract (group T2) and 60 mL of extract (group T3) had significant ($P<0.05$) influence on daily weight gain up to 60 d (Fig. 2). The body weight gain increased from 14.66 g (d 0) to 14.74 (d 15), 16.27 (d 30), 17.44 (d 45),

and 19.34 g (d 60) in the group T2. On the other hand, in the group T3, the daily weight gain increased from 15.41 g (d 0) to 17.16 (d 15), 18.9 (d 30), 20.55 (d 45), and 22.38 g (d 60).

3.6 Feed intake

The influence of *M. oleifera* extract supplementation on feed intake is illustrated in Table 5 and Fig. 3. The dry matter intake in group T1 at 0, 30, 45, and 60 d were estimated 490, 533, 473, and 501 g d⁻¹, respectively. In group T2, results showed significant ($P<0.05$) increment in the feed intake value of 533, 604, 571, and 604 g d⁻¹ at 0, 30, 45, and 60 days, respectively. In contrary, group T3 exhibited maximum feed intake value of 588, 678, 652, and 678 g d⁻¹ at 0, 30, 45, and 60 days, respectively. In a like manner, the feed conversion efficiency was estimated to be increased for groups T2 and T3 as compared to the group T1 (Table 6).

4 DISCUSSION

The quest of potential anthelmintic agents from natural resources against drug resistant nematodes is gaining immense interest among researchers. Plants-based anthelmintics are considered a sustainable and unique strategy for controlling gastrointestinal nematodes in ruminants. In this study, *M. oleifera* extract showed significant ($P=0.002$) effect against *Trichuris* sp. and *Ostertagia* sp. with reduced numbers of eggs/gram of faeces. This attribute was further supported by few investigations reporting anthelmintic activities of leaves and seeds extracts of *M. oleifera* against different nematodes of ruminants [29,30]. In addition, previous studies depicted potent anthelmintic activity of *M. oleifera* extract against

Haemonchus contortus eggs [3,31]. To the best of our knowledge, the role of *M. oleifera* extract as anthelmintic agent against other nematodes is scanty, probably lacks data suggesting nematocidal activity of *M. oleifera* extract against *Trichuris* sp. and *Ostertagia* sp.

Livestock productivity depends on the economic aspects of any country. The production can be enhanced by providing balanced and cost-effective feed to the animals. Over the past few years, *M. oleifera* has been used as potent feed additive for improving diversified factors of ruminants and non-ruminants. In this study, we had undertaken significant attempt to improve growth performances of goats using *M. oleifera* as dietary feed additive. Goats fed with *M. oleifera* extract showed higher growth performances as compared to the control. This might be mainly due to the presence of high protein content. In the line of our findings, previous studies demonstrated improved performances of goats fed with fodders constituting *M. oleifera* leaves [10,32,33].

In the present investigation, goats fed with *M. oleifera* extract at varied doses showed significant ($P<0.05$) increment in the body weight. Similar observations were reported by Sultana et al. [5] and Damor et al. [2] who demonstrated significant enhancement in the body weight of goats due to the supplementation of *M. oleifera* leaves. This characteristic might be because of the high palatability and significant amount of proteins contents of the feeding diet. In contrary, low fibre content in the control diet might have caused decreased growth rate, and thus, reduced body weight of goats as compared to the treated ones. In this context, goats fed with *M. oleifera* extract exhibited significant ($P<0.05$) influence on daily weight gain too. Our

findings agreed with the reports of Babeker and Bdalbagi [34] and Sultana et al. [35] who depicted significant increment in the daily weight gain by adding *M. oleifera* leaves in the diet of goats. The variation in the daily weight gain of our study from prior reports might be due to the difference in the intake of dry matter, composition of diet, and physiological nature of the animal used [35].

In the present study, the supplementation of *M. oleifera* leaves in the feeding diet increased dry matter intake and feed conversion efficiency. Similar findings were reported by Asaolu et al. [36], Sultana et al. [35], and Kholif et al. [37] too who demonstrated significant ($P < 0.05$) enhancement in dry matter intake and feed conversion ratio in *Moringa* foliage treated groups. In contrary, Fadiyimu et al. [38] determined decrement in dry matter intake with increase in the concentrations of *Moringa* foliage.

GC-MS analysis revealed the predominance of Heneicosane (35.69%), 1,2-benzenedicarboxylic acid (22.89%), Heptacosane (18.26%), Pentatriacontane (4.77%), and Hexadecanoic acid, ethylester (3%) in *M. oleifera* leaves extract. These bioactive compounds might be responsible towards the anthelmintic activity and improvement of growth performances of goats. In a different study, Khusro et al. [39] demonstrated prominent role of varied compounds of *M. oleifera* as anti-methanogenic agents in non-ruminants.

5 CONCLUSIONS

The GC-MS analysis of *M. oleifera* leaves extracts showed the presence of distinct bioactive components, including Heneicosane (35.69%), 1,2-benzenedicarboxylic

acid (22.89%), Heptacosane (18.26%), Pentatriacontane (4.77%), and Hexadecanoic acid, ethylester (3%) predominant in quantity. *M. oleifera* leaves extract (60 mL of extract animal⁻¹) revealed potential *in vitro* anthelmintic activities against *Trichuris* sp. and *Ostertagia* sp. with reduced numbers of eggs. Furthermore, the supplementation of *M. oleifera* leaves extract at different concentrations (30 and 60 mL of extract animal⁻¹) into the feeding diet of goats enhanced body weight, daily weight gain, dry matter intake, and feed conversion efficiency. Findings hypothesized that these phytochemicals (bioactive components) might be the causative agents towards the anthelmintic trait and enhancement of growth performances of goats. Further *in vivo* studies and toxicological assays of *M. oleifera* leaves extract are essential for combating the gastrointestinal nematodes in future.

Conflict of interest

There are no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Moyo B, Masika PJ, Muchenje V. Effects of supplementing cross-bred Xhosa lop eared goats with *Moringa oleifera* Lam. on helminth load and corresponding body condition score, packed cell volume. *Afr. J. Agric. Res.* 2013; 8(43): 5327-5335.
2. Damor SV, Pawar MM, Ankuya KJ, Gami YM, Srivastava AK, Chauhan HD, et al. Effect of feeding different levels of Moringa (*Moringa oleifera*) leaves on growth performance of Mehsana goat kids. *Trends Biosci.* 2017; 10:3190-3193.

3. Tayo GM, Poné JW, Komtangi MC, Yondo J, Ngangout AM, Mbida M. Anthelmintic activity of *Moringa oleifera* leaf extracts evaluated *in vitro* on four developmental stages of *Haemonchus contortus* from goats. *Am. J. Plant Sci.* 2014; 5: 1702-1710.
4. Hafiz AB, Zafar I, Muhammad NK, Zia-ud-Din S, Abdul J. Anthelmintic activity of *Ziziphus nummularia* (Back) and *Acacia nilotica* (fruit) against Trichostrongylid Nematodes of sheep. *J. Ethnopharmacol.* 2009; 123: 325-329.
5. Sultana N, Alimon AR, Haque KS, Sazili AQ, Yaakub H, Hossain SM. The effect of cutting interval on yield and nutrient composition of different plant fraction of *Moringa oleifera* tree. *J. Food Agric. Environ.* 2014; 12(2): 599-604.
6. Gebregiorgis F, Negesse T, Nurfeta A. Feed intake and utilization in sheep fed graded levels of dried moringa (*Moringa stenopetala*) leaf as a supplement to Rhodes grass hay. *Trop. Anim. Health Prod.* 2012; 44(3): 511-517.
7. Tona GO, Ogunbosoye DO, Bakare BA. The growth performance and nutrient digestibility of West African Dwarf goats fed graded levels of concentrate diet containing *Moringa oleifera* leaf meal. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 2014; 3(8): 99-106.
8. Shalaby HA. Anthelmintics resistance; how to overcome it? *Iran. J. Parasitol.* 2013; 8(1): 18–32.
9. Voemesse K, Tete A, Nideou D, N'nanlé O, Gbeassor M, Decuyper E, Tona K. Effect of *Moringa oleifera* leaf meal on growth performance and blood

- parameters of egg type chicken during juvenile growth. *Int. J. Poult. Sci.* 2018; 17: 154-159.
10. Moyo B, Masika PJ, Muchenje V. Potential use of *Moringa oleifera* leaf in animal feeding: a Review. *Int. J. Current Agric. Res.* 2016; 4: 187-194.
 11. Mahfuz S, Piao XS. Application of *Moringa (Moringa oleifera)* as natural feed supplement in poultry diets. *Animals* 2019; 9: 431; doi:10.3390/ani9070431.
 12. Onunkwo DN, George OS. Effects of *Moringa oleifera* leaf meal on the growth performance and carcass characteristics of broiler birds. *J. Agric. Vet. Sci.* 2015; 8: 63–66.
 13. Leone A, Spada A, Battezzati A, Schiraldi A, Aristil J, Bertoli S. Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: An overview. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16: 12791–12835.
 14. Ogbunugafor HA, Eneh FU, Ozumba AN, Igwo-ezikpe MN, Okpuzor J, Igwilo IO, et al. Physico-chemical and anti-oxidant properties of *Moringa oleifera* seed oil. *Pak. J. Nutr.* 2011; 10: 409–414.
 15. Torondel B, Opare D, Brandberg B, Cobb E, Cairncross S. Efficacy of *Moringa oleifera* leaf powder as a hand- washing product: A crossover controlled study among healthy volunteers. *BMC Compl. Altern. Med.* 2014; 14: 57.
 16. Wapi C, Nkukwana TT, Hoffman LC, Dzama K, Pieterse E, Mabusela T, et al. Physico-chemical shelf-life indicators of meat from broilers given *Moringa oleifera* leaf meal. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 2013; 43:43–47.
 17. Afuang W, Siddhuraju P, Becker K. Comparative nutritional evaluation of raw, methanol extracted residues and methanol extracts of *Moringa (Moringa*

- oleifera* Lam) leaves on growth performance and feed utilization in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L). *Aquaculture Res* 2003; 34:1147–1159.
18. Mendieta-Araica B, Spordly R, Sanchez NR, Spordly E. Moringa (*Moringa oleifera*) leaf meal as a source of protein in locally produced concentrates for dairy cows fed low protein diets in tropical areas. *Livest. Sci.* 2011; 137:10–17.
19. Pedraza-Hernández J, Elghandour MMY, Khusro A, Camacho-Diaz LM, Vallejo LH, Barbabosa-Pliego A, et al. Mitigation of ruminal biogases production from goats using *Moringa oleifera* extract and live yeast culture for a cleaner agriculture environment. *J. Clean. Prod.* 2019; 234: 779-786.
20. Qwele K, Hugo A, Oyedemi SO, Moyo B, Masika PJ, Muchenje V. Chemical composition, fatty acid content and antioxidant potential of meat from goats supplemented with Moringa (*Moringa oleifera*) leaves, sun flower cake and grass hay. *Meat Sci.* 2013; 93: 455–462.
21. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official methods of analysis. 16th ed. Arlington, VA: AOAC; 1997.
22. Salem MZM, Zeidler A, Böhm M, Mohamed, MEA, Ali HM. GC/MS analysis of oil extractives from wood and bark extractives from *Pinus sylvestris*, *Abies alba*, *Peciaabies*, and *Larix decidua*. *BioResource* 2015; 10(4): 7725–7737.
23. Hernandez PM, Salem AZM, Elghandour MMY, Cipriano-Salazar M, Cruz-Lagunas B, Camacho LM, 2014. Anthelmintic effects of *Salix babylonica* L. and *Leucaena leucocephala* Lam. extracts in growing lambs. *Trop. Anim. Health Prod.* 2014; 46(1): 173–178.

24. MAFF. Parasitological laboratory techniques, Tech. Bull., No. 18. Ministry of agriculture fisheries and food manual of veterinary. Her Majesty's Stationary Office, London. 1979.
25. Ojeda-Robertos NF, Torres-Acosta JFJ, Ayala-Burgos A, Aguilar Caballero AJ, Cob-Galera LA, et al. A technique for the quantification of *Duddingtonia flagrans* chlamydospores in sheep faeces. *Vet. Parasitol.* 2008; 152: 339–343.
26. van Wyk JA, Mayhew E. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: A practical lab guide, *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2013; 80: 539
27. EL-Hefny M, Mohamed AA, Salem MZM, Abd El-Kareem MSM, Ali HM. Chemical composition, antioxidant capacity and antibacterial activity against some potato bacterial pathogens of fruit extracts from *Phytolacca dioica* and *Ziziphus spinachristi* grown in Egypt. *Scientia Horticulturae* 2018; 233:225–232.
28. Adams RP. Geographic variation in the leaf essential oils of *Hesperocyparis (cupressus) abramsiana*, *H. goveniana* and *H. macrocarpa*: systematic implications. *Phytologia* 2009; 91(1): 226–243.
29. Asaolu V, Odeyinka S, Akinbamijo O. Evaluation of anthelmintic attributes of moringa and bamboo leaves in gastrointestinal nematode-infested west african dwarf goats. *J. Nat. Sci. Res.* 2012;2(9):45–53.
30. Salles HO, Braga ACL, do Nascimento MTDS, Sousa AMP, Lima AR, Vieira LDS, et al. Lectin, hemolysin and protease inhibitors in seed fractions with

- ovicidal activity against *Haemonchus contortus*. *Braz. J. Vet. Parasitol.* 2014; 23(2): 136–143.
31. Cabardo Jr JE, Portugaliza HP. Anthelmintic activity of *Moringa oleifera* seed aqueous and ethanolic extracts against *Haemonchus contortus* eggs and third stage larvae. *Int. J. Vet. Sci. Med.* 2017;5:30–34.
32. Dougnon TJ, Aboh BA, Kpodékon TM, Honvou S, Youssao I. Effects of substitution of a pellet of *Moringa oleifera* to commercial feed on rabbit's digestion, growth performance and carcass trait. *J. App. Pharm. Sci.* 2012; 2:15-19.
33. Mataveia GA, Garrine CMLP, Pondja A, Hassen A, Visser C. Impact of supplementation of *Moringa oleifera* and *Leucaena leucacephala* tree fodder on the production performance of indigenous goats in Mozambique. *Black Sea J. Agric.* 2019; 2(2): 93-102.
34. Babeker EA, Bdalbagi YM. Effect of feeding different levels of *Moringa oleifera* leaves on performance, haematological, biochemical and some physiological parameters of Sudan Nubian goats. *J. Anim. Feed Res.* 2015;5(2):50-61.
35. Sultana N, Alimon AR, Huque KS, Baba M, Hossain J. Evaluation of *Moringa* foliage (*Moringa oleifera*) as goat feed. *Iran. J. Appl. Anim. Sci.* (2015); 5(4): 865-871.
36. Asaolu VO, Odeyinka SM, Akinbamijo OO, Sodeinde FG. Feed intake, nutrient digestibility and nitrogen utilization of graded levels of *Moringa* and

- Bamboo leaves by West African Dwarf Goats. *Bull. Anim. Health Prod. Afr.* 2009; 57:361-368.
37. Kholif AE, Morsy TA, Gouda GA, Anele UY, Galyean ML. Effect of feeding diets with processed *Moringa oleifera* meal as protein source in lactating Anglo-Nubian goats. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2016; 217: 45-55.
38. Fadiyimu AA, Alokun JA, Fajemisin AN. Digestibility, nitrogen balance and haematological profile of West African dwarf sheep fed dietary levels of *Moringa oleifera* as supplement to *Panicum maximum*. *Journal of American Science.* 2010; 6:634-643.
39. Khusro A, Aarti C, Salem AZM, Barbabosa-Pliego A, Rivas-Caceres RR. Methyl-coenzyme M reductase (MCR) receptor as potential drug target for inhibiting methanogenesis in horses using *Moringa oleifera* L.: An *in silico* docking study. *J. Equine Vet. Sci.* 2020; 88: 102949, doi.org/10.1016/j.jevs.2020.102949

VIII. DISCUSIÓN GENERAL

La cría sostenible de rumiantes requiere una menor influencia sobre la vegetación natural, un mejor bienestar animal y la regulación de la abundancia de gases de fermentación ruminal (CH_4 y CO_2) emitidos al medio ambiente. La digestión anaeróbica es una herramienta eficiente para proporcionar un medio ambiente más limpio al reducir las emisiones de gases de efecto invernadero (Huopana et al., 2013). En un estudio diferente, Morales et al. (2017) estudiaron el papel competente del tratamiento de digestión anaeróbica en la reducción de la liberación de gases efecto invernadero de los desechos orgánicos. De hecho, se informó que la emisión de CH_4 y CO_2 durante la fermentación en rumiantes causa una pérdida de energía dietética del 2 al 12% (Johnson y Johnson, 1995). Por lo tanto, la mejora del rendimiento animal mitigando la emisión de gases perjudiciales a la atmósfera es un llamado urgente de esta hora.

Según Liua et al. (2018), es imperativo comprender la influencia de diversos métodos en diversas industrias en el sistema socioeconómico para identificar los enfoques de mitigación de gases de efecto invernadero más efectivos. Actualmente, se considera que la ganadería es el principal factor responsable de una contribución significativa en la emisión de gases de efecto invernadero. Un sistema de manejo adecuado en las industrias ganaderas puede ayudar a reducir la producción de gases perjudiciales (Vasconcelos et al., 2018). En los últimos años, la mitigación significativa de la producción de gases de efecto invernadero de los animales se obtiene modificando la alimentación de los rumiantes mediante suplementos diversificados. En general, un aditivo no solo debe ser económico y fácilmente disponible, sino que también debe tener la posibilidad de modificar el mecanismo de fermentación del rumen sin dejar ningún residuo en los productos animales. Teniendo en cuenta la preocupación pública emergente de los antibióticos convencionales y la causa principal del desarrollo de microorganismos resistentes a múltiples fármacos, recientemente, se han complementado varios aditivos naturales en las dietas de los animales como fuente eficaz para manipular el

ecosistema microbiano ruminal. Entre los distintos suplementos alimenticios naturales, los extractos fitogénicos y las células de levadura se han considerado como alternativas necesarias a los agentes auspiciosos convencionales que podrían complementarse para modular el proceso fermentativo del rumen (Elghandour et al., 2017).

En este contexto, dosis más altas de extracto de *M. oleífera* y *S. cerevisiae* causaron un incremento no significativo ($P > 0.05$) en la producción de gas asintótica in vitro. En general, una producción de gas más alto indica la fermentación ruminal de los alimentos en mayor medida, lo que provoca una mayor disponibilidad de nutrientes para el ganado (Salem et al., 2014b). En este sentido, el extracto de *M. oleífera* y *S. cerevisiae* proporcionaron con éxito suficientes nutrientes a la microbiota ruminal, lo que resultó en una buena degradabilidad y fermentación del alimento. El crecimiento microbiano y la accesibilidad al alimento sugieren la tasa de fermentación de los componentes (Medjekal et al., 2017). En apoyo de nuestros hallazgos, el informe anterior describió que los fitocomponentes en dosis diversificadas mejoraron el rasgo fermentativo ruminal y la producción de gas (Cedillo et al., 2014; Rong-zhen et al., 2016). El aumento de la producción de gas debido a la inclusión de extracto de *M. oleífera* sugiere que los fitocomponentes podrían haber contenido sacáridos fermentables y digeribles. En este estudio, se estimó que la tasa fraccional de la producción de gas era significativa debido a la suplementación con extracto de *M. oleífera*. El tiempo de retardo aumentó linealmente pero solo el extracto de *M. oleífera* lo afectó cuadráticamente. La mejora de la producción de gas probablemente indujo una mayor disponibilidad de nutrientes para los animales. La suplementación de extracto de *M. oleífera* retrasó las estrategias de adaptación de los microbios a los alimentos, lo que representa un período de retraso extendido y producción de gas. Asimismo, la fase de retardo reducida indica su fácil contribución para proporcionar una cantidad significativa de nutrientes (Ferraro et al., 2016). Cabe señalar que la variación observada en las respuestas de las plantas a los factores de producción de gas, podría deberse a la concentración y naturaleza de los componentes bioactivos, la actividad hacia la microbiota ruminal y otros parámetros fundamentales que pueden influir en la estabilidad de los

fitocomponentes. Además de esto, las características del genoma de las especies de plantas también pueden ser un factor plausible hacia la alteración en la producción de gas *in vitro* entre alimentos claramente fermentados (Elghandour et al., 2017).

De manera similar, la incorporación de *S. cerevisiae* a la dieta mostró un mayor impacto en la producción de gas de las ovejas. La inclusión de levadura induce la actividad celulítica de los microbios presentes en el intestino grueso, lo que resulta en una mayor digestión de la fibra (Glade, 1991; Jouany et al., 2009). En la línea de nuestros hallazgos, Lattimer et al. (2005) sugirieron que la incorporación de levaduras en los alimentos alimenticios potenció la energía de la microbiota, como resultado de ello, mejoró la producción de gas *in vitro*. En este estudio, el corto tiempo de demora de fermentación debido a la adición de *S. cerevisiae* se debe a que la levadura contiene varias macromoléculas que son esenciales para inducir microbios celulolíticos para iniciar el crecimiento y mejorar su actividad (Callaway y Martin, 1997).

Durante el mecanismo de fermentación ruminal se emiten muchos gases, en particular CO₂ y CH₄. En este contexto, la emisión asintótica de CH₄, la tasa de emisión de CH₄ y el período de retraso disminuyeron de manera no significativa ($P > 0.05$) con la inclusión de dosis variadas de extracto de *M. oleífera*, *S. cerevisiae* y extracto de *M. oleífera* × *S. cerevisiae*, que de hecho es crucial desde el punto de vista ambiental debido a su efecto directo de calentamiento global. Además, la suplementación con extracto de *M. oleífera* y *S. cerevisiae* mostró un impacto no significativo ($P > 0.05$) en la tasa asintótica y fraccional de emisión de CO₂, mientras que *S. cerevisiae* disminuyó significativamente el tiempo de retraso. La interacción de extracto de *M. oleífera* × *S. cerevisiae* mostró un efecto no significativo ($P > 0.05$) sobre la tasa asintótica y fraccional de emisión de CO₂ y el tiempo de retraso. Esto podría deberse principalmente al incremento en el contenido de fibra y la disminución de carbohidratos no estructurales en los alimentos que constituyen el extracto de *M. oleífera*. De hecho, un aumento en la composición de la pared celular puede mitigar las actividades de los microbios, lo que resulta en una reducción de

la emisión de CO₂ y un menor período de retraso de la emisión de CO₂. Asimismo, la alteración en la producción de gases perjudiciales debido a la inclusión de *S. cerevisiae* se debe principalmente a las interacciones dosis-dependientes entre la levadura y la dieta alimentaria (Patra, 2012).

En la presente investigación, se encontró que los valores de pH de fermentación y degradabilidad de la materia seca no se vieron afectados significativamente ($P > 0.05$) debido a la suplementación del extracto de *M. oleífera*. Sin embargo, la adición de *S. cerevisiae* afectó significativamente la degradabilidad de la materia seca. De igual manera, la interacción del extracto de *M. oleífera* × *S. cerevisiae* reveló una influencia significativa en la degradabilidad de la materia seca. Los hallazgos del presente estudio apoyan parcialmente los resultados de Elghandour et al., (2017) quienes revelaron que la incorporación de hojas de las plantas provocó reducción e incremento en los valores de pH ruminal y degradabilidad de materia seca *in vitro*, respectivamente. Por otro lado, el impacto de las levaduras en el pH depende del alimento fermentativo. Estudios anteriores demostraron un aumento del pH cecal en caballos alimentados con células de levadura con respecto a la dieta de control (Hall y Miller-Auwerda, 2015).

La inclusión de *S. cerevisiae* con respecto al extracto de *M. oleífera* representó la tasa mejorada de producción de gas de una manera dependiente del tiempo. Se estimó que la producción proporcional de CH₄ disminuyó ($P > 0.05$) a dosis altas de extracto de *M. oleífera* y *S. cerevisiae* a las 72 h de incubación. Asimismo, la interacción extracto de *M. oleífera* × *S. cerevisiae* mitigó significativamente la producción proporcional de CO₂ ($P < 0.05$) a las 8, 24, 48 y 72 h del período de incubación. Nuestro hallazgo favorece el informe anterior de Polyorach et al. (2014) quienes revelaron un aumento de producción de gas y una disminución de la emisión de CH₄ debido a la suplementación de la ración dependiente de la dosis. Esto podría deberse a una proporción mejorada de proteína de ración, que altera la concentración de ácidos grasos de cadena corta, liberando así un nivel más bajo de ácido acético y una mayor cantidad de ácido propiónico y, por lo tanto, disminuyendo significativamente los recuentos microbianos (Iqbal et al., 2008).

Por otro lado, Elghandour et al. (2014) estimaron una mejora en la emisión de CH₄ debido a la suplementación de dosis más bajas de levadura en la dieta alimentaria. Sin embargo, una dosis más alta de levadura mitigó aún más la emisión de CH₄. En este mismo estudio, los autores indicaron que las levaduras podrían inducir a los acetógenos para competir o co-metabolizar el H₂ con los metanógenos, provocando una reducción en la producción de Gases de Efecto Invernadero Polyorach et al. (2014) también demostraron que la emisión de CH₄ se mitigaba cuando la alimentación animal se complementaba con proteína de yuca fermentada con levadura en lugar de harina de soja. Al contrario de esto, Martin y Nisbet (1992) demostraron una mejor emisión de CH₄ después de la suplementación dietética. Las variaciones observadas en nuestros hallazgos y en informes anteriores podrían deberse al tipo distinto de cepas y la naturaleza de las raciones utilizadas (Patra, 2012).

La búsqueda de potenciales agentes antihelmínticos de recursos naturales contra los medicamentos resistentes nematodos está ganando un gran interés entre los investigadores. Los antihelmínticos a base de plantas son considerada una estrategia única y sostenible para el control de nematodos gastrointestinales en rumiantes. En este estudio, el extracto de *M. oleífera* mostró un efecto significativo (P=0.002) contra *Trichuris* sp. y *Ostertagia* sp. con un número reducido de huevos/gramo de heces. Este atributo fue apoyado además por pocas investigaciones que informaron actividades antihelmínticas de hojas y extractos de semillas de *M. oleífera* contra diferentes nematodos de rumiantes (Asaolu, 2012; Salles, 2014).

Adicionalmente, estudios anteriores mostraron una potente actividad antihelmíntica del extracto de *M. oleífera* contra huevos de *Haemonchus contortus* (Tayo, 2014; Cabardo, 2017). Hasta donde sabemos, el papel del extracto de *M. oleífera* como agente antihelmíntico contra otros nematodos es escaso, probablemente carece de datos que sugieran la actividad nematocida del extracto de *M. oleífera* contra *Trichuris* sp. y *Ostertagia* sp.

La productividad del ganado depende de los aspectos económicos de cualquier país. La producción se puede mejorar proporcionando alimento balanceado y rentable a los animales. En los últimos años, *M. oleífera* se ha utilizado como un potente aditivo alimentario para mejorar los factores diversificados de rumiantes y no rumiantes. En este estudio, habíamos realizado un intento significativo para mejorar el rendimiento de crecimiento de las cabras utilizando *M. oleífera* como aditivo alimentario. Las cabras alimentadas con extracto de *M. oleífera* mostraron mayores rendimientos de crecimiento en comparación con el control. Esto puede deberse principalmente a la presencia de un alto contenido de proteínas. En la línea de nuestros hallazgos, estudios previos demostraron un mejor desempeño de las cabras alimentadas con forrajes que constituyen hojas de *M. oleífera* (Moyo, 2016; Dougnon, 2012; Mataveia, 2019)

En la presente investigación, las cabras alimentadas con extracto de *M. oleífera* en dosis variadas mostraron un incremento significativo ($P < 0.05$) en el peso corporal. Observaciones similares fueron reportadas por (Sultana et al 2014; Damor et al. 2017) quienes demostraron un aumento significativo en el peso corporal de las cabras debido a la suplementación de hojas de *M. oleífera*. Esta característica podría ser debido a la alta palatabilidad y la cantidad significativa de proteínas del contenido de la alimentación dieta. Por el contrario, el bajo contenido de fibra en la dieta de control podría haber provocado una disminución de la tasa de crecimiento y, por tanto, una reducción del peso corporal de las cabras en comparación con las tratadas. En este contexto, las cabras alimentadas con extracto de *M. oleífera* también mostraron una influencia significativa ($P < 0.05$) en el aumento de peso diario. Nuestros resultados coincidieron con los informes de (Babeker y Bdalbagi 2015 y Sultana et al. 2015) quienes describieron un incremento significativo en el aumento de peso diario al agregar hojas de *M. oleífera* en la dieta de las cabras. La variación en la ganancia de peso diaria de nuestro estudio a partir de informes anteriores podría deberse a la diferencia en la ingesta de materia seca, la composición de la dieta y la naturaleza fisiológica del animal utilizado (Sultana et al. 2015).

En el presente estudio, la suplementación de hojas de *M. oleífera* en la dieta alimentaria aumentó consumo de materia seca y eficiencia de conversión alimenticia. (Asaolu et al. 2009, Sultana et.al 2015 y Kholif et al. 2016) también quienes demostraron una mejora significativa ($P < 0.05$) en el consumo de materia seca y la tasa de conversión alimenticia en el follaje de Moringa tratado grupos. Por el contrario, (Fadiyimu et al. 2010) determinó la disminución en el consumo de materia seca con el aumento en las concentraciones de follaje de Moringa.

El análisis de GC-MS reveló el predominio de Heneicosano (35,69%), ácido 1,2 bencenodicarboxílico (22,89%), Heptacosano (18,26%), Pentatriacontano (4,77%) y Ácido hexadecanoico, éster etílico (3%) en extracto de hojas de *M. oleífera*. Estos compuestos bioactivos podrían ser responsables de la actividad antihelmíntica y la mejora del rendimiento de crecimiento de las cabras. En un estudio diferente, (Khusro et al. 2020) demostró un papel destacado de compuestos variados de *M. oleífera* como agentes antimetanógenos en no rumiantes.

IX. CONCLUSIONES

La suplementación de extracto de *M. oleífera* (1.8 mL/g materia seca) y *S. cerevisiae* (4 mg/g materia seca) mostró una mejora en producción de gas y mitigación en la emisión de gases de efecto invernadero in vitro (CH₄ y producción proporcional de CO₂) de los caprinos con respecto al control dieta. De hecho, complementar la alimentación con extracto de *M. oleífera* y *S. cerevisiae* podría ser un recurso valioso de cuidado al medio ambiente y sin lugar a dudas, puede utilizarse como valioso producto limpiador o alimento para ecosistemas y ganado evitando los gases ruminales (CH₄ y CO₂) producidos anaeróbicamente en mayor medida. Otros estudios in vivo son esenciales para comprender el mecanismo de acción del extracto de *M. oleífera* y *S. cerevisiae* a concentraciones variadas sobre la cinética de fermentación y la digestibilidad de nutrientes en los caprinos.

El análisis GC-MS de extractos de hojas de *M. oleífera* mostró la presencia de distintos componentes bioactivos, incluidos Heneicosano (35,69%), ácido 1,2-benzenodicarboxílico (22,89%), Heptacosano (18,26%), Pentatriacontano (4,77%) y Ácido hexadecanoico, éster etílico (3%) predominante en cantidad. El extracto de hojas de *M. oleífera* (60 mL de extracto/animal) reveló actividades antihelmínticas *In vitro* potenciales contra *Trichuris* sp. y *Ostertagia* sp. con reducido número de huevos. Además, la suplementación de extracto de hojas de *M. oleífera* en diferentes concentraciones (30 y 60 mL de extracto/animal) en la dieta de las cabras mejoró peso corporal, aumento de peso diario, consumo de materia seca y eficiencia de conversión alimenticia. Los hallazgos plantearon la hipótesis de que estos fitocompuestos (componentes bioactivos) podrían ser los causantes agentes hacia el rasgo antihelmíntico y mejora del rendimiento de crecimiento de las cabras. Más estudios *In vivo* y ensayos toxicológicos del extracto de hojas de *M. oleífera* son esenciales para combatir los nematodos gastrointestinales en un futuro.

X. REFERENCIAS

- Abdulkarim S., Long K., Lai O., Muhammad S., Ghazali H. (2005). Some physico-chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil extracted using solvent and aqueous enzymatic methods. *Food Chemistry* 93, 253–263.
- Afuang W., Siddhuraju P., Becker K. (2003). Comparative nutritional evaluation of raw, methanol extracted residues and methanol extracts of Moringa (*Moringa oleifera* Lam) leaves on growth performance and feed utilization in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L). *Aquaculture Res* 34:1147–1159.
- Agrodesierto, 1998-1999. Programas Agroforestales (*Moringa oleifera*). Disponible en: www.agrodesierto.com
- Alfaro Norma; Martínez, Walter W. (2008). Uso Potencial de la Moringa (*Moringa oleifera* Lam) para la Producción de Alimentos Nutricionalmente Mejorados Cartilla: Caracterización agronómica y nutricional de la *Moringa oleifera* Lam (en el contexto guatemalteco). –INCAP– Guatemala: INCAP.
- Almanza, Adonis & Rocha, Josué & Rocha, Lester & Reyes-Sánchez, Nadir & Mendieta-Araica, Bryan. (2014). Ruminal degradability of *Moringa oleifera* foliage at three different regrowth ages. La Calera. 13. 10.5377/calera.v13i21.1637.
- Anwar F., Latif S., Ashraf M., Gilani A.H., (2007). *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Res.* 21,17-25
- AOAC (1995). Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Azzaz H.H., Eman S.A., Morsy T.A., Aziz H. A., Fatma I.H., Abd-Alla M.S. (2016). *Moringa oleifera* and *Echinacea purpurea* as supplements for Rhamani lactating ewe's diets and their effect on rumen characteristics,

- nutrients digestibility, blood parameters, milk production, composition and its fatty acid profile. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 11: 684-692.
- Barnes A.R., Amega W.K. (1984). Utilization of cocoa pod husk meal by growing-finishing pigs. Proceedings of 9th International cocoa Research Conference, Lome, Togo. pp 449- 454.
- Ben Salem H., Makkar H, P, S. (2009). Defatted *Moringa oleifera* seed meal as a feed additive for sheep. *Anim. Feed Sci. Tech.* 150, 27-33. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2008.07.007.
- Bennett R.N., Mellon F.A., Foidl N., Pratt J.H., Dupont M.S., Perkins, L., Kroon P.A. (2003). Profiling glucosinolates and phenolics in vegetative and reproductive tissues of the multi-purpose trees *Moringa oleifera* (horseradish tree) and *Moringa stenopetala* Lam. *J. Agric. Food Chem.* 51(12), 3546-3553.
- Bodas R., Prieto N., García-González R., Andrés S., Giráldez FJ y López S. (2012). Manipulación de la fermentación ruminal y producción de metano con metabolitos secundarios vegetales. *Ciencia y tecnología de la alimentación Animal* 176 (1-4), 78–93. doi: 10.1016 / j.anifeedsci.2012.07.010.
- Cedillo J., Kholif A.E., Salem A.Z.M., Elghandour M.M.Y., Vazquez J.F., Alonso M.U., Barbabosa A., Chagoyan J.C.V., Reyna A.G. (2015). Oral administration of sauce lloron extract to growing lambs to control gastrointestinal nematodes and *Moniezia* spp. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 8 (7), 520-525.
- Chaucheyras-Durand F., Walker N.D., Bach A. (2008). Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 5–26.
- Cheeke P.R. (1976). Nutritional and physiological properties of saponins. *Nutr. Rep. Int.* 13, 315-324.

- Chumark Pilaipark, Khunawat Panya, Sanvarinda Yupin, Phornchirasilp Srichan, Phumala- MoralesNoppawan, Phivthong-ngam Laddawal, Srisawat Supath, Ratanachamnonng Piyanee, Klai-upsorn S. Pongrapeeporn, (2008). The in vitro and ex vivo antioxidant properties, hypolipidaemic and antiatherosclerotic activities of wáter extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves. *J. Ethnopharmacology* 116, 439–446.
- Coelho, J.S., N.D. Santos, T.H. Napoleao, F.S. Gomes, R.S. Ferreira and R.B. Zingali. (2009). Effect of *Moringa oleifera* lectin on development and mortality of *Aedes aegypti* larvae. *Chemosphere* 77,934-938.
- Cotler, H., A. Fregoso y J.L. Damián. (2006). Caracterización de los sistemas de producción en la cuenca lerma-chapala a escala regional. Instituto Nacional de Ecología. Dirección de Manejo Integral de Cuencas Hídricas. Dirección General de Investigación de Ordenamiento Ecológico y Conservación de Ecosistemas. p 28.
- Damor, Varu & Pawar, Mahesh & Gami, Yogesh & Ankuya, Kanu & Srivastava, Amit Kumar & Chauhan, H & Patel, Vikram. (2017). Effect of replacing concentrate mixture with moringa (*moringa oleifera*) leaves on blood biochemical and mineral profile of mehsana goat kids. *Life Sciences Leaflets*. 89. 28-35.
- Devendra C. (1988). Goat production in small farm systems. *In: workshop on small ruminant research and development*. Noviembre 2-4, Cairo, Egipto.
- Dolly J., Rai Prashant K., Amit K., Shikha M., Watal G, (2009). Effect of *Moringa oleifera* Lam. leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats. *J. Ethnopharmacology* 123, 392–396.
- Elghandour M.M.Y., Kholif A.E., Salem A.Z.M., Olafadehan, O.A., Kholif, A.M., (2016b). Sustainable anaerobic rumen methane and carbon dioxide productions from prickly pear cactus flour by organic acid salts addition. *J. Clean. Prod.* 139, 1362-1369.

- Elghandour M.M.Y., Khusro A., Greiner R., Salem A.Z.M., Lugo de la Fuente J., Marquez-Molina O., Barbabosa-Pilego A., Montes-de-Oca Jiménez R., (2018). Horse fecal methane and carbon dioxide production and fermentation kinetics influenced by *Lactobacillus farciminish* supplemented diet. *J. Equine Vet. Sci.* 62, 98-101.
- Elghandour M.M.Y., Salem A.Z.M., Khusro A., Cipriano-Salazar M., Olivares-Pérez J., Barros-Rodríguez M.A., Coyot R. (2017). Assessment of some browse tree leaves on gas production and sustainable mitigation of CH₄ and CO₂ emissions in dairy calves at different age. *J. Clean. Prod.* 162, 1192-1199.
- Fadiyimu AA, Alokán JA, Fajemisin AN. (2010). Digestibility, nitrogen balance and haematological profile of west african dwarf sheep fed dietary levels of *Moringa oleifera* as supplement to *Panicum maximum*. *J. Am. Sci.* 6:634-643.
- Fahey J.W. (2005). *Moringa oleifera*: A review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1. *Trees for Life Journal* 1: 5
- Faizi S., Siddiqui B.S., Saleem R., Siddiqui, S., Aftab K., Gilani A.H. (1995). Fully acetylated carbamate and hypotensive thiocarbamate glycosides from *Moringa oleifera*. *Phytochemistry*, 38(4), 957-963.
- Fakurazi S., Hairuszah I., Nanthini U. (2008). *Moringa oleifera* Lam prevents acetaminophen induced liver injury through restoration of glutathione level. *Food and Chemical Toxicology*. 46, 2611-2615.
- FAO (2006). *Livestock a Major Threat to the Environment: Remedies Urgently Needed*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

- Fuglie, L.J. (1999). The Miracle Tree: *Moringa oleífera*: Natural nutrition for the tropics. Church world service, dakar.68 pp. The multiple attributes of moringa, 172 pp.
- García De M.E. (1986). Apuntes de climatología, 5ª Edición. Enriqueta García de Miranda, México, D. F. 155 p.
- Garg S., Makkar H., Nagal K. B., Sharma S. K., Wadhwa D. R., Sing B. (1992). Oak (*Quercus incana*) leaf poisoning in cattle. Veterinary and Human Toxicology, 34,161-164.
- Gebregiorgis F, Negesse T, Nurfeta A. (2012). Feed intake and utilization in sheep fed graded levels of dried moringa (*Moringa stenopetala*) leaf as a supplement to Rhodes grass hay. Trop. Anim. Health Prod. 44(3), 511-517.
- Goering, M.K., Van Soest, P.J. (1970). Forage Fibre Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications). Agricultural Research Service, USDA, Washington, DC, USA.
- Guevara A. P., Vargas C., Sakurai H., Fujiwara Y., Hashimoto K., Maoka T., Kozuka, M., Ito Y., Tokuda H., y Nishino H. (1999). An antitumor promoter from *Moringa oleifera* Lam. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis 440(2), 181-188.
- Gupta R., Mathur M., Bajaj V.K., Katariya P., Yadav S., Kamal R., y Gupta R.S. (2012). Evaluation of antidiabetic and antioxidant activity of *Moringa oleifera* in experimental diabetes. J Diabetes 4(2), 164-171.
- Hafiz A.B, Zafar I., Muhammad N.K., Zia-ud-Din S., Abdul J. (2009). Anthelmintic activity of *Ziziphus nummularia* (Back) and *Acacia Nilotic* (fruit) against Trichostrongylid Nematodes of sheep. J. Ethnopharmacol. 123, 325-329.

Hernández A., Kholif A.E., Lugo-Coyote R., Elghandour M.M.Y., Cipriano M., Rodríguez G.B., Odongo N.E., Salem A.Z.M. (2017). The effect of garlic oil, *xylanase enzyme* and yeast on biomethane and carbon dioxide production from 60-d old Holstein dairy calves fed a high concentrate diet. *J. Clean. Prod.* 142, 2384-2392.

Hernández Z., J.S. (2000). La caprinocultura en el marco de la ganadería poblana (México): contribución de la especie caprina y sistemas de producción. *Archivos de Zootecnia* 49,341-352.

Isitua C.C., Lozano M.J.S.M., Jaramillo C.J., Dutan F. (2015). Phytochemical and nutritional properties of dried leaf powder of *Moringa oleífera* Lam. from machacala el oro province of ecuador. *Asian J. Plant. Sci. Res.* [citado 25 nov 2016];5(2):8-16. Disponible en:

https://www.researchgate.net/profile/Chinwe_Isitua2/publication/281556537_Phytochemical_and_nutritional_properties_of_dried_leaf_powder_of_Moringa_oleifera_Lam_from_machacala_el_oro_province_of_ecuador

Integrated Taxonomic Information System. 2013. *Moringa oleifera* (drumstick tree): biological classification and name. *Encyclopedia of Life Newsletter*.

Johnson, K.A., Johnson, D.E. (1995). Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.* 73, 2483-2492.

Jouany J.P. (2001). A new look to the yeast culture as probiotics for ruminants. *Feed Mix.* 9, 17–19.

Jouany J.P., Medina B., Bertin G., Juiliand V. (2009). Effect of live yeast culture supplementation on hindgut microbial communities and their polysaccharides and glycoside hydrolase activities in horses fed high-fiber or high-starch diet. *J. Anim. Sci.* 87, 2844–52.

Karadi Ravindra V., Gadgeb Navneet B., Alagawadi K., Savadi Rudraprabhu V.

- (2006). Effect of *Moringa oleifera* Lam. root-wood on ethyleneglycol induced urolithiasis in rats. *J. Ethnopharmacology* 105, 306–311.
- Kholif A.E., Gouda G.A., Morsy T.A., Salem A.Z.M., Lopez S., Kholif A.M. (2015). *Moringa oleifera* leaf meal as a protein source in lactating goat's diets: feed intake, digestibility, ruminal fermentation, milk yield and composition, and its fatty acids profile. *Small Rumin. Res.* 129, 129-137.
- Kholif A.E., Morsy T.A., Gouda G.A., Anele U.Y., Galyean M.L. (2016). Effect of feeding diets with processed *Moringa oleifera* meal as protein source in lactating Anglo-Nubian goats. *Anim. Feed Sci. Technol.* 217: 45-55.
- Kumar R., Singh M. (1984). Taninos: su papel adverso en la nutrición de los rumiantes. *Revista de química agrícola y alimentaria*, 32 (3), 447–453. doi: 10.1021 / jf00123a006
- Leone A., Spada A., Battezzati A., Schiraldi A., Aristil J., Bertoli S. (2015). Cultivation, genetic, 331 ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of *Moringa oleifera* leaves: 332 An overview. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 12791–12835.
- LITTLE (2001) Elbert. Arboles comunes de Puerto Rico y las Islas Vírgenes [en línea]. 2a. Edición. Puerto Rico: Eds. UPC,
- MAFF (1979). Parasitological laboratory techniques, Tech. Bull., No.18.Ministry of agriculture fisheries and food manual of veterinary. Her Majesty's Stationary Office, London.
- Mahfuz S., Piao X.S. (2019). Application of *Moringa (Moringa oleifera)* as natural feed supplement in poultry diets. *Animals* 9,431; doi: 10.3390/ani9070431.

- Makkar H.P.S., Becker K. (1996). Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 63:211-228.
- Makkar H.P.S., Becker K. (1997). Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. *J. Agric. Sci.* 128, 311-322.
- Makkar H.P.S., Francis G., Becker K. (2007). Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential application in livestock and aquaculture production systems. *Animal* 1,1371.
- Makkar H.P.S., Becker K. (1999). Toxinas de plantas y métodos de desintoxicación para mejorar la calidad de la alimentación de semillas tropicales. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 12 (3), 467-480
- Malthur P. (2005). Plantas Medicinales Iberoamericanas. Editorial Converse. Santa Fe de Bogotá- Colombia. Pp. 26-27.
- Martínez R.D., A. Mastache A.L., Reyna L.S. Valencia J.M. (2005). Comportamiento reproductivo de tres razas caprinas bajo condiciones de trópico seco en Guerrero, México. *Vet. Méx.* 36(2), 147-157.
- Mendieta-Araica B., Spordly R., Sanchez N.R., Spordly E. (2011). *Moringa oleifera* leaf meal as a source of protein in locally produced concentrates for dairy cows fed low protein diets in tropical areas. *Livest. Sci.* 137, 10–17.
- Moyo B., Masika P.J., Hugo A., Muchenje V. (2011). Nutritional characterization of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *African J. Biotechnology* 10, 12925-12933.
- Moyo B., Masika P.J., Muchenje V. (2013). Effects of supplementing cross-bred Xhosa lop eared goats with *Moringa oleifera* Lam. on helminth load and

corresponding body condition score, packed cell volume. *Afr. J. Agric. Res.* 8(43), 5327-5335.

Moyo B., Masika P.J., Muchenje V. (2016). Potential use of *Moringa oleifera* leaf in animal feeding: a review. *Int. J. Current Agric. Res.* 4, 187-194.

Muyibi Suleyman Aremu, Megat Johari Megat Mohd, Noor, Fakhrul-Razi Ahmadun, Ameen Emad S.M. (2002). Bench Scale Studies for Pretreatment of Sanitary Landfill Leachate with *Moringa oleifera* Seeds Extract. *Inter. J. Envirom. Studies* 59, 513-525.

National Research Council (2001). Nutrient requirement of dairy cattle. 7th rev. ed. Washington, DC: National Academy Press.

Nityanand, P. (1997). Textbook of Feed Processing Technology. Vikas Publishing House PVT Ltd., New Delhi, India.

Njakou Djomo, S., Witters, N., Van Dael, M., Gabrielle, B., Ceulemans, R. (2015). Impact of feedstock, land use change, and soil organic carbon on energy and greenhouse gas performance of biomass cogeneration technologies. *Appl. Energy* 154, 122–30

Nkukwana, T., V. Muchenje, P. Masika, L. Hoffman y Dzama, K. (2014). The effect of *Moringa oleifera* leaf meal supplementation on tibia strength, morphology y inorganic content of broiler chickens. *South African J. Anim. Sci.* 44, 228-239.

Ojeda-Robertos, N.F., Torres-Acosta, J.F.J., AguilarCaballero, A.J., Ayala-Burgos, A., CobGalera, L.A., Sandoval-Castro, C.A., Barrientos-Medina, R.C., Mendoza-deGives, P. 2008. Assessing the efficacy of *Duddingtonia flagrans* chlamydospores per gram of faeces to control *Haemonchus contortus* larvae. *Veterinary Parasitology*, 158, 329-335.

- Okai, D.B., Easter, R.A. and Frank, G.R. (1984). The nutritive value of some non-conventional Ghanaian feed ingredients: Nutrient composition and effects on performance of weaning rats. *Wld. Rev. Anim. Prod.* 20, 11-16.
- Onunkwo D.N., George O.S. (2015) Effects of *Moringa oleifera* leaf meal on the growth performance and carcass characteristics of broiler birds. *J. Agric. Vet. Sci.* 8: 63–66.
- Orskov, E.R., McDonald, L. (1979). The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to the rate of passage. *J. Agric. Sci. Camb* 92, 499-503.
- Padilla Santamaría, Fernando; Cruz Balderrabano, Julia. Extractos de hojas de *Moringa oleífera* en la prevención y tratamiento de la diabetes mellitus. Revista cubana de medicina natural y tradicional, [s.l.], v. 1, n. 2, mar. 2018. disponible en:
<<http://revmnt.sld.cu/index.php/rmnt/article/view/39/44>>
- Pinloche, E., McEwan, N., Marden, J.P., Bayourthe, C., Auclair, E., Newbold, C.J., (2013). The effects of a probiotic yeast on the bacterial diversity and population structure in the rumen of cattle. *PLoS ONE* 8(7), e67824.
- Qwele K., Hugo A., Oyedemi S.O., Moyo B., Masika P.J., Muchenje V. (2013). Chemical composition, fatty acid content and antioxidant potential of meat from goats supplemented with Moringa (*Moringa oleifera*) leaves, sun flower cake and grass hay. *Meat Sci.* 93, 455–462.
- Rajhan S.K., (1999). Sistemas de alimentación de lechería. En Falvey L y Chantalakhana C (Editores). ILRI (Instituto Internacional de Investigaciones Ganaderas), Nairobi, Kenia. 462pp.
- Ramírez, L.R.G. (2003). Nutrición de rumiantes. Ed. Trillas México D.F.

- Rashid, U., Anwar F., Moser B.R., Knothe G. (2008). *Moringa oleifera* oil: A possible source of biodiesel. *Bioresource Technology* 99, 8175–8179.
- Rastogi Trapti, Ghorpade Deepali S., Deokate U., Khadabadi S., (2009). Studies on Antimicrobial Activity of *Boswelliaserrata*, *Moringa oleifera* and *Vitex negundo*: A comparison. *Research J. Pharmacognosy and Phytochemistry* 1, 75-77.
- Reyes Sánchez, Nadir; Rodríguez, Rosario; Mendieta Araica, Bryan; Mejía Sovalbarro, Lester y Mora Taylor, Ana P. (2009) Efecto de la suplementación con *Moringa oleifera* sobre el comportamiento productivo de ovinos alimentados con una dieta basal de pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq.). *La Calera*, 9 (13). pp. 60-69. ISSN 1998-7846.
- Reyes, N., E. Spörndly e I. Ledin. (2006). Effect of feeding different levels of foliage of *Moringa oleifera* to creole dairy cows on intake, digestibility, milk production and composition. *Livest. Sci.* 101,24-31.
- Rocha M.E., Mendieta B. (1998). Efecto de la suplementación con follaje de *M. oleifera* sobre la producción de leche de vaca en pastoreo, Tesis Ing. Agrónomo FACA, Nicaragua.
- Roy Sadhan K., Chandra Krishnendu, Ghosh Kaushik, Mondal Subhas, Maiti Debabrata, Ojha Arnab K., Das Debsankar, Mondal Soumitra, Chakraborty Indranil and Islam Syed S., (2007). Structural investigation of a heteropolysaccharide isolated from the pods (fruits) of *Moringa oleifera* (Sajina). *Carbohydrate Res.* 342, 2380– 2389.
- Salem A.Z.M., Kholif A.E., Elghandour M.M.M.Y., Buendía G., Mariezcurrena M.D., Hernandez S.R. y Camacho L.M. (2014). Influence of oral administration of *Salix babylonica* extract on milk production and composition in dairy cows. *Italian J. Anim. Sci.* 13, 1, DOI: [10.4081/ijas.2014.2978](https://doi.org/10.4081/ijas.2014.2978)

- Salem, A.Z., Kholif, A.E., Elghandour, M.M., Hernandez, S.R., Domínguez-Vara, I.A., Mellado, M. (2014a). Effect of increasing levels of seven tree species extracts added to a high concentrate diet on *in vitro* rumen gas output. *Anim. Sci. J.* 85, 853-860.
- Salem, A.Z.M., Olivares, M., Lopez, S., Gonzalez-Ronquillo, M., R. Rojo, Camacho, L.M., Cerrillo, S.M.A. & Mejia, H.P. (2011b) effect of natural extracts of *Salix babylonica* and *Leucaena leucocephala* on nutrient digestibility and growth performance of lambs. *Anim Feed Sci. Technol.* 170, 27- 34.
- Sánchez-Machado D., López-Cervantes J., Ríos-Vázquez N., (2006). High performance liquid chromatography method to measure α - and -tocopherol in leaves, flowers and fresh beans from *Moringa oleifera*. *J. Chromatography A.* 1105, 111–114.
- Sarwatt S.V., Kapange S.S., Kakengi A.M.V. (2002). Substituting sunflower seed-cake with *Moringa oleifera* leaves as supplemental goat feed in Tanzania. *Agrof. Syst.* 56,241-247
- SAS (2002). User's guide statistics, version 9.0. SAS Institute, Cary, NC (New York, USA).
- Shalaby H.A. (2013). Anthelmintics resistance; how to overcome it Iran. *J. Parasitol.* 8(1) ,18–32.
- Shimada, M.A. 2003. *Nutrición Animal*, México, Ed. Trillas, 29, 32,33pp.
- Siddhuraju P., Becker K. (2003). Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *J Agric Food Chem.* Apr 9; 51(8), 2144-55. Doi: 10.1021/jf020444+. PMID: 12670148.

- Sultana N., Alimon A.R., Haque K.S., Sazili A.Q., Yaakub H., Hossain S.M. (2014). The effect of cutting interval on yield and nutrient composition of different plant fraction of *Moringa oleifera* tree. *J. Food Agric. Environ.* 12(2), 599-604.
- Tayo GM, Poné JW, Komtangi MC, Yondo J, Ngangout AM, Mbida M. (2014). Anthelmintic activity of *Moringa oleifera* leaf extracts evaluated *in vitro* on four developmental stages of *Haemonchus contortus* from goats. *Am. J. Plant Sci.* 5, 1702-1710.
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B., France, J. (1994). A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48, 185-197.
- Tona GO, Ogunbosoye DO, Bakare BA. (2014). The growth performance and nutrient digestibility of West African Dwarf goats fed graded levels of concentrate diet containing *Moringa oleifera* leaf meal. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 3(8), 99-106.
- Umer R., Anwar Farooq A., Moser Bryan R., Gerhard K. (2008). *Moringa oleifera* oil: A possible source of biodiesel. *Bioresource Technology* 99, 8175–8179.
- Vallejo, L.H., Salem, A.Z.M., Kholif, A.E., Elhangour, M.M.Y., Fajardo, R.C., Rivero, N., Bastida, A.Z., Mariezcurrena, M.D. (2016). Influence of cellulase or xylanase on the *in vitro* rumen gas production and fermentation of corn stover. *Indian J. Anim. Sci.* 86 (1), 70-74.
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. (1991). Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and non-polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74, 3583–3597.

- Vasconcelos, K., Farinha, M., Bernardo, L., do N Lampert, V., Gianezini, M., da Costa, J.S., Soares Filho, A., Moraes Genro, T.C., Favarini Ruviaro, C. (2018). Livestock-derived greenhouse gas emissions in a diversified grazing system in the endangered Pampa biome, Southern Brazil. *Land Use Policy* 75,442–8
- Voemesse K., Teteh A., Nideou D., N'nanlé O., Gbeassor M., Decuypere E., Tona K. (2018). Effect of *Moringa oleifera* leaf meal on growth performance and blood parameters of egg type chicken during juvenile growth. *Int. J. Poult. Sci.* 17,154-159.
- Von Maydell, H.J. (1986). Tree and shred of the sahel, their characteristics and uses. Deutsche gesellschaft for technische zusemmenarhit (GTZ), Federal Republic of Germany; 334-337p.
- Wapi, C., Nkukwana, T.T., Hoffman, L.C., Dzama, K., Pieterse, E., Mabusela, T. & Muchenje, V., 2013. Physicochemical shelf-life indicators of meat from broilers given *Moringa oleifera* leaf meal. *S. Afri. J. Anim. Sci.* 3, 43-47.
- Waterman, C., Cheng, DM, Rojas-Silva, P., Poulev, A., Dreifus, J., Lila, MA y Raskin, I. (2014). Los isotiocianatos estables extraíbles en agua de las hojas de *Moringa oleifera* atenúan la inflamación in vitro. *Fitoquímica* 103, 114-122. doi: 10.1016 / j.phytochem.2014.03.028.