



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO  
CENTRO UNIVERSITARIO UAEM TEMASCALTEPEC**

**LICENCIATURA DE INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA**

**INCLUSIÓN DE MORINGA OLEIFERA EN UNA DIETA PARA OVINOS,  
SOBRE LA DEGRADABILIDAD RUMINAL DE LOS NUTRIENTES, USANDO EL  
MÉTODO ANKOM DAISY II**

**TESIS**

QUE PRESENTA  
**YARITZA SÁNCHEZ MERCADO**

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE  
**INGENIERA AGRÓNOMO ZOOTECNISTA**

M. EN C. SHEREZADA ESPARZA JIMENEZ  
**DIRECTOR DE TESIS**

DR. DANIEL LÓPEZ AGUIRRE  
**CODIRECTOR DE TESIS**

M. EN D.A.E.S. DELIA COLÍN MORALES  
DR. JOSÉ FERNANDO VÁZQUEZ ARMIJO  
**ASESORES DE TESIS**

TEMASCALTEPEC DE GONZÁLEZ, MÉXICO; NOVIEMBRE DE 2019.

## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar los diferentes niveles de inclusión de *Moringa oleifera* sobre la degradabilidad *in vitro* de los nutrientes de una dieta para ovinos en crecimiento. Los análisis de composición química, fermentación ruminal y degradabilidad de la proteína y fracciones de fibra *in vitro* se realizaron en el laboratorio de Nutrición Animal dentro de la Central Integral de Laboratorios de la Facultad de Ingeniería y Ciencias de la Universidad Autónoma de Tamaulipas y Laboratorio de Nutrición Animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec. Se formularon dietas integrales iso-proteicas e iso-energéticas con contenidos similares de fibra (proteína, 130 g kg<sup>-1</sup> de MS; energía metabolizable, 2.51 Mcal kg<sup>-1</sup> de MS; fibra detergente neutro, 430 g kg<sup>-1</sup> de MS) para cumplir con los requerimientos nutricionales de corderos en crecimiento con una ganancia diaria de peso de 200 g día<sup>-1</sup> según las recomendaciones del NRC. Se incluyeron ingredientes locales disponibles como: grano de sorgo molido, harina de soya, heno de pasto búffel (picado), melaza de caña, premezcla mineral-vitamínica y forraje de *M. oleifera* en niveles crecientes (0, 100, 200 y 300 g kg<sup>-1</sup> de MS). Los datos de la fermentación ruminal *in vitro* de los nutrientes fueron analizados mediante un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos (M0-M30) y cinco repeticiones, utilizando procedimiento general para modelos lineales (GLM) de SAS. Se utilizó la prueba de contraste polinómico para determinar el efecto lineal y cuadrático de los niveles de inclusión de *M. oleifera* sobre todas las variables dependientes. El resultado de la investigación muestra que el nivel de inclusión de harina de *M. oleifera* sobre la degradabilidad de la materia seca y de las fracciones de fibra no presentaron efectos. Únicamente la DFDN tuvo un efecto lineal a las 24 h post incubación.

## SUMMARY

The objective of this work was to evaluate the different levels of inclusion of *Moringa oleifera* on the *in vitro* degradability of nutrients from a diet for growing sheep. Analyses of chemical composition, rumen fermentation and degradability of protein and fiber fractions *in vitro* were performed in the Animal Nutrition laboratory within the Integral Central Laboratory of the Faculty of Engineering and Sciences of the Autonomous University of Tamaulipas and Laboratory of Animal Nutrition of the UAEM Temascaltepec University Center. Iso-protein and iso-energy integral diets with similar fiber contents were formulated (protein, 130 g kg<sup>-1</sup> DM; metabolizable energy, 2.51 Mcal kg<sup>-1</sup> DM; neutral detergent fiber, 430 g kg<sup>-1</sup> DM) to meet the nutritional requirements of growing lambs with a daily weight gain of 200 g day<sup>-1</sup> according to the NRC recommendations. Local ingredients available were included: ground sorghum grain, soy flour, buffalo grass (chopped), cane molasses, vitamin-mineral premix and forage of *M. oleifera* in increasing levels (0, 100, 200 and 300 g kg<sup>-1</sup> of MS). The *in vitro* ruminal fermentation data of the nutrients were analyzed by a completely randomized design with four treatments (M0-M30) and five repetitions, using general procedure for linear models (GLM) of SAS. The polynomial contrast test was used to determine the linear and quadratic effect of *M. oleifera* inclusion levels on all dependent variables. The result of the investigation shows that the level of inclusion of *M. oleifera* flour on the degradability of dry matter and fiber fractions had no effect. Only DFDN had a linear effect at 24 h post incubation.

## CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	<b>II</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>III</b>
<b>CONTENIDO</b> .....	<b>IV</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	<b>VI</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>VII</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II. OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
2.1. OBJETIVO GENERAL.....	3
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	3
<b>III. HIPÓTESIS</b> .....	<b>4</b>
<b>IV. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>5</b>
<b>V. MATERIAL Y MÉTODO</b> .....	<b>6</b>
5.1. LOCALIZACIÓN .....	6
5.2. ESTABLECIMIENTO, MANEJO Y COLECTA DE <i>M. OLEIFERA</i> .....	7
5.3. TRATAMIENTOS EXPERIMENTALES .....	9
5.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA.....	9
5.4.1. CENIZAS (%).....	10
5.4.2. MATERIA ORGÁNICA (%) .....	12
5.4.3. PROTEÍNA CRUDA (%) .....	12
5.4.4. FIBRA DETERGENTE NEUTRO (FDN %).....	15
5.5. ANIMALES DONADORES DE INÓCULO.....	18
5.6. DEGRADABILIDAD DE LA MATERIA SECA Y FRACCIONES DE FIBRA .....	19
5.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	20
<b>VI. RESULTADOS</b> .....	<b>22</b>

<b>VII. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>23</b>
<b>VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>24</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. INGREDIENTES Y COMPOSICIÓN QUÍMICA (G KG-1 DE MS) DE HARINA DE HOJAS DE <i>MORINGA OLEIFERA</i> Y DIETAS EXPERIMENTALES PARA CORDEROS EN CRECIMIENTO USADAS EN EL ENSAYO DE FERMENTACIÓN <i>IN VITRO</i> . .....	10
CUADRO 2. EFECTO DE DIFERENTES NIVELES DE <i>MORINGA OLEIFERA</i> EN DIETAS PARA CORDEROS EN CRECIMIENTO SOBRE LA DEGRADABILIDAD <i>IN VITRO</i> DE LA MATERIA SECA Y LA FIBRA A LAS 24 Y 48 H DE INCUBACIÓN EN LAS BOTELLAS DE FERMENTACIÓN.....	22

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. LABORATORIO DE NUTRICIÓN ANIMAL DENTRO DE LA CENTRAL INTEGRAL DE LABORATORIOS DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TAMAULIPAS.....	6
FIGURA 2. LABORATORIO DE NUTRICIÓN ANIMAL DEL CENTRO UNIVERSITARIO UAEM TEMASCALTEPEC.....	7
FIGURA 3. PARCELA EXPERIMENTAL.....	8
FIGURA 4. PESAJE DE MUESTRAS Y REACTIVOS.....	11
FIGURA 5. MOLIDO DE MUESTRAS.....	12
FIGURA 6. PESAJE DE MUESTRAS PARA DETERMINACIÓN DE CENIZAS.....	13
FIGURA 7. MUFLA PARA DETERMINACIÓN DE CENIZAS.....	14
FIGURA 8. EQUIPO MICROKJELDAHL PARA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA.....	15
FIGURA 9. DESTILACIÓN DE MUESTRAS PARA DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA.....	16
FIGURA 10. SELLADO DE BOLSAS.....	17
FIGURA 11. BOLSAS DENTRO DE VASO DE PRECIPITADO CON CAPACIDAD DE 250 ML.....	18
FIGURA 12. BOLSAS PARA DETERMINACIÓN DE FDN Y FDA.....	19
FIGURA 13. PREPARACIÓN DEL LÍQUIDO RUMINAL PARA EL ANÁLISIS <i>IN VITRO</i> .....	20

## I. INTRODUCCIÓN

La producción de rumiantes en regiones tropicales y subtropicales es limitada por la falta de alimento de buena calidad, especialmente durante los periodos prolongados de sequía [1][2]. Los productores de animales enfrentan una serie de problemas; uno de ellos es la disponibilidad y el alto precio de los concentrados, en particular las fuentes de proteína, que obligan a los nutriólogos a buscar alimentos alternativos con proteínas de menor costo [3]. La mayoría de los árboles y arbustos se propagan fácilmente y no requieren altos insumos de manejo (fertilizantes, pesticidas, etc.) o tecnología avanzada. Muchos árboles forrajeros contienen niveles más altos de proteína, minerales y nutrientes digestibles, además de desempeñar un papel importante en la complementación de proteína en la dieta de los animales [4]. El árbol de Moringa (*Moringa oleífera*) se puede cultivar en regiones húmedas, cálidas, tropicales y subtropicales. Es una planta tolerante a la sequía que puede crecer en todo tipo de suelos y puede tolerar sequías hasta de varios meses [5]. El rendimiento por hectárea varía según la estación, la variedad, la fertilización, el régimen de riego y la zona ecológica [6]. *M. oleífera* produce una gran cantidad de biomasa que varía entre 43 y 115 toneladas por hectárea [7], con aproximadamente 4.2-24 toneladas ha<sup>-1</sup> año<sup>-1</sup> de materia seca [8][9].

*M. oleífera* es un árbol forrajero con un alto contenido de proteína. Kholif *et al.* [3] reportaron la composición química como un alimento proteico que contiene de 241 - 277 g kg<sup>-1</sup> de MS de proteína, con un perfil de aminoácidos adecuado [10]. Sin embargo, al igual que otros árboles forrajeros, *M. oleífera* contiene metabolitos secundarios [3]. Las plantas que tienen compuestos bioactivos como aceites esenciales, saponinas y taninos condensados con propiedades antimicrobianas que pueden tener efectos benéficos en la producción de rumiantes como reducir las emisiones de metano y mejorar la eficiencia de la fermentación [11]. Los experimentos que incluyen forraje fresco de *M. oleífera* en las dietas para cabras [12], ovinos y ganado lechero [5] han reportado una mejor utilización de alimento y en la respuesta productiva.



Hay poca información sobre la cinética de fermentación ruminal de *M. oleifera* como fuente de proteína en la dieta de pequeños rumiantes. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de la respuesta de diferentes niveles de inclusión de *M. oleifera* en dietas para corderos en crecimiento sobre la degradabilidad *in vitro* y la cinética de fermentación ruminal.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general

Evaluar la diferentes niveles de inclusión de *Moringa oleifera* sobre la degradabilidad *in vitro* de los nutrientes de una dieta para ovinos en crecimiento.

### 2.2. Objetivos específicos

1. Evaluar la composición química de hojas de *M. oleifera*.
2. Evaluar diferentes niveles inclusión de *M. oleifera* en una dieta para ovinos sobre la degradabilidad ruminal de los nutrientes (materia seca y fracciones de fibra) a diferentes tiempos de incubación usando el método ANKOM Daisy II.

### III. HIPÓTESIS

La inclusión de diferentes niveles de *Moringa oleifera* en dietas para ovinos en crecimiento mejora la degradabilidad *in vitro* de los nutrientes.

#### **IV. JUSTIFICACIÓN**

La producción de rumiantes en las regiones tropicales y subtropicales es limitada por la falta de alimentos de buena calidad, especialmente durante los periodos prolongados de sequía. La escasés de recursos alimenticios, a menudo impone restricciones importantes en el desarrollo de la producción animal. Los forrajes nativos son la base alimenticia durante la mayor parte del año; y dado que rara vez satisfacen los requerimientos nutricionales (proteína, energía y minerales) de los animales.

Evaluar los diferentes niveles inclusión de *M. oleifera* en una dieta para ovinos sobre la degradabilidad ruminal de los nutrientes (materia seca y fracciones de fibra) a diferentes tiempos de incubación usando el método ANKOM Daisy II, permitirá poder optar por alternativas de alimentación del ganado ovino en diferentes zonas de México.

## V. MATERIAL Y MÉTODO

### 5.1. Localización

Los análisis de composición química, fermentación ruminal y degradabilidad de la proteína y fracciones de fibra *in vitro* se realizaron en el laboratorio de Nutrición Animal dentro de la Central Integral de Laboratorios de la Facultad de Ingeniería y Ciencias de la Universidad Autónoma de Tamaulipas (Figura 1) y Laboratorio de Nutrición Animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec (Figura 2).



**Figura 1.** Laboratorio de Nutrición Animal dentro de la Central Integral de Laboratorios de la Facultad de Ingeniería y Ciencias de la Universidad Autónoma de Tamaulipas.



**Figura 2.** Laboratorio de Nutrición Animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec.

### **5.2. Establecimiento, manejo y colecta de *M. oleífera***

Para establecer la parcela experimental de *M. oleífera* (Figura 3), se delimitó un predio de 1600 m<sup>2</sup> (40 x 40 m) utilizando cinta métrica, hilos, martillos y estacas de madera. Se cortó la maleza con ayuda de un tractor equipado con desvaradora, posteriormente se trabajó la tierra con arado de discos y se dieron dos pases de rastra a una profundidad de 15 cm aplicándose al final una lámina de riego (10 cm) de asiento o presiembra, quedando así formada la cama de siembra.

La siembra se realizó el 04 de septiembre del año 2016 de manera manual para obtener una plantación más homogénea, utilizando la técnica de golpe haciendo orificios en el suelo a una distancia entre surcos de 50 cm y 20 cm entre plantas para tener así una densidad de siembra de 100 000 plantas ha<sup>-1</sup>. Se depositaron dos semillas en cada orificio para asegurar el 100 % de germinación y emergencia de plántulas. Posterior a la emergencia de las plántulas se llevó a cabo un aclareo y se aplicó un riego de auxilio dada la escasez de lluvia en ese momento (20 septiembre del 2016). Se aplicó fertilización nitrogenada a base de urea a razón de 100 kg-ha<sup>-1</sup> después del

corte de uniformidad, así mismo el control de malezas se realizó de manera manual durante el periodo de experimentación.



**Figura 3.** Parcela experimental.

Se realizaron cinco cortes a la *M. oleifera* durante un año de experimentación tomando como parámetro una altura de 60 cm de rebrote en las plantas. El primer corte se realizó a los 90 días post emergencia de las plantas durante la época de otoño, el 04 de diciembre del 2016, a una altura de 25 cm utilizando tijeras para poda. El segundo corte a los 219 días de edad de la pradera, en primavera el 12 de abril del 2017, el tercer corte a los 283 días de edad de la pradera, durante la primavera el 15 de junio del 2017, el cuarto corte fue realizado a los 313 días de edad de la pradera en el verano el 15 de julio del 2017 y el quinto corte a los 369 días de edad de la pradera durante el verano el 09 de septiembre del 2017.

La *M. oleifera* se secó durante 72 horas bajo sombra y a temperatura ambiente (35-40 °C) dentro del invernadero colocado capas de 8 -10 cm de espesor en mallas a 1.5 m de altura del suelo para mantener un mejor drenado del agua y evitar problemas de pudrición por hongos. Para almacenar la *M. oleifera* se separaron las hojas compuestas y tallos de cada corte. El forraje producido (hojas) de cada corte fue molido en un molino de

martillos accionado por la toma de fuerza del tractor y tamizado en una malla de 5 mm de diámetro de poro y almacenado a temperatura ambiente en sacos de polietileno etiquetados (número de corte) con capacidad para 50 kg en un lugar sin exposición al sol y protegido de la lluvia.

### **5.3. Tratamientos experimentales**

Este estudio fue diseñado para evaluar la inclusión niveles crecientes de forrajes de *M. oleifera* en la dieta de pequeños rumiantes. Se formularon dietas integrales (Cuadro 1) iso-proteicas e iso-energéticas con contenidos similares de fibra (proteína, 130 g kg<sup>-1</sup> de MS; energía metabolizable, 2.51 Mcal kg<sup>-1</sup> de MS; fibra detergente neutro, 430 g kg<sup>-1</sup> de MS) para cumplir con los requerimientos nutricionales de corderos en crecimiento con una ganancia diaria de peso de 200 g dia<sup>-1</sup> según las recomendaciones del NRC [76].

En el balanceo de raciones se incluyeron ingredientes locales disponibles como: grano de sorgo molido, harina de soya, heno de pasto búffel (picado), melaza de caña, premezcla mineral-vitamínica y forraje de *M. oleifera* incluido en niveles crecientes (0, 100, 200 y 300 g/kg<sup>-1</sup> de MS). Las muestras de las dietas experimentales fueron deshidratadas (45°C durante 48 horas) y posteriormente molidas a un tamaño de partícula de 1mm y almacenadas en bolsas de plástico para posteriores determinaciones de composición química y fermentación ruminal *in vitro*.

### **5.4. Composición química**

Los análisis de laboratorio se realizaron en el Centro Integral de Laboratorios de la Facultad de Ingeniería y Ciencias de la Universidad Autónoma de Tamaulipas en colaboración con el Laboratorio de Nutrición Animal del Centro Universitario UAEM Temascaltepec. Las muestras frescas fueron secadas a 45° C durante 48 h para la determinación de la humedad (Figura 4) y pasadas por la malla de 1 mm de un molino Willey (Figura 5).



**Cuadro 1.** Ingredientes y composición química (g kg<sup>-1</sup> de MS) de harina de hojas de *Moringa oleifera* y dietas experimentales para corderos en crecimiento usadas en el ensayo de fermentación *in vitro*.

	Dietas experimentales				M. <i>oleifera</i>
	Testigo	IM-10	IM-20	IM-30	
<b>Ingredientes</b>					
<i>Moringa oleifera</i>	0	100	200	300	
Sorgo	440	375	311	295	
Harina de soya	168	136	104	66	
Heno de búffel ( <i>Cenchrus ciliare</i> )	312	309	305	259	
Melaza de caña	50	50	50	50	
Premezcla mineral	30	30	30	30	
<b>Composición química</b>					
Proteína (N x 6.25)	147	141	147	156	216
Energía metabolizable (Mcal kg <sup>-1</sup> )	2.87	2.79	2.71	2.70	2.73
Fibra detergente neutro	327	324	317	293	142
Fibra detergente ácido	157	178	162	152	92
Hemicelulosa	164	147	155	142	50
Materia orgánica	919	915	912	896	899

<sup>a</sup>Nivel de inclusión de harina de hojas de *Moringa oleifera* en la dieta totalmente mezclada (IM): 0% (Testigo), 10% (IM-10), 20% (IM-20) y 30% (IM-30), respectivamente.

<sup>b</sup>Composición por 1 kg de contenido: Ca (120 g), P (120 g), Na (100 g), Mg (17 g), Mn (2.0 g), Cu (0.4 g), Zn (2.0 g), I (40 mg), Se (8.0 mg), Co (7.6 mg).

Los procedimientos descritos por la AOAC [77] que se utilizaron son:

#### 5.4.1. Cenizas (%)

Para la determinación de Cenizas (C) se utilizó el procedimiento descrito por la AOAC [77], se pesó 1 g ( $\pm$  0.01 g) de muestra seca en un crisol de porcelana de 3-4 cm de diámetro y 2.3 cm de altura previamente pesado y llevado a peso a constante, se introdujeron las muestras a una mufla a 550 °C durante 6 h. Transcurrido el tiempo se dejó enfriar la mufla hasta llegar a 100°C, posteriormente se sacaron los crisoles y se colocaron en un desecador provisto de gel de sílice con indicador de humedad durante cinco

minutos, se pesaron nuevamente y se registró el peso final de la muestra para calcular el porcentaje de Cenizas mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{\text{Peso final (g)} - \text{Peso del crisol (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$



**Figura 4.** Pesaje de muestras y reactivos.



**Figura 5.** Molido de muestras.

#### 5.4.2. Materia orgánica (%)

Para el caso de materia orgánica (MO) solo se restó de 100 el contenido de cenizas.

#### 5.4.3. Proteína cruda (%)

La proteína cruda (PC) se determinó siguiendo el procedimiento descrito por la AOAC [77], por el método de Kjeldahl para determinar el contenido de nitrógeno en la muestra. Para el proceso de digestión se colocaron 0.30 g de muestra de *M. oleifera* por triplicado en matraces kjeldahl, 1 g de mezcla catalizadora (96 g de sulfato de sodio, 3.5 g de sulfato cúprico y 0.5 g de selenio) y 6 ml de ácido sulfúrico concentrado ( $H_2SO_4$ ) y se llevaron al kjeldahl durante 1 hora (Figura 8). Después de retirar las muestras del digestor se dejaron enfriar durante 30 minutos y se agregó agua destilada (60 ml) para evitar la cristalización de la muestra digerida. Posteriormente para el proceso de destilación se colocaron la muestras digeridas en tubos de ensayo de 100 ml y se le adicionaron 20 ml de hidróxido de sodio al 40

% (NaOH) a cada muestra y se colocaron en el destilador, asimismo se colocaron 20 ml de ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) al 4 % y una gota de solución indicadora (70 mg rojo de metilo en 70 ml de alcohol etílico, 100 mg de verde bromocresol en 100 ml de alcohol etílico) en matraces erlenmeyer con capacidad de 100 ml, donde se colecto el producto de la destilación (Figura 9). Finalmente se realizó el proceso de titulación con ácido clorhídrico (HCl) concentrado al 0.1 N hasta que se obtuvo un color rosa tenue, registrando la cantidad de mililitros gastados para cada muestra. El porcentaje de nitrógeno se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$N (\%) = \frac{(ml \text{ gastados de HCl} - ml \text{ gastados del blanco}) \times normalidad \text{ HCl} \times 1.401}{(g \text{ de la muestra})(coeficiente de materia seca)} \times 100$$

$$\text{Proteína calculada} = N \% \times 6.25$$



**Figura 6.** Pesaje de muestras para determinación de cenizas.



**Figura 7.** Mufla para determinación de cenizas.



**Figura 8.** Equipo Microkjeldahl para determinación de proteína.

#### 5.4.4. Fibra detergente neutro (FDN %)

Esta variable se determinó siguiendo la metodología descrita por Van Soest et al. [78] utilizando bolsas filtro Ankom F-57 en un analizador de fibra Ankom 200 (Ankom Technology, Macedon, N.Y. EE. UU.). Para el análisis de FDN, las muestras fueron tratadas con  $\alpha$ -amilasa (Sigma A-3403 Sigma-Aldrich® Co., Louis MO, EE.UU.). Se pesaron las bolsas ankom registrando el peso y tarando a cero (W1), después se colocaron  $0.45 \pm 0.01$  g (W2) de muestra de *M. oleifera* por triplicado en cada bolsa registrándose el peso exacto y se selló la bolsa en el extremo con el sellador Ankom (1915, tecnología ankom) (Figura 10), también se pesaron dos bolsas vacías para ser utilizadas como blanco. Posteriormente las bolsas con la muestra fueron colocadas en el digestor (ANKOM 200), se agregaron 2000 ml de solución detergente neutro. Se calentó la solución hasta 90-102 °C por 75 minutos mantenido en agitación a 65 rpm. Después de transcurrido el tiempo se realizaron 4 lavados con agua destilada caliente y se dejaron secar en papel

absorbente durante 15 minutos, posteriormente se colocaron las bolsas dentro de un vaso de precipitado con capacidad de 250 ml y se le agregaron 200 ml de acetona (Figura 11), las bolsas se mantuvieron sumergidas durante 5 minutos y fueron retiradas y colocadas nuevamente en toallas de papel absorbente para eliminar el exceso de acetona. Se dejaron secar a temperatura ambiente durante 45 minutos y posteriormente fueron introducidas en una estufa de aire forzado a 105 °C durante 12 horas para completar el secado y obtener el peso constante (Figura 12). Por último, se sacaron las bolsas de la estufa y fueron colocadas en un desecador durante 10 minutos, fueron pesadas y se registró el peso exacto de cada una de ellas (W3). El contenido de hemicelulosa se calculó a partir de la diferencia entre FDN y FDA



**Figura 9.** Destilación de muestras para determinación de proteína.

El cálculo de la FDN (%) se realizó mediante la siguiente relación:

$$\text{FDN (\%)} = ((W3 - (W1 \times C1)) / W2) \times 100$$

Dónde:

W1= Peso de la bolsa (g)

W2= Peso de la muestra (g)

W3= Peso de la bolsa después del proceso de extracción (g).



**Figura 10.** Sellado de bolsas.





**Figura 11.** Bolsas dentro de vaso de precipitado con capacidad de 250 ml.

### **5.5. Animales donadores de inóculo**

Para la extracción del líquido ruminal (inóculo) se utilizó de una sonda esofágica de 1 cm de diámetro y una bomba de vacío. Se extrajo líquido ruminal de cuatro corderos machos de la raza pelibuey con peso promedio de 25 kg y 4.5 meses de edad alimentados en pastoreo con pasto Bermuda variedades tifton 68 (*Cynodon nlemfuensis* Vanderyst) y 85 (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) en praderas establecidas bajo condiciones de riego, los cuáles se mantuvieron dietados sin alimento y agua a libre acceso durante 24 horas previo a la extracción. El líquido ruminal obtenido se mantuvo a 39-40 °C en un termo para su transporte al laboratorio. Una vez en el laboratorio se filtró en cuatro capas de gasa simple para retirar las partículas de alimento presentes (Figura 13).



**Figura 12.** Bolsas para determinación de FDN y FDA.

### **5.6. Degradabilidad de la materia seca y fracciones de fibra**

Se utilizó la técnica de la bolsa basada en la metodología descrita por Ørskov *et al.* [53] con las modificaciones metodológicas propuestas por ANKOM Technology Corporation. Se pesaron 0.25 g de MS por cuadruplicado para cada uno de los tratamientos experimentales (M0, M10, M20 y M30) y se depositaron en bolsas filtro ANKOM-F57. Las bolsas fueron selladas y colocadas en los frascos de digestión del sistema ANKOM Daisy II (16 bolsas por cada frasco). En cada frasco se incubaron dos bolsas vacías (blanco) y dos bolsas con heno de alfalfa de digestibilidad conocida para hacer utilizada rutinariamente como estándar. Posteriormente fue adicionado a cada frasco de fermentación dos litros de una mezcla del líquido ruminal y del medio nutritivo (1:4 v/v) descrito por Mauricio *et al.* [79].

Las muestras fueron incubadas por 6, 12, 24, 48 h (un frasco independiente por tiempo de incubación) a una temperatura de  $39.2 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , con agitación circular constante. Una vez cumplido cada tiempo de incubación de cada frasco las bolsas se retiraron y lavaron con agua corriente hasta quedar clara, y posteriormente se deshidrataron en estufa de aire forzado a  $65^{\circ}\text{C}$  hasta alcanzar peso constante para determinar la MS residual. Finalmente se determinó por duplicado el contenido de FDN y FDA [78] en un analizador de fibra ANKOM<sup>200</sup>, así mismo se determinó por duplicado el contenido residual de proteína según la AOAC [77] para calcular la degradabilidad de la proteína y fracciones de fibra (FDN, FDA y Hemicelulosa), respectivamente.



**Figura 13.** Preparación del líquido ruminal para el análisis *in vitro*.

### **5.7. Análisis estadístico**

Los datos de la fermentación ruminal *in vitro* de los nutrientes fueron analizados mediante un diseño completamente al azar con cuatro

tratamientos (M0-M30) y cinco repeticiones, utilizando procedimiento general para modelos lineales (GLM) de SAS [80].

Se utilizó el modelo estadístico:

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

Dónde:  $Y_{ij}$  es la variable independiente,  $\mu$  es la media general,  $T_i$  es el efecto de tratamiento y  $\epsilon_{ij}$  es el error experimental.

La prueba de Tukey se utilizó para separar las medias significativas ( $P < 0.05$ ). Se utilizó la prueba de contraste polinómico para determinar el efecto lineal y cuadrático de los niveles de inclusión de *M. oleifera* sobre todas las variables dependientes.

## VI. RESULTADOS

La composición química de la harina de *M. oleifera* utilizada en las dietas experimentales se muestra en el Cuadro 1. El contenido de proteína fue de 216 g kg<sup>-1</sup> de MS y el de FDN y FDA fue de 142 y 92 g kg<sup>-1</sup> de MS, respectivamente.

El efecto del nivel de inclusión de harina de *M. oleifera* en dietas para corderos en crecimiento sobre la degradabilidad de la materia seca (DMS) y de las fracciones de fibra (DFDN y DFDA) se muestran en el Cuadro 2. La DMS y la DFDA a las 24 y 48 h de incubación no presentaron efectos en el tratamiento testigo (sin *M. oleifera*) ni en las dietas que incluían harina de *M. oleifera* (IM10-IM30). La DMS y la DFDA a las 24 y 48 h de incubación no presentaron tendencias lineales ni cuadráticas. Sin embargo, la DFDN tuvo un efecto lineal (P<0.05) a las 24 h.

**Cuadro 2.** Efecto de diferentes niveles de *Moringa oleifera* en dietas para corderos en crecimiento sobre la degradabilidad *in vitro* de la materia seca y la fibra a las 24 y 48 h de incubación en las botellas de fermentación.

	Dietas experimentales*				EEM	Contrastes (P<)		
	Testigo	IM-10	IM-20	IM-30		Testigo vs IM	Lineal	Cuadrático
<b>DMS</b>								
24 h	618	626	622	649	9.81	0.2481	0.0807	0.3612
48 h	780	807	798	804	7.27	0.1505	0.3170	0.4837
<b>DFDN</b>								
24 h	330	341	319	298	10.9	0.4244	0.0417	0.1749
48 h	619	605	612	618	9.8	0.5458	0.9175	0.3357
<b>DFDA</b>								
24 h	574	616	596	584	15.1	0.2069	0.9274	0.1127
48 h	688	709	688	712	10.1	0.2315	0.2775	0.8731

\*Nivel de inclusión de harina de hojas de *Moringa oleifera* en la dieta totalmente mezclada (IM): 0% (Testigo), 10% (IM-10), 20% (IM-20) y 30% (IM-30), respectivamente.

DMS: degradabilidad *in vitro* de la materia seca; DFDN: degradabilidad *in vitro* de la fibra detergente neutro; DFDA: degradabilidad *in vitro* de la fibra detergente ácido  
EEM = Error estándar de la media.

## VII. CONCLUSIÓN

A pesar de que la composición química demuestra que la harina de *M. oleifera* puede utilizarse como fuente de proteína en la alimentación de ovinos en crecimiento, los resultados de los parámetros sobre degradabilidad *in vitro* indican una tendencia a reducir las variables con el aumento de la cantidad de inclusión de *M. oleifera* en la dieta.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] L. Hove, J.H. Topps, S. Sibanda, L.R. Ndlovu. Nutrient intake and utilisation by goats feed dried leaves of shrub legumes *Acacia angustissima*, *Calliandra calothyrsus* and *Leucaena leucocephala* assupplements to native pasture hay. Anim. Feed Sci. Technol. 91, 95-106. 2001.5
- [2] H.M. Andrade-Montemayor, A.V. Cordova-Torres, T. Garcia-Gasca, J.R. Kawas. Alternative foods for smallruminants in semiarid zones, the case of Mesquite (*Prosopis laevigata* spp.) and Nopal (*Opuntia* spp.). Small Ruminants Res. 98, 83-92. 2011.
- [3] A.E Kholif, G. A. Gouda, T.A. Morsy, A.Z.M. Salem, S. López, A. M. Kholif. *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. 2015..
- [4] E. J Benavides. Investigación en árboles forrajeros: Técnicas agroforestales. CATIE, Turrialba. Costa Rica. 1983
- [5] B. Mendieta-Araica, R. Spörndly, N. Reyes-Sanchez, E. Spörndly. *Moringa (Moringa oleifera)* leaf meal as a source of protein in ocaly produced concentrates for dairy cows fed low protein diets in tropical áreas. Livest. Sci. 137, 10-17. 2011.
- [6] A.B. Falowo., F.E. Makumbo, E.M. Idamokoro, J.M. Lorenzo, A.J. Afolayan, V. Muchenje. Multi-functional application of *Moringa oleifera* Lam.in nutrition and animal food products: A review. Food Research International 106:317-334. 2018.
- [7] A.M. Safwat, L. Sarmiento-Franco, R.H. Santos-Ricalde, Nieves D. Determination of tropical forage preferences using two offering methods in rabbits. Asian Australas J Anim Sci. 27:524–529. 2014.
- [8] N. Reyes-Sánchez; S. Ledin, I. Ledin. Biomass production and chemical composition of *Moringa oleifera* under different management regimes in Nicaragua. J. For. Res. 66:231–242. 2006
- [9] W. Nouman, S.M.A. Basra, M.T. Siddiqui, A. Yasmeen, T. Gull, M.A.C. Alcayde. Potential of *Moringa oleifera* L. as livestock fodder crop: a review. Turkish Journal of Agricultural and Forestry. 38, 1-14. 2014
- [10] D.I. Sánchez-Machado, J.A. Núñez-Gastélum, C. Reyes-Moreno, B. Ramírez-Wong, J. López-Cervantes. Nutritional Quality of Edible Parts of *Moringa oleifera*. Food Analytical Methods. 3: 175-180. 2010.
- [11] A. Guglielmelli, S. Calabro, R. Primi, F. Carone, M.I. Cutrignelli, R. Tudisco, G. Piccolo, B. Ronchi, P.P. .Danieli. *In vitro* fermentation patterns and methane production of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*

- Scop.) hay with different condensed tannin contents. *Grass Forage Sci.* 66:488–500. 2011
- [12] N. Sultana, A.R. Alimon, K.S. Huque, , A.Q. Sazili, H. Yaakub, J. Hossain, , M. Baba. The feeding value of moringa (*Moringa oleifera*) folige as replacement to conventional concéntrate diet in Bengal goats. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 3, 164-173. 2015.
- [13] T, Clavero. Agroforestería en la alimentación de rumiantes en América Tropical. *Revista de la Universidad de Zulia*, 2: 11-35. 2011.
- [14] J.H., Ahn, B.M. Robertson, R. Elliot, R.C Gutteridge,. Quality assessment of tropical browse legumes: tannin content and protein degradation. *Anim. Feed. Sci.Technol.* 27,147-156. 1989.
- [15] A. Kibon, E.R Ørskov. The use of degradation characteristics of browse plants to predict intake and digestibility by goats. *Anim. Prod.* 57, 47-251. 1993.
- [16] J. Olivares-Perez, F. Aviles-Nova, S. Rojas-Hernandez, B. Albarran-Portillo and O.A. Castelan-Ortega. Identification, uses and measurement of fodders legumes. 2011.
- [17] D. A Pezo, F. Romero, M. Ibrahim. Producción, manejo y utilización de los pastos tropicales para la producción de leche y carne. IN: S. Fernández Baca (Ed.) *Avances en la producción de leche y carne en el Trópico Americano*. FAO. Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Santiago, Chile. Pp. 47-98. 1992.
- [18] D.E. García, M.G. Medina, L.J. Cova, A. Torres, M. Soca, P. Pizzani, A. Baldizán, C.E. Domínguez. Preferencia de vacunos por el follaje de doce especies con potencial para sistemas agrosilvopastoriles en el Estado Trujillo, Venezuela. *Pastos y Forrajes*. 31, 255-270. 2008.
- [19] K.T. Mahmood, T. Mugal., I.U. Haq. Moringa oleifera: a natural gift - A review. *Int J Pharm Sci Res* 2: 775-781. 2010.
- [20] M.E. Olson, J. W. Fahey. *Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. *Revista mexicana de biodiversidad*. 82, 1071-1082. 2011.
- [21] A. Perez, T. Sánchez, N. Armengol, F. Reyes. Características y potencialidades de *Moringa oleifera* Lamark: Una alternativa para la alimentación animal. *Pastos y Forrajes*. 33, 1-1. 2010.
- [22] N. Foidl, H. P. S Makkar, K. Becker. The potential of *Moringa oleifera* for agricultural and industrial uses. In: Fuglie, L. J. (Ed.) *The miracle Tree: The multiple Attributes of Moringa*. Centre for Agricultural and Rural Cooperation (CTA). Amsterdam, the Netherlands. Pp: 45-77. 2001.
- [23] Brisibe EA, Umoren UE, Brisibe F, Magalhaes PM, Ferreira JFS, Luthria D, Wu X, Prior R. Nutritional characterization and antioxidant capacity of different tissues of *Artemisia annua* L. *Food Chem.* 115: 1240-1246. 2009.



- [24] M. Busani, J.M Patrick, H. Arnold, M. Voster. Nutritional characterization of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. African J Biotechnol 10:12925–12933. 2011.
- [25] H.P.S. Makkar, K. Becker. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. Animal Feed Science and Technology. 63, 211-228. 1996.
- [26] J. A Duke. Handbook of energy crops (*Moringa oleifera*). Purdue University Center for New Crops and Plants Products. 1983.
- [27] Y. Zheng, Z. Yanping, W. Jiangchong, Yield and quality of *Moringa oleifera* under different planting densities and cutting heights in southwest China. Industrial Crops and Products. 91, 88-96. 2016.
- [28] S.G. Sadeghi, J.M. Goldberg, L.B. Minor, K.E. Cullen. Effects of canal plugging on the vestibuloocular reflex and vestibular nerve discharge during passive and active head rotations. J Neurophysiol. 102:2693–2703. 2009.
- [29] S. N. Reyes, S. Ledin, I. Ledin. Biomass production and chemical composition of *Moringa oleifera* under different management regimes in Nicaragua. Agroforestry Systems. 66, 231-242. 2006.
- [30] A.J.A. Jarquín, D. Rocha, L. Rocha, N. Reyes-Sánchez, Mendieta-Araica. Degradabilidad ruminal del follaje de *Moringa oleifera* a tres diferentes edades de rebrote. La Calera. 13, 76-81. 2013.
- [31] E. Debela, A. Tolera. Nutritive value of botanical fractions of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala* grown in the midrift valley of southern Ethiopia. Agroforest System. 87, 1147-1155. 2013.
- [32] P.R. Rodríguez, 2011. Alimentación de vacas lecheras con *Moringa oleifera* fresco o ensilado y su efecto sobre la producción, composición y calidad de leche. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Nacional Agraria. Nicaragua. 35p.
- [33] T.S Anjorin, P. Ikokoh, S. Okolo. Mineral composition of *Moringa oleifera* leaves, pods and seeds from two regions in Abuja, Nigeria. Int. J. Agric Biol. 12: 431-434. 2010
- [34] A. Melesse. Comparative assessment on chemical compositions and feeding values of leaves of *Moringa stenopetala* and *Moringa oleifera* using *in vitro* gas production method. Ethiop. J. Appl. Sci. Technol. 2: 31-41. 2011
- [35] M. Pinheiro, D.F. Farias, J.T.A. Oliveira, A.F.U. Carvalho. *Moringa oleifera*: bioactive compounds and nutritional potential. Rev. Nutr. Campinas. 21:431-437. 2008
- [36] H.P. Makkar, K. Becker. Nutrients and antiquality factors in different morphological parts of the *Moringa oleifera* tree. J Agric Sci. 128: 311-332. 1997
- [37] S.N. Reyes, R. Rodríguez, B.M. Araica, L.M. Sovalbarro, A.P.M. Taylor. Efecto de la suplementación con *Moringa oleifera* sobre el

- comportamiento productivo de ovinos alimentados con una dieta basal de pasto guinea (*panicum máximum* jacq.). La calera. Universidad Nacional Agraria. México. pp. 60-69.
- [38] J.K. Murro, V.R.M. Muhikambebe, S.V. Sarwatt. *Moringa oleifera* leaf meal can replace cottonseed cake in the concentrate mix fed with Rhodes grass (*Chloris gayana*) hay for growing sheep. LRRD. 15: 1-4. 2003
- [39] H.H Azzaz, S.A. Eman, T.A. Morsy, H.A. Aziz, I.H Fatma, M.S. Abd-Alla. *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 J Anim Vet Adv. 11:684-692. 2016.
- [40] D.A. Astutia, A.S. Babab, I.W.T. Wibawanc. Rumen fermentation, blood metabolites, and performance of sheep fed tropical browse plants. Media Peternakan. 34:201-206.
- [41] Agrodesierto, 1998-1999. Programas Agroforestales (*Moringa oleifera*). Disponible en: [www.agrodesierto.com](http://www.agrodesierto.com)
- [42] H. Pérez, P.F Torres, B. Mendieta. 2001. Evaluación del Marango (*Moringa oleifera* Lam) como una alternativa en la alimentación de cerdos de engorde. Tesis Ing. Agrónomo. Managua, Nicaragua. 51 p.
- [43] E.D. Luna, M.C. Ángel, S.A. Moreno, R.S. Rincón, H.L.Velasco. Parámetros productivos de ovinos de pelo en un sistema de alimentación intensiva en la región central de Chiapas. Quehacer Científico en Chiapas 1: 7-13. 2011
- [44] L. Avendaño-Reyes, F.D Alvarez, J. Salome, A. Correa, L. Molina, F.J. Cisneros. Assessment of some productive traits of the Pelibuey sheep in northwestern Mexico: Preliminary results. Cuban J of Agric Sci. 38: 129-134. 2004
- [45] V.M. Nava-López, J. Oliva-Hernández, J.A. Hinojosa-Cuéllar. Mortalidad de los ovinos de pelo a través de diferentes épocas climáticas en un rebaño comercial localizado en La Chontalpa, Tabasco, México. Universidad y Ciencia 22: 119-129. 2006
- [46] M.E. Ensminger. Producción Ovina. AID, México, 120, 122P. 1973
- [47] O. Estrada, R.I. Ortega. Zootecnia general segunda parte. Ed. Pueblo y educación. Cuba 1987.
- [48] L. Lessur. Manual del Ganado Ovino. Ed Trillas, guía Paso a paso. México. 2004
- [49] P. Mc Donald, R.A. Eduard. Animal nutrition 5ª Ed. Traduced: Arias Sanz Ed Acribia. España. 1995.

- [50] M. Vélez. Producción de ganado lechero en el Trópico. Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. Tegucigalpa, Honduras, pp. 189. 1997
- [51] J.E. Vargas-Bayona, G. Mejía Porras, J. Bedoya Mashuth, J.F. Gomez Patiño. Estimación de la técnica *in vitro* de gases frente a otras técnicas de digestibilidad. Ediciones Universidad Cooperativa de Colombia. 9:14. 2013.
- [52] J.I. Quin, J.G. Van der Wath, S. Myburgh. Studies on the alimentary tract of Merino sheep in South Africa. Description of experimental technique. Onderstepoort J Vet Sci Anim Ind. 11: 341-360. 1938.
- [53] Ørskov, E.R., De B Hovell, F.D., Mould, F. The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. Trop. Anim. Prod. 53, 195-213. 1980.
- [54] P. Nozière, B. Michalet-Doreau. *In sacco* methods. En: D'Mello J.P., editor. Farm Animal Metabolism and Nutrition. CAB International, Oxon. p. 233-253. 2000.
- [55] J. Madsen, T. Stensig, M. R. Weisburger, T. Hvelplund. Estimation of the physical fill of feedstuffs in the rumen by the *in sacco* degradation characteristics. Lives Prod Sci. 39: 43-47. 1994.
- [56] J.H. Meyer, R.I Mackie. Microbiological evaluation of the intraruminal *in sacco* digestion technique. Appl Environ Microbiol. 51: 622-629. 1986.
- [57] E.W. Crampton. Applied Animal Nutrition. San Francisco: Freeman. p. 458. 1956.
- [58] W.F. Raymond, C.E. Harker, V.G. Harker. Studies on the digestibility of herbage. En: Technique of measurement of digestibility and some observations of factor affecting the accuracy of a digestibility data. J Brit Grassland Soc. 8: 301-314. 1953.
- [59] L.A. Maynar. Animal nutrition. 3rd ed. New York: McGraw-Hill. p. 474. 1951.
- [60] J.M.A Tilley, R.A. Terry. A two stage technique for the *in vitro* of forage crops. J Brit Grassland Soc. 18: 104-111. 1963
- [61] K.H. Menke, L. Raab, A. Salewski, H. Steingas, D. Fritz, W. Schneider. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. J Agric Sci. 93: 217-222. 1979.
- [62] M.K. Theodorou, B.A. Williams, M.S. Dhanoa, A.B. Mcallan, J.A. France. Simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Anim Feed Sci Technol. 48: 185-197. 1994.
- [63] W.P. Weiss. Estimation of digestibility of forages by laboratory methods. En: Fahey GC Jr., Collins M, Mertens DR, Moser LE, editors.

- Forage Quality, Evaluation and Utilization. American Society of Agronomy. p. 644-681. 1994.
- [64] J.L. Firkins, M.S. Allen, B.S. Oldick, N.R. St-Pierre. Modeling ruminal digestibility of carbohydrates and microbial protein flow to the duodenum. *J Dairy Sci.* 81: 3350-3369. 1998.
- [65] K.H. Menke, H. Steingas. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim Res Dev.* 28: 7-55. 1988.
- [66] S.L. Posada, Rosero. Valoración de las heces y el líquido ruminal como inóculo en la técnica *in vitro* de producción de gases. Medellín: Universidad de Antioquia. p. 63. 2006.
- [67] B.A. Williams. Cumulative gas-production techniques for forage evaluation. En: Givens DI, Owen E, Omed HM, Axford RFE, editors. *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition.* Wallingford (uk) cab International. p. 475. 2000.
- [68] A.N. Pell, P. Doane, P. Schofield. *In vitro* digestibility and gas production. En: Simpósio sobre Tópicos Especiais em Zootecnia. Lavras, mg. p. 109-132. 1997.
- [69] R.J. Grants, D.R. Mertens. Development of buffer systems for pH control and evaluation of pH effects on fiber digestion *in vitro*. *J Dairy Sci.* 75: 1581-1587. 1992.
- [70] H. Goering, Van Soest. Forage fiber analysis. *ars/usda Agric. Handbook.* p.379. 1970.
- [71] V.D. Valencia, L. Giraldo. Cinética de la degradación ruminal *in vitro* de forrajes suplementados con glicerina cruda proveniente de la obtención de biodiesel del aceite de palma africana. *Rev Colom Cienc Pecua.* 22: 465-499. 2009.
- [72] I.V. Nsahlai, N.N. Umunna, D. Negassa. The effect of multi-purpose tree digesta on *in vitro* gas production from napier grass sor neutral-detergent fibre. *J Sci Food Agric.* 69: 519-528. 1995.
- [73] Y. R.C. Opatpatanakit, I.J. Kellaway, G. Lean, A. Annison, A. Kirby. Microbial fermentation of cereal grain *in vitro*. *Aust J Agric Res.* 45: 1247-1263. 1994
- [74] A. El-Meadaway, Z. Mir, P.S. Zaman, L.J. Yanke. Relative efficacy of inocula from rumen liquor and fecal solution for determining *in vitro* digestibility and gas production. *J Anim Sci.* 78: 673-679. 1998.
- [75] H.M. Omed, D.K. Lovett, R.F.E. Axford. Faeces as source of microbial enzymes for estimating digestibility. En: D.I. Givens, E. Owen, R.F.E. Axford, H.M. Omed, Editors. *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition.* Wallingford (UK). p. 135-154. 2000.
- [76] National Research Council. Nutrient requirements of small ruminants; sheep, goats, cervids, and new world camelids. National Academy Press, Washington, D.C, U.S.A. 200 p. 2007.

- [77] AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, INC. USA. 672 p. 1999
- [78] P.J. Van Soest, J.B. Robertson, B. A. Lewis. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74:3583-3597. 1991.
- [79] R.M Mauricio, F.L. Mould, M.S. Dhanoa, E. Owen, K.S. Channa y M.K. Theodorou. Semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim F Sci Tech* 79:321-330. 1999.
- [80] SAS Institute. SAS User's Guide: Statistics. Ver 9.0 SAS Institute, Cary, N.C., USA. 2002.
- [81] J. France, J. Dijkstra, M.S. Dhanoa, S. López, A. Bannink. 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. 2000.
- [82] H.P.S Makkar, K. Becker. 1996. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 63: 211-228..
- [83] B. Mendieta-Araica; E. Spörndly; N. Reyes-Sánchez; L. Norell, R. Spörndly. Silage quality when *Moringa oleifera* is ensiled in mixtures with Elephant grass, sugar cane and molasses. *Grass Forage Sci.* 64, 364–373. 2009
- [84] U. Garavito. *Moringa Oleifera*, alimento ecológico para ganado vacuno, porcino, equino, aves y peces, para alimentación humana, también para producción de etanol y biodiesel. Corporación Ecológica Agroganadera SA. Colombia. 2008
- [85] M. A. Cerrillo, R. Juárez. *In vitro* gas production parameters in cacti and tree species commonly consumed by grazing goats in a semi arid region of North Mexico. *LRRD* 16: 21. 2004.
- [86] J. L. De Boever, J. M. Aerts, J. M. Vanacker, D. L. De Brabander. Evaluation of the nutritive value of maize silages using a gas production technique. *Anim Feed Sci Technol* 123:255–65. 2005
- [87] C.R. Soliva, M. Kreuzer, N. Foidl, G. Foidl, , A. Machmüller, H.D. Hess. Feeding value of whole and extracted *Moringa oleifera* leaves for ruminants and their effects on ruminal fermentation *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.* 118, 47-62. 2005.
- [88] M.M.Y. Elghandour, L. H.Vallejo, A. Z. M. Salem, M. Mellado, L. M. Camacho, M. Cipriano, O. A. Olafadehan, J. Olivares, S. Rojas. *Moringa oleifera* leaf meal as an environmental friendly protein source for ruminants: Biomethane and carbon dioxide production, and fermentation characteristics. *J Clean Prod.* 165, 1229-1238. 2017

- [89] G. Goel, H.P.S. Makkar. Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. *Trop. Anim. Health Prod.* 4: 729-739. 2012.
- [90] R. Bodas, N. Prieto, R. García-González, S. Andrés, F.J. Giráldez, S. López. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Anim F Sci Technol.* 176: 78-93. 2012.
- [91] C. Benchaar, S. Calsamiglia, A.V. Chaves, G.R. Fraser, D. Colombatto, T.A. McAllister, K.A. Beauchemin. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Anim. Feed Sci. Technol.* 145, 209-228. 2008
- [92] V.H. Varel, H.G. Jung, L.R. Krumhole. Degradation of cellulose and forage fiber fractions by ruminal cellulolytic bacteria alone and in coculture with phenolic monomer-degrading bacteria. *J Anim Sci.* 69: 4993-5000. 1991.
- [93] P. Frutos, G. Hervas, F.J. Giraldez, A.R. Mantecon. Review. Tannins and ruminant nutrition. *Span. J. Agric. Res.* 2, 191-202. 2004.
- [94] C.J. Newbold, S.M. El Hassan, J. Wang, M. Ortega, R.J. Wallace. Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. *Br. J. Nutr.* 78, 237-249. 1997.
- [95] J.P. Jouany. Effect of rumen protozoa on nitrogen utilization by ruminants: altering ruminal nitrogen metabolism to improve protein utilization. *J. Nutr.* 126, 1335-1346. 1996.
- [96] O.A. Olafadehan, S.A., Okunade. Fodder value of three browse forages for growing goats. *J Saudi Soc Agric Sci.* 17: 43-50. 2016.
- [97] J.K. Seo, M.H. Kim, J.Y. Yang, H.J. Kim, C.H. Lee, K.H. Kim, J.K. Ha. Effects of synchronicity of carbohydrate and protein degradation on rumen fermentation characteristics and microbial protein synthesis. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 26, 358-365. 2013.
- [98] B. Mendieta-Araica, R. Spörndly, N. Reyes-Sánchez, E. Spörndly. *Moringa (Moringa oleifera)* leaf meal as a source of protein in locally produced concentrates for dairy cows fed low protein diets in tropical area. *Livest. Sci.* 137, 10-17. 2011.
- [99] R.J. Mac Loughlin. Requerimientos de proteína y formulación de raciones en bovinos para carne MC2005. Investigación y Desarrollo Agropecuario. <http://www.Producción-animal.com.ar>. 2010.
- [100] I.L. Montejo, O. López, T. Sánchez, S. Muetzel, K. Becker, L. Lamela. Efecto del nivel de inclusión de soya en la digestibilidad *in vitro* de la harina de piscidium de *Moringa oleifera*. *Pastos y forrajes.* 35, 197-204.