

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**VALOR NUTRITIVO DE *Moringa oleífera* COMO RECURSO FORRAJERO PARA
RUMIANTES A PARTIR DE SU DEGRADABILIDAD “*in situ*” Y PRODUCCIÓN
DE GAS “*in vitro*”**

POR

JOSÉ LEONIDAS MORAZÁN NUÑEZ

TESIS

**PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
AGRONÓMO**



CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C.A

NOVIEMBRE, 2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**VALOR NUTRITIVO DE *Moringa oleífera* COMO RECURSO FORRAJERO PARA
RUMIANTES A PARTIR DE SU DEGRADABILIDAD “*in situ*” Y PRODUCCIÓN
DE GAS “*in vitro*”**

POR:

JOSÉ LEONIDAS MORAZÁN NUÑEZ

HÉCTOR LEONEL ALVARADO

ASESOR PRINCIPAL

TESIS

**PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO**

CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, CA.

NOVIEMBRE, 2013

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso que me ha dado fortaleza de seguir adelante en los retos propuestos en mi vida.

A mis padres: Ciriaco Morazán Rostrán *QDDG*, **mi madre** Eva Margarita Núñez Blandin por los consejos y regaños que me forja como hombre de bien y darme una formación profesional para ser alguien ante la sociedad.

A mis hermanos (as) Henrís Jobany Morazán, José Francisco Morazán, Nicol Morazán, Karen Morazán, por estar a mi lado en todo momento en las alegrías, tristezas que hemos pasado juntos y por incitarme a seguir adelante en las metas propuestas en mi vida.

A mis familiares, primos y amigos a todos ellos que han estado pendientes, por sus consejos, su apoyo incondicional y sin recibir nada a cambio.

AGRADECIMIENTO

Agradezco al **Padre Celestial** por su inmenso amor, su gran misericordia, fortaleza y la vida.

A **mi padre** Ciriaco Morazán Rostran QDDG, **a mi madre** Eva Margarita Núñez Blandin, y **mis hermanos (as)**, Henris Morazán, José Francisco Morazán, Nicol Morazán, Karen Morazán, familiares, primos y amigos por su apoyo incondicional en cada momento de mi vida.

A la **Universidad Nacional de Agricultura** que me acogió en sus instalaciones durante mi estadía de formación y por, ser parte, de esta noble institución. Al equipo de catedráticos que compartieron conocimientos dentro y fuera de los salones de clases.

MSc. Héctor Leonel Alvarado asesor principal por su apoyo, consejos y la confianza a cada momento en la realización de este trabajo, **PhD. Licza Padilla** y **MSc. Oscar Ovidio Redondo** por brindarme sus conocimientos y aportes científicos en esta investigación.

Asesores externos PhD. Joaquin Balcells Teres por orientarme en el ámbito científico y en inter personal, **MSc. Henris Jobany Morazán Núñez** por sus regaños y orientación que me han servido para forjarme como un mejor profesional, **MSc. Serajd Reza** por su tiempo, consejos sin obtener nada a cambio y al grupo de trabajo del Departamento de Producción Animal de la Universidad de Lleida “**ETSEA**” y Facultad de Veterinaria de Zaragoza por acogerme en sus instalaciones de trabajo durante mi estadía.

A mis compañeros y amigos de la **®** con quienes, compartí momentos inolvidables en la lucha para obtener el título en el grado de Ing. Agrónomo y a los que recordare siempre.

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE	iv
LISTA DE TABLAS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE ANEXOS	vii
ABREVIATURAS	viii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
2.1. Objetivo general	2
2.2. Objetivos específicos	2
III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.	3
3.1. La <i>Moringa oleífera</i> y su uso en la alimentación animal	3
3.2. Métodos de estimación de la degradabilidad y procesos digestivos.	4
3.3. Metodologías basadas en la producción de gas.	6
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	7
4.1. Localización del experimento procedimiento	7
4.2. Manejo de la investigación	7
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
5.1. Composición bromatológica de <i>Moringa oleífera</i> y heno de alfalfa.	13
5.2. Cinética de degradación de la materia seca.	14
5.3. Cinética de fermentación: Producción de gas.	16
VI. CONCLUSIONES	21
VII. RECOMENDACIONES	22
VIII. BIBLIOGRAFÍAS	23
ANEXOS	27

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Composición de la mezcla de hojas, vainas y semillas de moringa.....	3
Tabla 2. Distribución de los tratamientos en el proceso de incubación de las muestras de <i>Moringa oleífera</i> y heno de alfalfa.....	9
Tabla 3. Composición de la solución de incubación propuesto por Theodorou <i>et al</i> (1994).....	9
Tabla 4. Composición del tampón mineral utilizada en la técnica propuesta por Fondevila y Espés (2008).....	10
Tabla 5. Composición bromatológica de la <i>Moringa oleífera</i> y heno de alfalfa.....	13
Tabla 6. Degradación (%) de materia seca de la <i>Moringa oleífera</i> por corte y heno de alfalfa en diferente tiempo de incubación “ <i>in situ</i> ”	14
Tabla 7. Parámetros derivados del ajuste del modelo de Ørskov y Mc Donald (1978) a la degradación de la materia seca según fracción de los sustratos.	16
Tabla 8. Producción acumulada de gas (ml/g MS) para <i>Moringa oleífera</i> y heno de alfalfa.....	17
Tabla 9. Producción de gases (ml/g MS) obtenido de <i>Moringa oleífera</i> a diferentes cortes y heno de alfalfa, ajustados al modelo propuesto por Krishnarmoorthy et al (1995).....	18
Tabla 10. Concentración de ácidos grasos volátiles en los medios de cultivo de <i>Moringa oleífera</i> y heno de alfalfa.....	19
Tabla 11. Valores de energía metabolizable en la materia seca de <i>Moringa oleífera</i> y heno de alfalfa.....	20

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Producción de gas registrada a partir del periodo de incubación. Los resultados correspondientes a producción de cada uno de los sustratos (interacción tipo de sustrato x periodo de incubación).....	17

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Determinación de materia seca.....	28
Anexo 2. Determinación de cenizas.....	28
Anexo 3. Determinación de fibra neutro detergente.....	29
Anexo 4. Determinación de fibra ácido detergente.....	30
Anexo 5. Determinación de lignina.....	31

ABREVIATURAS

AGV.	Ácidos Grasos Volátiles	mg.	Miligramos
DE.	Degradabilidad Efectiva	MF.	Materia Fresca
EE.	Extracto Eterio	M ₃₀ .	Moringa 30 días de corte
EM.	Energía Metabolizable	M ₄₀ .	Moringa 40 días de corte
ESM	Error Estándar Medio	M ₅₀ .	Moringa 50 días de corte
FAD.	Fibra Acido-Detergente	MS.	Materia Seca
FND.	Fibra Neutro-Detergente	mm.	milímetros
g.	gramo	msnm.	Metros sobre nivel del mar
g/l.	Gramos / litros	O ₂	Oxígeno
HA.	Heno de Alfalfa	PB.	Proteína Bruta
HCl	ácido clorhídrico	T0	Tiempo cero
ha ⁻¹ /año	hectárea/año	ton.	Toneladas
ha ⁻¹ .	Hectárea	Tr.	Tratamiento
l.	litros	CO ₂	Dióxido de carbono
LAD.	Lignina	MO.	<i>Moringa oleífera</i>

Morazán Nuñez, J.L. 2013. Valor nutritivo de *Moringa oleífera* como recurso forrajero para rumiantes a partir de su degradabilidad “*in situ*” y producción de gas “*in vitro*” Tesis Ing. Agr. Catacamas, Honduras. Universidad Nacional de Agricultura 32 Pág.

RESUMEN

El objetivo fue evaluar la *Moringa oleífera* a diferentes edades de corte mediante las técnicas de degradabilidad *in situ* e *in vitro* para determinar su potencial forrajero en la alimentación de rumiantes. Las muestras de moringa procedieron de la Universidad Nacional de Agricultura, Honduras. El trabajo se realizó en el Departamento de Producción Animal de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (**ETSEA**) de la Universidad de Lleida y la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza (**UniZar**), España. Las muestras se molieron a 1 mm diámetro, determinando MS, PB, cenizas, FND, FAD, LDA, hemicelulosa, celulosa y EE. La moringa en los cortes a 30, 40 y 50 días no mostró diferencia significativa en el contenido de los componentes evaluados; FND, FAD, celulosa y LAD fueron mayores para el heno de alfalfa con respecto a la moringa, comportándose inversamente el EE. La degradación se realizó con el método *in situ* y la producción de gas y energía metabolizable mediante la técnica *in vitro* utilizando ovejas aragonesas, se analizaron en un cuadrado latino y pruebas de tukey y con paquete estadístico SAS 9.1.3. Las muestras se molieron a 2 mm de diámetro para la degradabilidad *in situ*, se encubo 2.5 g de muestras a los tiempos 0, 4, 8, 12, 24 y 48 horas. La degradación de la moringa no defirió en la desaparición entre cortes, los promedios fueron 66.3, 67.3 y 63.3 %, pero si con respecto al heno de alfalfa 43.4%. En la desaparición de MS según la fracción a lo largo del periodo de incubación no difirieron entre cortes de moringa y heno de alfalfa ($P>0.05$). La fracción soluble ‘a’, ritmo de degradación fraccional ‘c’ no mostro diferencia significativas entre cortes vs heno de alfalfa, y en la fracción potencialmente degradable ‘b’ no defirió entre cortes de moringa pero si al heno de alfalfa, para la velocidad de cambio ruminal mostro comportamiento similar entre los cortes de moringa pero superiores para el heno de alfalfa. La cinética de producción de gas en la hora 4 son similares para ambos sustratos, a partir de las 8 horas M_{30} y M_{40} son diferentes a M_{50} y HA manteniendo la tendencia hasta la hora 24 y donde la moringa resulta ser superior al heno de alfalfa. La producción de gas difirió entre tratamientos de moringa, sin embargo, los cortes M_{40} y M_{50} no difirieron al heno de alfalfa. El pH no fue alterado por el sustrato pero, si por el periodo de estudio en donde descendió de 7.02 en la hora cero para 6.91 en la hora 4, manteniendo la tendencia en el periodo de incubación. La concentración de AGV es similar entre los cortes de moringa y el heno de alfalfa, incrementado en las primeras 24 horas, manteniéndose constante hasta las 48 horas de incubación. Los valores medios de energía metabolizable no difieren estadísticamente entre los cortes de moringa.

Palabras claves: *Moringa oleífera*, heno de alfalfa, *in situ*, *in vitro*, degradabilidad y gas

I. INTRODUCCIÓN

En Honduras los recursos alimenticios para rumiantes son limitados, especialmente en lo que se refiere al aporte proteico, por ello, se utilizan suplementos que elevan los costos y que limitan el sistema de producción. La utilización de leguminosas arbustivas resultan ser una alternativa de bajo costo y alta adaptabilidad a las condiciones del trópico. La *Moringa oleífera* planta arbustiva de fácil manejo, rica en nutrientes, de excelente palatabilidad sin efectos tóxicos (Rocha y Mendieta, 1998) puede constituirse en un recurso forrajero idóneo para complementar las raciones animales.

Investigaciones realizadas por Reyes (2006), así como, por Alfaro y Martínez (2008), se determinó la composición química de *Moringa oleífera*, sin embargo, en América Latina existe muy poca exploración de su potencial como recurso forrajero; en Honduras no se reportan referencias de trabajos analizando de forma específica su valor nutritivo para rumiantes su degradabilidad y producción de gas.

El propósito de esta investigación fue determinar la composición química de la *Moringa oleífera* a diferentes edades de corte, su cinética de degradación y la degradabilidad efectiva de la materia seca mediante la técnica “*in situ*” y la producción de gas utilizando la técnica “*in vitro*” que permita establecer su concentración energética.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la *Moringa oleífera* a diferentes edades de corte mediante las técnicas de degradabilidad “*in situ*” e “*in vitro*” para determinar su potencial forrajero en la alimentación de rumiantes.

2.2. Objetivos específicos

- a) Determinar contenido de materia seca, proteína bruta, extracto etéreo, ceniza, fibra neutro-detergente, fibra ácido-detergente y lignina, en hojas de *Moringa oleífera* a diferentes edades de corte.
- b) Determinar la cinética de degradación y degradabilidad efectiva a partir de su desaparición según la técnica “*in situ*” en hojas de *Moringa oleífera* a diferentes edades de corte.
- c) Determinar la cinética de producción de gas y el valor en energía metabolizable utilizando la técnica de “*in vitro*” como medida de la fermentación ruminal de *Moringa oleífera* a diferentes edades de corte.

III. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

3.1. La *Moringa oleífera* y su uso en la alimentación animal.

La Moringa es un árbol originario del sur del Himalaya, noreste de la India, Bangladesh, Afganistán y Pakistán, su reproducción es sexual o asexual y ello ha permitido su diseminación desde los 0 a los 1800 msnm; en Centro América fue introducido en el año 1920 como planta de uso ornamental y cercas vivas. La moringa tiene un crecimiento rápido, su corona y tronco pueden llegar a poseer un diámetro de 20 a 30 cm, el primer corte de masa vegetativa se realiza entre los 5 y 6 meses de siembra y los subsiguientes a intervalos de 35 a 45 días, produciendo por corte aproximadamente 10 Ton de MF ha⁻¹ (FAO 2009).

En la alimentación animal las hojas de moringa pueden constituir un forraje completo, debido a su riqueza en proteína, vitaminas y minerales (Tabla 1), (Alfaro y Martínez, 2008, Moyo *et al*, 2011); en rumiantes y monogástricos, se ha observado una excelente palatabilidad, sin embargo, al iniciar la alimentación con moringa es posible que se requiera de un periodo de adaptación y mezclar con alimentos energéticos y ricos en fibras (Makkar y Becker, 1996, Urías, 2008 y Agrodesierto, 2013).

Tabla 1. Composición de la mezcla de hojas, vainas y semillas de moringa.

Descripción	100 gramos de MS
MS	86 g
Proteína	20.5 g
Grasa	27.2 g
Cenizas	2.9 g
Potasio	27.5 mg
Vitamina C	1.9 mg
Energía Metabolizable (EM)	950 KJ

Alfaro y Martínez (2008).

Trabajos realizados en vacas productoras de leche suplementadas con moringa en una relación hoja/tallo de 45:55, reportan un contenido nutricional de la muestra de 25% PB y una palatabilidad del 79%, confirmándose a la vez que al ofrecer este tipo de alimento mezclado con otros insumos se mantienen los niveles de producción (Foidl *et al* 2003). Por otra parte Rocha y Mendieta (1998) reportaron que la suplementación con moringa en porcentajes de entre 0.1 y 0.3 del peso vivo incrementó en un 13% la producción de leche, esto al utilizar una ración base compuesta por *Hyparrhenia rufa* y paja de sorgo, con un consumo aceptable de moringa; no se observaron efectos tóxicos o factor anti-nutricional que limitara los niveles de ingestión.

En vacas criollas suplementadas entre 2 y 3 Kg de moringa se encontró un incremento entre el 58 y 63 % en la producción de leche y entre 54 y 57 % en el contenido de grasa (Reyes *et al* 2006). Por otra parte, según Vélez *et al* (2002), Mendieta *et al* (2011), y Rodríguez (2012), la suplementación con moringa no altera las características organolépticas de la leche.

3.2. Métodos de estimación de la degradabilidad y procesos digestivos.

La determinación de la degradabilidad utilizando procedimientos con animales son complejos y no siempre están al alcance de todos los laboratorios, por ello como alternativa se han diseñado técnicas indirectas que permiten estimar dichos parámetros sin la complejidad experimental que requieren los métodos definidos como “*in vivo*” que siempre se utilizan como referencia. Este método fue propuesto inicialmente para determinar la fermentación ruminal y la digestión de carbohidratos (Van Keuren y Heineman 1962) y fue aplicado posteriormente a la estimación de la degradabilidad de la proteína dietética (Orskov y Menhrez 1977).

La técnica consiste en incubar muestras de 1 a 5 g de materia seca en bolsas de nylon, que son introducidas en el rumen a través de cánulas simples colocadas en el saco dorsal del rumen. Un mismo alimento es incubado en series de bolsas/tiempos que al ser recuperadas

y lavadas se determina la cantidad de sustrato que permanece en la bolsa. Con esta metodología es necesario asumir intrínsecamente que la desaparición del sustrato es equivalente su degradación microbiana Van Keuren y Heineman (1962).

La técnica “*in situ*”, se emplea comúnmente para evaluar la cinética de degradación ruminal de los diferentes alimentos; el método tiene la ventaja de ser rápido, sencillo y económico. Sin embargo, no siempre el alimento que desaparece de las bolsas corresponde al degradado ya que depende del tamaño, número y porosidad de la bolsas y que el alimento incubado no se vea sometido al proceso de rumia (Ayala *et al* 2003).

La degradabilidad en el heno de alfalfa a 48 horas de incubación expresa 68.2 % en su desaparición de materia seca (Jalilvand *et al*, 2008). En trabajos realizados en México por Martínez (2002), con leguminosas forrajeras, se encontraron en el gandul a 120 y leucaena a 50 días de corte, valores de fracción soluble de 17.9 y 19 %, fracción potencialmente degradable de 51.5 y 57.5 % y ritmo de cambio constante fraccional de 0.13 y 0.45 %, mostrándose así un mayor aprovechamiento en la alimentación de rumiantes.

Al establecer la cinética de degradación de un sustrato a lo largo de su incubación en el rumen es necesario determinar el tiempo medio que dicho sustrato permanecerá en el rumen y así determinar lo que se denomina como degradabilidad efectiva (DE). Orskov y McDonalds (1978), indican que los tiempos de incubación para forrajes de alta calidad es entre 24 a 72 horas y para forrajes de baja calidad 48 a 120 horas, sin embargo, en los casos de concentrados y suplementos proteicos los tiempos de retención se consideran mucho más cortos de entre 12 y 24 horas (Machado 2008 y Gutiérrez *et al* 2012).

El método “*in vitro*” ha sido utilizado ampliamente desde su introducción por Tilley y Terry (1980), considerado el procedimiento indirecto de referencia para la predicción de la digestibilidad en caso de los animales rumiantes. De acuerdo con Teodorou *et al* (1994) y Fondevila (2006) basan el equilibrio de pH a la acción de tampón bicarbonato y CO₂, lo que permite mantener un rango de 6.8 a condición ideal, durante la fermentación de

sustratos. El método ha sido modificado y adaptado al tipo de alimento (Navarro *et al*, 2011). Así como, los reactivos, el pH y el cual, mantiene un equilibrio en producción de ácidos grasos volátiles Alexander *et al* (2007).

3.3. Metodologías basadas en la producción de gas.

El método “*in vitro*” permite determinar la cinética de fermentación del alimento a través del volumen de gas producido durante el proceso fermentativo asumiendo un determinado tiempo en la producción de gas [CO₂+CH₄], siendo proporcional con los niveles de fermentación y producción de ácidos grasos volátiles (Theodorou *et al*, 1994 y Fondevila y Espéz (2008). Una de las ventajas de este procedimiento es que la evolución de la fermentación y el papel de los componentes solubles del sustrato pueden ser cuantificados.

El contenido en energía metabolizable (EM) se estima a partir de la ecuación propuesta por Krishnamoorthy *et al* (1995). La energía para el crecimiento microbiano se deriva de la fermentación de los carbohidratos, principalmente almidón y celulosa, cuya digestión anaeróbica produce ácidos grasos volátiles, dióxido de carbono, metano y trazas de hidrógeno.

La fermentación de la proteína y grasa en relación a la producción de gas es minoritaria (Posada y Noguera 2005), por lo tanto, para animales de alta producción se requiere que las dietas sean ricas en proteína para aumentar la eficiencia bacteriana (Relling y Mattioli 2003).

.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Localización del experimento procedimiento

El presente trabajo se realizó en el departamento de Producción Animal de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (**ETSEA**) de la Universidad de Lleida y la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza (**UniZar**), España. Las muestras de *Moringa oleífera* procedieron de la parcela experimental, ubicada en la Finca Agroecológica de la Universidad Nacional de Agricultura situada en la ciudad de Catacamas, Departamento Olancho, Honduras; la región presenta una temperatura media de 25°C, humedad relativa de 74%, una altitud de 350 msnm y la precipitación media anual es de 1300 mm.

Materiales y equipo

En la realización del trabajo se utilizó: ovejas con fistula ruminal, tijeras, botes plásticos, cinta métrica, cámara digital, bolsas de papel, bolsas de nylon, bolsas de plástico, charola de aluminio, bomba de vacío y el equipo del laboratorio de nutrición.

4.2. Manejo de la investigación

Manejo de muestras

La plantación de moringa con una edad de siete meses, fue podada a una altura entre 40 y 50 cm según recomendación FAO (2009). Las muestras compuestas por hojas, tallos tiernos y brotes nuevos se recolectaron a los 30, 40 y 50 días después de realizada la poda. La primera recolección se hizo al azar en la plantación, identificando las plantas para realizar las subsiguientes recolectas.

El tamaño de las muestras recolectadas fue de 1 Kg en materia fresca, fueron depositadas en bolsas de papel, transportadas inmediatamente al laboratorio, secadas a 50 °C por 48 horas, molidas a 2 mm de diámetro y almacenadas en botes estancos a temperatura controlada de 7 °C. Las muestras de alfalfa se recolectaron de un cultivo con 120 días de establecido y se les brindó el mismo manejo de las muestras de moringa.

Para el análisis químico (Anexos 1, 2, 3, 4 y 5) de las muestras se utilizaron tres replicas para cada material según época de corte, en donde el contenido de materia seca (MS), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), extracto de eterio (EE) y cenizas se analizó según el procedimiento propuesto por la AOAC (1990); la fibra neutra detergente (FND), fibra ácido detergente (FAD) y lignina (LAD) se analizó según el método propuesto por Van Soest *et al* (1991).

Degradabilidad “*in situ*”

Se utilizaron 4 ovejas de las raza Aragonesa con un peso de 71.2 ± 4.9 Kg, canuladas en el rumen a nivel de saco dorsal. Los animales se alojaron en jaulas individuales en ambiente controlado (19-22 °C) y las pruebas se realizaron en los meses de Julio y Agosto 2013. Los animales recibieron heno de alfalfa a voluntad y 0.25 kg día⁻¹ de alimento concentrado.

El estudio de la degradación de moringa y alfalfa se realizó utilizando la técnica propuesta por Ørskov y McDonald (1978); las bolsas de nylon de 16.5 cm x 10 cm, con un tamaño de poro 45 µm (Ayala *et al* 2003), fueron secadas a 60 °C por 24 horas, para luego depositar en ellas 2.5 de materia seca de las muestras de moringa y alfalfa a incubar.

En cada animal se incubaron 5 bolsas de un mismo tratamiento (tabla 2), fijadas a una cadena de acero inoxidable de 40 cm de largo y fueron retiradas de forma sucesiva a las 4, 8, 12, 24 y 48 horas de incubación; una bolsa adicional de cada tratamiento se sometió únicamente al proceso de lavado sin ser incubada en el rumen y se consideró como tiempo

cero (T 0). Al extraer las bolsas, fueron lavadas, secadas a 60 °C por 48 horas y pesadas según recomienda Ayala *et al* (2003).

Tabla 2. Distribución de los tratamientos en el proceso de incubación de *Moringa oleífera* y heno de alfalfa.

Oveja	Tratamiento			
	1	2	3	4
1	M ₃₀	M ₄₀	HA	M ₅₀
2	HA	M ₃₀	M ₅₀	M ₄₀
3	M ₅₀	HA	M ₄₀	M ₃₀
4	M ₄₀	M ₅₀	M ₃₀	HA

M₃₀ 30 días de corte; M₄₀ 40 días de corte; M₅₀ 50 días de corte, HA Heno de Alfalfa.

Incubación “*in vitro*” cinética de producción de gas

La incubación “*in vitro*” fue a partir del método propuesto por Theodorou *et al* (1994) modificado por Fondevila y Espés (2008) y Navarro *et al* (2011), (tabla 3); para ello se utilizaron botellas de vidrio de 160 ml con la abertura de 19 mm diámetro, cerradas con septos de butilo de 19 mm diámetro y 13 mm grosor provistos con cápsulas de aluminio de 20 mm diámetro.

Tabla 3. Composición de la solución de incubación propuesto por Theodorou *et al* (1994).

Solución	ml/l
Buffer	170 ml
Macro mineral	170 ml
Agua	425 ml
Líquido ruminal	200 ml
Reductor	35 ml

La mezcla se realiza siguiendo el orden descrito.

El día previo a la incubación, cinco replicas (botellas) se rellenaron con 600 mg de moringa y heno de alfalfa como sustrato, se prepararon las soluciones mineral y tampón cuya composición, descrita en la técnica original (Fondevila y Espés 2008) se presenta esquematizada en la tabla 4.

Tabla 4. Composición del tampón mineral utilizado en técnica propuesta por, Fondevila y Espés (2008).

Solución	g / l
Macrominerales	5,7g Na ₂ HPO ₄ 6,2g KH ₂ PO ₄ 0,6g MgSO ₄ ·7 H ₂ O Agua destilada (hasta completar 1 litro)
Tampón (pH neutro)	35g Na HCO ₃ 2g (NH ₄) HCO ₃ Agua destilada (hasta completar 1 litro)
Solución reductora*	8,86 g de L-Cisteína 45,71 ml de Na OH 1N, Agua destilada (hasta completar 1 litro)

*La mezcla se realizó según el orden descrito

En el proceso de incubación “*in vitro*” se utilizó como inóculo líquido de rumen proveniente de las ovejas utilizadas en el estudio de “*in situ*”; el líquido de rumen se extrajo a las 8:00 AM utilizando una bomba manual de vacío conectada a una sonda que se introdujo por la cánula, el líquido extraído se filtró con doble capa de gasa y se almacenó en botes de plástico, refrigerándose a -4 °C de forma previa a su transporte el cuál duraba en promedio 3 horas.

El día de incubación de las muestras, se procedió a preparar la solución de incubación a partir del procedimiento descrito en la tabla 4, para ello la solución de incubación compuesta por tampón mineral y líquido de rumen fue agitada y calentada hasta 38°C, bajo burbujeo constante de CO₂ entre 25 y 30 minutos, se añadió el agente reductor L-Cisteína se esperó por 10 minutos para luego proceder a depositar 100 ml de solución en las botellas pírrex. En el trasvase, las soluciones de incubación se mantuvieron en anaerobiosis mediante burbujeo constante con CO₂.

Al finalizar el trasvase de las soluciones a las botellas, estas fueron selladas mediante los septos de butilo y cápsulas de aluminio en presencia de flujo constante de CO₂, se liberó la presión mediante punción con aguja hipodérmica a través del septo, luego se agito la

botella y se procedió a iniciar la incubación a 39 ± 1.0 °C en baño de agitación (60 agitaciones/min) durante 48 horas.

En el periodo de incubación (48 horas) se determinó la producción de gas a partir de la presión (mBAR) existente en el espacio de cabeza con un manómetro portátil (DELTA OHM, Caselle di Selvazzano, Italia) provisto de una sonda (TP704). Las determinaciones se realizaron a las 0, 4, 8, 12, 24 y 48 horas de incubación. Una vez determinada la presión se liberó el gas producido y se restauró la presión atmosférica.

Las réplicas correspondientes a la fase líquida de cada sustrato fueron abiertas para ser cuantificada y muestreadas de forma respectiva a las 0, 24 y 48 horas, para ello, se procedió al agitado suave del medio de incubación, se determinó inmediatamente el pH, el contenido de las botellas se filtró a través de un tamiz de 1 mm diámetro y de la parte líquida se tomó 4 ml para ser mezclada con 1 ml de la solución conservante (2 g/l de cloruro de mercurio, 20 ml/l ácido orto fosfórico y 2 g/l ácido 4-metilvalérico en agua destilada) la mezcla fue congelada a -20°C para posteriormente determinar, la concentración de ácidos grasos volátiles en las muestras.

Cálculos y análisis estadístico.

Los datos de degradabilidad “*in situ*” e “*in vitro*” se analizaron con un diseño cuadrado latino (4 x 4) mediante el paquete estadístico SAS 9.1.3. (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Las cinéticas de degradación de MS se estimaron ajustando a los resultados obtenidos el modelo propuesto por Ørskov y Mehrez (1977):

$$P = a + b (1 - \exp(-ct))$$

P la degradabilidad potencial de la MS al tiempo ' t '

' a ' es la fracción soluble ($t=0$)

' b ' la fracción insoluble pero potencial degradable

' c ' el ritmo fraccional de degradación.

' t ': tiempos de incubación

$a + b$ = degradación máxima potencial

La degradabilidad efectiva (DE) se determinó a partir del mismo procedimiento mediante el modelo propuesto por Orskov y McDonalds (1978):

$$DE = a + bc/(c+k) \cdot \exp(-(c+k)t)$$

' k ' representa el ritmo fraccional de degradación; con valores de 0.06 y 0.08.

Los valores "*in vitro*" de presión se transformaron a volumen de gas, utilizando una función lineal a partir de la presión generada con volúmenes de aire conocidos a 5, 10, 15, 20 y 30 ml en botellas de cristal que contenían 100 ml de solución, de esta forma la ecuación que se obtuvo fue la siguiente:

$$y = (15.721x + 10.576)/15.721$$

' x ' el volumen de gas en ml

' y ' la presión en mbar

$R^2 = 0.9987$

El contenido en energía metabolizable (EM) de los diferentes sustratos se estimó a partir de la ecuación propuesta por Krishnamoorthy *et al* (1995):

$$EM \text{ (Mcal)} = 2,2 + 0,1357 PG + 0,0057 PB + 0,0002859 EE^2$$

PG = Producción de gas

PB = Proteína bruta

EE^2 = Extracto eterio

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Composición bromatológica de *Moringa oleífera* y heno de alfalfa.

Los resultados analíticos de moringa y heno de alfalfa se encuentran en la tabla 5, donde se observa que los valores medios en contenido de MS son similares para los tres cortes de moringa pero, inferior con respecto a heno de alfalfa. El contenido medio de PB fue similar entre cortes de moringa, sin embargo, el corte M₄₀ muestra un valor comparable al heno de alfalfa.

Los valores de la concentración media de ceniza, FND, FAD, celulosa y LAD fueron mayores para el heno de alfalfa con respecto a la moringa, comportándose inversamente el EE. La hemicelulosa obtenida por la diferencia entre la FND y FAD se mostró heterogénea entre cortes de moringa, mostrando mayores concentraciones en M₃₀ y M₅₀. El heno de alfalfa muestra valores más altos en estos componentes de la planta cuando es comparado con moringa.

Tabla 5. Composición bromatológica de la *Moringa oleífera* y heno de alfalfa.

Sustratos	MS	PB	Ceniza	FND	FAD	Hemi-celulosa	Celulosa	LAD	E. E.
M ₃₀	25.57	20.08	8.65	19.96	9.82	10.14	8.17	1.65	4.27
M ₄₀	25.67	21.01	9.17	17.67	8.69	8.98	7.18	1.51	5.26
M ₅₀	26.13	20.39	9.03	19.27	8.83	10.44	7.52	1.31	5.22
HA	13.24	21.08	9.7	28.52	19.76	8.76	15.55	4.21	2.28

Composición bromatológica de la MS (g/100 g MS) de M₃₀ 30 días de corte; M₄₀ 40 días de corte; M₅₀ 50 días de corte; HA Heno de Alfalfa. MS Materia Seca, PB proteína bruta, FND Fibra Neutro-detergente, FAD Fibra Acido-detergente, Lignina, E.E. Extracto de Eterio.

Los valores encontrados en este estudio para PB, FND, FAD, ceniza y EE siguiendo el método propuesto por Van Soest (1991), son similares a los reportados por Makkar y Becker (1996), Urías (2008) y Rodríguez (2012), quienes utilizaron el mismo tipo de muestras y con estadio vegetativo similar al evaluado. Trabajos de investigación utilizando muestras de hojas de moringa reportan valores superiores para FND y FAD al realizar cortes mayores a 50 días (Reyes *et al* 2006), entre tanto, Moyo *et al* (2011) encontró mayor contenido de PB y menores valores para ceniza, FND, FAD y celulosa.

Al considerar los valores encontrados para la moringa en esta investigación, se puede afirmar que constituye en excelente alimento para animales, coincidiendo con lo expresado por Foidl *et al* (2003) quien reporta 25% PB, y una palatabilidad del 79%, esto en concordancia con Reyes *et al* (2006), Alfaro y Martínez (2008) y Agrodesierto (2013).

5.2. Cinética de degradación de la materia seca.

La degradación de materia seca en relación al tiempo de incubación para moringa a diferentes cortes y heno de alfalfa se presenta en la tabla 6. La degradación de moringa no difirió estadísticamente entre cortes, en donde los promedios de desaparición fueron 66.3, 67.3, y 63.3%, sin embargo, existe diferencia ($P < 0.05$) con respecto al heno de alfalfa (43.4%). La tasa de degradación de los sustratos difirió de la degradación inicial a partir de las 4 horas, sin mostrar diferencias en degradación en el periodo comprendido entre las 24 y 48 horas.

Tabla 6 Degradación (%) de materia seca de la *Moringa oleífera* por corte y heno de alfalfa de acuerdo al tiempo de incubación “*in situ*”

Sustratos	Tiempo de Incubación (h) %						ESM
	0	4	8	12	24	48	
M₃₀	28.1	51.1	65.1	76.6	87.6	89.4	3.53
M₄₀	28.0	50.2	65.3	81.1	89.0	90.3	
M₅₀	26.7	48.1	59.5	70	86.6	89.5	
HA	16.0	34.3	41.4	47.8	58.9	61.9	

Porcentaje de tiempo de incubación de M₃₀ 30 días de corte; M₄₀ 40 días de corte; M₅₀ 50 días de corte, HA Heno de Alfalfa. ESM Error Estándar de la Muestra.

La tasa de degradación similar mostrada por la moringa en los tres cortes en las diferentes horas de incubación se podría ser explicada en parte por la semejanza en la composición bromatológica (Tabla 5). La mayor degradación de MS de la moringa respecto a heno de alfalfa, estaría relacionada a la mayor concentración de constituyentes lentamente degradables del heno como ser la FAD, celulosa y LAD; (Tabla 5). Las fracciones de PB, EE y hemicelulosas son rápidamente degradables y explican la mayor tasa de degradación hasta la hora 24, para posteriormente ser más lenta, debido a degradación de la celulosa.

Gutiérrez *et al* (2012) trabajando con muestras de moringa en Nicaragua reporta valores similares de degradación de la MS (64.85%), además reporta que la degradación de este material ocurre entre las primeras 12 y 24 horas de incubación “*in situ*”; comportamiento similar al encontrado en esta investigación. La alta degradabilidad de este forraje puede resultar en un proceso digestivo ineficiente, en especial cuando no existe un sincronismo con los niveles de energía aportados por la ración (Orskov y McDonalds 1978).

Los datos de degradación “*in situ*” de moringa obtenidos en este trabajo resultan ser similares con los encontrados en algunas leguminosas existentes en el trópico. Machado (2008) reporta que la *Gliricidia sepium* y la *Eritrina poeppigiana* presentan valores de degradabilidad de 64.68 y 67.58 % respectivamente. En lo que corresponde al heno de alfalfa los valores obtenidos en tiempos de incubación y degradación de materia seca son similares a los reportados por Jalilvand *et al* (2008).

Los valores medios de desaparición de la materia seca según la fracción para cada sustrato a lo largo del periodo de incubación se muestran en la tabla 7. La desaparición de la materia seca no difirió estadísticamente entre cortes de moringa y heno de alfalfa ($P > 0.05$). La fracción soluble “a” y el ritmo de degradación fraccional “c” no mostro diferencia significativa entre cortes de moringa y heno de alfalfa (efecto tratamiento: $P > 0.05$). La fracción potencialmente degradable “b” no difirió entre cortes de moringa ($P > 0.05$), pero si respecto al heno de alfalfa ($P < 0.05$).

Tabla 7. Parámetros derivados del ajuste del modelo de Ørskov y Mc Donald (1978) a la degradación (%) de la materia seca según fracción de los sustratos.

Materia Seca.	a	b	c	DE (0.06)	DE (0.08)
M₃₀	27.5	63.6 ^a	0.10	59.8 ^a	59.7 ^a
M₄₀	26.8	65.5 ^a	0.12	61.5 ^a	61.4 ^a
M₅₀	26.3	66.8 ^a	0.12	56.0 ^a	55.9 ^a
HA	16.4	47.6 ^b	0.11	38.8 ^b	38.8 ^b
ESM	3.59	3.62	0.02	3.47	3.46
P Valor	0.12	<.01	0.90	<.01	<.01

M₃₀ 30 días de corte; M₄₀ 40 días de corte; M₅₀ 50 días de corte, HA Heno de Alfalfa. “a” fracción soluble (mediante bolsas de Nylon). “b” fracción potencial mente degradable, “c” ritmo de cambio constante ficcional de la fracción b. DE (0.06) porcentaje de degradabilidad MS total para un ritmo de paso 0.06/h, NL/F. DE (0.08) porcentaje de degradabilidad de la MS para el ritmo de paso 0.08, UK. Letras distintas en columna indican diferencias significativas ente tratamientos de moringa y heno de alfalfa (P < 0.05).

Los valores de la degradabilidad efectiva de la materia seca (tabla 7) para las constantes de velocidad de recambio ruminal (k 0.06 y k 0.08) mostraron comportamiento similar entre los cortes de moringa (P>0.05) pero, superiores al heno de alfalfa (P< 0.05), lo cual puede ser atribuido a que este último presenta valores más altos en FDA y LDA.

Martínez (2002) al evaluar gandul a 120 días de corte y leucaena a 50 días de corte, encontró valores para la fracción soluble de 17.9 y 19 %, para la fracción potencial mente degradable de 51.5 y 57.5 % y para el ritmo de cambio constante ficcional de 0.13 y 0.045 % respectivamente. Mostrando una menor degradabilidad que la moringa.

5.3. Cinética de fermentación: Producción de gas.

Efecto del tipo de sustrato en la producción de gas.

La producción acumulada de gas para moringa y heno de alfalfa a lo largo del periodo de incubación se presenta en la tabla 8. Las producciones de gas a la hora 4 resulta ser similares para ambos sustratos, a partir de la hora 8 en los cortes M₃₀ y M₄₀ son diferentes (P < 0.05) a M₅₀ y heno de alfalfa, manteniendo esta tendencia hasta la hora 24 (figura 1) donde la moringa resulta ser superior al heno de alfalfa.

Tabla 8. Producción acumulada de gas (ml/g MS) para *Moringa oleífera* y heno de alfalfa

Sustratos	Periodo de incubación %				
	4	8	12	24	48
M30	40.9	79.2	106.5	156.7	176.8
M40	46.4	82.2	107.8	147.8	171.5
M50	34.6	59.9	85.8	127.5	153.0
HA	25.1	50.7	75.1	104.7	117.6

M₃₀ 30 días de corte; M₄₀ 40 días de corte; M₅₀ 50 días de corte; HA Heno de Alfalfa.

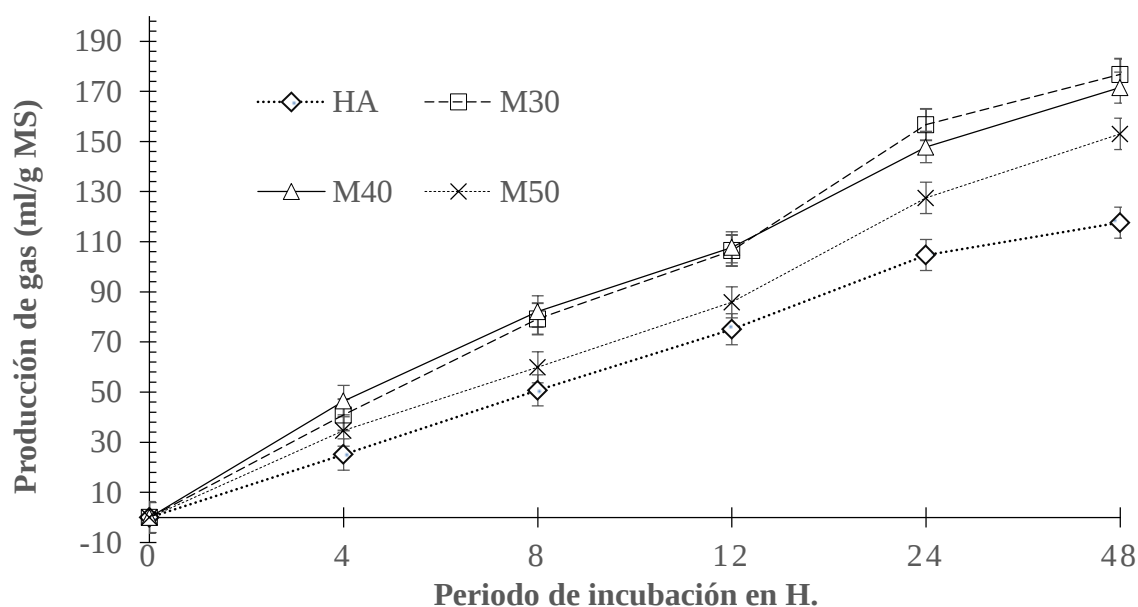


Figura 1. Producción de gas (ml/g MS) registrada a partir del periodo de incubación. Los resultados corresponden a producción de cada uno de los sustratos (Interacción tipo de Sustrato x Periodo de incubación).

Los valores medios de producción de gas ajustados al modelo propuesto por Krishnarmoorthy *et al* (1995): $Y = a(1 - e^{-b(t-c)})$. Se presentan en la tabla 9 la producción potencial de gas difirió entre tratamientos ($P < 0.05$), mostrando un potencial similar en los cortes de moringa ($P > 0.05$), sin embargo, los cortes M₄₀ y M₅₀ no difirieron del heno de alfalfa ($P > 0.05$), quien mostro el menor potencial de producción de gas.

Tabla 9: Producción de gases (ml/g MS) obtenido de Moringa oleífera a diferentes cortes y heno de alfalfa, ajustados al modelo propuesto por Krishnarmoorthy et al (1995).

Constante	Tratamiento					
	M ₃₀	M ₄₀	M ₅₀	HA	ESM	P valor
a	183.6 ^a	176.4 ^{ab}	164.2 ^{ab}	122.1 ^b	11.26	0.03
b	0.080	0.078	0.066	0.086	0.01	0.55
c*	0.680 ^{ab}	-0.048 ^b	0.387 ^{ab}	1.062 ^a	0.19	0.03

“a” potencial de fermentación, “b” velocidad de reacción, “c” tiempo de retraso. * Valores negativos de “c” significan que no existe tiempo de retraso y el proceso de fermentación comienza inmediatamente. Letras distintas en columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) para cortes de moringa y heno de alfalfa. ESM: Error estándar de la media.

El potencial de fermentación y velocidad de reacción de la producción de gas no difirió entre los cortes de moringa ($P > 0.05$), para el tiempo de retraso se encontró diferencia entre tratamientos ($P < 0.05$), el mayor tiempo de retraso lo mostro heno de alfalfa quien se comportó de forma similar al M30 y M50 ($P > 0.05$). El menor tiempo de retraso corresponde al M40, manifestándose en forma negativa, lo que implica la fermentación inmediata del sustrato, lo cual podría estar relacionado a mayor contenido de proteína y menores valores de FDA.

Es interesante hacer notar que aun cuando los valores de contenido de proteína para la moringa y heno de alfalfa son similares este último presenta menor producción de gas lo cual podría ser explicado por mayores valores de FND, FAD, celulosa, LAD y menor valor de extracto de eterio, lo que implica mayor tiempo de incubación para expresar su potencial coincidiendo de alguna manera con lo descrito por Posada y Noguera (2005).

Producción de ácidos grasos volátiles.

El valor medio de pH no fue alterado por el tipo de sustrato ($P > 0.05$) al comparase con el blanco negativo (tabla 10). La evolución del pH de incubación fue modificada por el periodo de estudio ($P < 0.05$), independientemente del sustrato evaluado, en donde descendió de 7.03 en la hora cero para 6.85 en la hora 24, para luego mantener una evolución constante en el tiempo, lo cual es fundamental para mantener las condiciones del rumen en la fermentación adecuada de los alimentos.

Tabla 10. Concentración de ácidos grasos volátiles en los medios de cultivo de *Moringa oleífera* y heno de alfalfa.

Parámetros	Sustratos (S)					ESM	Periodo de Incubación (Horas)			ESM
	M ₃₀	M ₄₀	M ₅₀	HA	Blanco		0	24	48	
pH	6.87	6.87	6.89	6.93	6.92	0.02	7.03 ^a	6.85 ^b	6.85 ^b	0.03
AGV, Mm	31.1	35.8	33.0	30.1	24.7	2.12	13.8 ^b	37.2 ^a	41.9 ^a	1.69
AGV, mol/100 mol										
Acetato	64.3	63.6	64.5	64.6	64.8	0.55	66.3 ^a	64.0 ^b	62.7 ^b	0.46
Propionico	20.2	20.8	20.1	20.0	18.6	0.64	17.1 ^b	21.6 ^a	21.2 ^a	0.53
Butírico	10.5	10.6	10.7	10.4	11.0	0.59	11.7 ^a	9.7 ^b	10.5 ^b	0.56
Ace/prop	3.3	3.1	3.3	3.3	3.6	0.11	3.9 ^a	3.0 ^b	3.0 ^b	0.09

Concentración de AGV mol/100 mol. M₃₀ 30 días de corte; M₄₀ 40 días de corte; M₅₀ 50 días de corte; HA Heno de Alfalfa. Letras distintas en columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$) para cortes de moringa y heno de alfalfa. ESM Error Estándar de la Muestra.

El comportamiento del pH mostrado por la moringa y el heno de alfalfa en esta investigación se mantuvo cerca de 6.8 considerado como una condición ideal durante la fermentación de sustratos fibrosos, como lo describe Teodorous *et al* (1994) y Fondevila (2006) para quienes el equilibrio del pH se fundamenta en la acción tampón del bicarbonato y CO₂.

La concentración media de AGV es similar entre los cortes de moringa, así como entre el heno de alfalfa ($P > 0.05$). La concentración de AGV incremento para los tratamientos en las primeras 24 horas ($P < 0.05$), manteniéndose constantes hasta las 48 horas. Las proporciones molares de acético, propionico, butírico y relación acético/propionico, no defirieron entre cortes de moringa, ni con respecto al heno de alfalfa.

La proporción molar de acético, propionico y butírico fue modificada por el periodo de incubación ($P < 0.05$), reduciéndose para el acético y butírico a partir de la hora 24 ($P < 0.05$), para mantenerse posteriormente constantes ($P > 0.05$), similar comportamiento mostró la relación acético/propionico. El propionico se comportó en sentido opuesto del acético y butírico.

Al relacionar el pH y la producción de AGV que permite la incubación de moringa y el heno de alfalfa, así como, el trabajo de Alexander *et al* (2007), se puede observar las bondades de estos materiales en mantener las condiciones adecuadas para una flora ruminal saludable, concordando con lo expresado por Relling y Mattioli (2003), en especial la moringa como un material alternativo para la alimentación de rumiantes en condiciones tropicales.

Los valores registrados de energía metabolizable (EM) se presenta en la tabla 11, los valores medios no defirieron estadísticamente entre cortes de moringa ($P>0.05$), concordando con los trabajos realizados por Makkar y Becker (1996), Urías (2008) y Rodríguez (2012). Al observar los datos de EM para los diferentes cortes de moringa encontrados en este trabajo parece existir una tendencia a disminuir a medida que el follaje envejece, lo cual estaría relacionado con el corto periodo de senescencia de este tipo de material.

Tabla 11. Valores de energía metabolizable en la materia seca de *Moringa oleífera* y heno de alfalfa.

Tratamiento	EM (Mcal /kg)	ESM
M ₃₀	2.6 ^a	0.12
M ₄₀	2.5 ^a	
M ₅₀	2.3 ^{ab}	
HA	1.9 ^b	

M₃₀ 30 días de corte, M₄₀ 40 días de corte, M₅₀ 50 días de corte, HA Heno de Alfalfa. Letras distintas entre fila indican diferencias significativas ($P < 0.05$) para cortes de moringa y heno de alfalfa. ESM error estándar de la muestra.

VI. CONCLUSIONES

La determinación del valor nutricional de *Moringa oleífera* en los cortes a 30, 40 y 50 días no mostro diferencia en contenido de materia seca, proteína bruta ceniza, fibra acido detergente, fibra neutra detergente, hemicelulosa, celulosa, lignina y extracto etéreo.

La degradación efectiva de moringa no difirió entre cortes y mostro similar tasa de desaparición de materia seca en el periodo comprendido entre 24 y 48 horas de incubación.

La producción ácidos grasos volátiles en la moringa a los 30, 40 y 50 días de cortes se comportó de manera similar hasta la hora 4 de incubación, a partir de la hora 8 M₃₀ y M₄₀ muestra, una producción superior a M₅₀, manteniendo esta tendencia hasta la hora 24.

La concentración de ácido acético y butírico se redujo a partir de la horas 24 de incubación, para mantenerse posteriormente constantes hasta las 48 horas; el ácido propionico se comportó en el sentido inverso. La relación acético/propionico muestra una tendencia similar a la que mostro acetato y butirato.

El contenido de los valores medios de energía metabolizable no difirió estadísticamente entre los cortes moringa, mostrando una tendencia a disminuir a medida que el follaje envejece.

VII. RECOMENDACIONES

El alto contenido nutricional de los tallos, hojas y brotes tiernos de *Moringa oleífera* así como, el porcentaje de degradación de la materia seca permite recomendar como un alimento para rumiantes, reduciendo el uso de alimentos concentrados mejorando la eficiencia de las explotaciones y contribuyendo con el medio ambiente.

En base a los resultados de esta investigación se recomienda realizar los cortes o podas en la plantación de moringa cada 40 días, ya que, permite obtener una mayor producción de forraje y un mejor aprovechamiento del mismo por parte de los animales.

Realizar investigaciones de campo alimentando animales productores de leche y/o carne con tallos, hojas y brotes tiernos de *moringa oleífera* cortados a los 30, 40 y 50 días para evaluar su rentabilidad en las explotaciones.

VIII. BIBLIOGRAFÍAS

Agrodesierto. 2013. Programa Agroforestales *Moringa oleífera*. (En línea). Citado el 15 de julio del 2013, disponible WWW. Agrodesierto.com.

Alexander, G; Singh, B; Sahoo, A; Bhat, TK. 2008. *In vitro* screening of plant extracts to enhance the efficiency of utilization of energy and nitrogen in ruminant diets. *Animal feed Science and technology* 145: 229-244

Alfaro V, C.A; y Martínez, WW. 2008. Uso Potencial de la Moringa (*Moringa oleífera* Lan) para la producción de Alimento Nutricionalmente mejorados, 1 ed. Talleres Gráficos Serviprensa, S.A (en línea). Guatemala. Citado 9 de abril del 2013, Disponible

Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1990. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemist. 15th edición, Arlington, VA, USA

Ayala B, AJ; Rosado R, CM; Capetillo L, CM; y Sandoval C, CA. 2003. Evaluation of bag rinsing procedures (manual vs machine) in the *in situ* ruminal degradation technique. *Técnico. Pecuaria México* 41(3): 337-342

FAO; (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT). 2009. Agroforestería para la producción Animal en Latinoamérica (en línea) Nicaragua. Citado 9 de abril del 2013, disponible www.fao.org/waicent/faoinfo/agricult/

Foidl, N; Mayorga, L; y Vásquez, N; 2003. Utilización de moringa (*Moringa oleífera*) como forraje fresco para ganado. *Animal Producción and Health Paper*, 341-350.

Fondevila, M. 2006. “Sistema sencillo de fermentación in vitro con flujo discontinuo de las fases líquida y sólida”. Patente nº P200600043. Oficina española de patentes y marcas (Ministerio de Industria, Turismo y Comercio).

Fondevila, M; Pérez E, B. 2008. A new *in vitro* system to study the effect of liquid phase turnover and pH on microbial fermentation of concentrate diets for ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 144, 196-211

Gutiérrez, P; Rocha, L; Reyes S, N; Paredes, V; Mendieta, AB. 2012. Ruminal Degradation Rate of *Moringa oleífera* Foliage in Reyna cattle using *in Saco* technique. *Rev. Cien. La Calera*. 12: 37-44

Jalilvand, G; Naserian, A; Kebread, E; Odongo, N.E; Valizadeh, R; Efetekhar S, F; López, S. y France, J. 2008. Rumen degradation kinetics of alfalfa hay, maize silage and wheat straw treated with fibro lytic enzymes. *Fac. De Vet. Univ. Leon, España* 57(218): 155-164

Krishnamoorthy, U; Soller, H; Steingass, H; Manke, KH. 1995. Energy and protein evaluation of tropical feedstuffs for whole tract and ruminal digestion by chemical analyses and rumen inoculum studies *in vitro*. *Animal feed Science and technology* 52: 177-188.

Machado P.F 2008. Degradación *in situ* de materias primas usadas en la alimentación bovina tesis Lic. Ing Agrn. Catacamas HN Univ. Nacional de Agricultura. p 5. 14 de abril del 2013.

Makkar S, HP; y Becker. 1996. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleífera*. *Animal. Feed science technology* 63:211-228

Martínez P. R. 2002. Caracterización nutricional del (*gandul cajanus cajan*) basado en sus componentes químicos, desaparición *in situ* y cinética digestiva. *Tes. MSc. Cien. Pec. Mex. Univ. De Colima*, p 40.

Moyo, B; Masika, PJ; Hugo, A; y Muchenje, V. 2011. Nutrition characterization of *Moringa (Moringa oleífera Lam)* leaves. *African Journal of Biot.* 10: 12925-12933

Navarro, CA; Díaz, JC; y Cuellar E, RM. 2011. Comparación de la Técnica de Digestibilidad *in vitro* con la *in situ* de diez forrajes en Bovinos rumino-fistulados en piedemonte llanero del meta. *Revisit sist prod agroecol.* 2: 2-24

Orskov, ER; y McDonalds, I. 1978. The estimation of protein degradability in the rumen for incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science (G.B.)* 92: 499-503

Orskov, ER; y Mehrez, AZ. 1977. Estimation of extent of protein degradation from basal feeds in the rumen of sheep. Proc. Nut. Soc. 36:78

Posada, SL; y Noguera, RR. 2005. Técnicas *in vitro* de producción de gas una herramienta para la evaluación de alimentos para rumiantes. Livestock Research for Rural Development, 17(4).

Relling, AE; Mattioli, GA. 2003. fisiología digestivo y metabólica de los rumiantes facultad de Veterinaria Universidad Nacional de la Planta, p 43.

Reyes, N; Ledin, S; Ledin, I. 2006. Biomass Production and Chemical composition of *Moringa oleifera* under different planting densities and cutting frequencies in Nicaragua. Agro. Systems. 66: 231-242

Reyes S, N; Spornly, E; y Ledin, I. 2006. Effect of feeding different levels of foliage of *Moringa oleifera* to creole dairy cows on intake, digestibility milk production and composition livestock Science 101: 24-31

Rocha ME; y Mendieta, B. 1998. Efecto de la suplementación con follajes de *M. oleífera* sobre la producción de la leche de vacas en pastoreo, Tesis Ing. Agrónomo Facultad de ciencias Animal de la universidad Nacional Agraria, Managua, Nicaragua.

Rodríguez, R. 2012. Alimentación de Vacas Lecheras con *Moringa oleífera* fresca o ensilado y su efecto sobre la producción, composición y calidad de la leche. Tesis Lic. Agro.y Desar. Sostén. Managua, Nicaragua Universidad Nacional Agraria, p 22

Theodorou, MK; Williams, BA; Dhanoa, MS; McAllan, AB; France, J; 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology 48: 185-197

Tilley J M and Terry R A. 1980. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. En: This Week's Citation Classic. 15: 1

Urías, G. 2008. Morango (*Moringa oleífera*) alimento ecológico para ganado vacuno, porcino, equino, aves y peces alimentación humana, también para la producción de etanol y biodiesel. Corporación Eco. Agro. SA. Colombia. Citada el 28/8/13 Disponible en <http://nestorbbird.blogspot.es/1252600785/-marango>

Van Keuren, RW; y Heinemann, WW. 1962. Study of a nylon bag technique for in vivo estimation of forage digestibility. J ANIM SCI, 21: 340-345.

Van Soest, PJ; Robertson, JB; Lewis, BA. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science 74: 3583-3597.

ANEXOS

Anexo 1. Determinación de materia seca.

Objetivo

La materia seca se determina representando los residuos inorgánicos de una muestra después de la combustión en un horno mufla.

Materiales

Charolas, pinzas metálicas, horno de mufla ajustable a 103 - 105 °C, desecador de gel de silicio y balanza analítica.

Procedimiento

- a) Se calienta la estufa a 103- 105 °C, durante un mínimo de 30 minutos.
- b) Pasado este tiempo, se tara las charolas (T), se añade 2 -3 g muestra y se pesan (T + PM). Se hará 3 réplicas para cada muestra a analizar.
- c) Se introducen las charolas llenas en el horno mufla 103- 105 °C, durante 24 horas.
- d) Pasado el tiempo se enfrían las charolas con el residuo al desecador durante 30 minutos y se pesan (T + C).

$$\% \text{ materia seca} = \frac{(T + C) - T}{(T + PM) - T} \times 100$$

Anexo 2. Determinación de cenizas

Objetivo

Las cenizas representan los residuos inorgánicos de una muestra después de la combustión en un horno mufla.

Materiales

Capsula de porcelana, que resistan 600 °C, pinzas metálicas, horno de mufla ajustable a 535-560 °C, desecador, balanza analítica

Procedimiento

- e) se calcina las cápsulas en el horno mufla a 550 °C, durante un mínimo de 15 minutos. se dejan reposar en un desecador durante una hora.
- f) Pasado este tiempo, se tara las cápsulas (T), se añade 2 -3 g muestra y se pesan (T + PM). Se hará 3 réplicas para cada muestra a analizar.
- g) Se introducen las capsulas llenas en el horno mufla 550 °C, durante 3 horas, arranca el extractor de humos y se deja abierta la puerta de horno mufla durante los primeros 15 minutos.

- h) Pasadas las 3 horas, se enfrían las cápsulas con el residuo al desecador durante 1 hora y se pesan (T + C).

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(T + C) - T}{(T + PM) - T} \times 100$$

Anexo 3. Fibra neutro detergente

Objetivo

Van Soest (1965) define la fibra neutra detergente (FND) con el residuo que queda después de tratar una muestra con una solución de EDTA, sulfato lauril sódico y fosfato disódico. Este residuo corresponde principalmente a una fracción de lignina, celulosa, hemicelulosa y minerales.

Materiales

Bolsitas filtrante ANKOM F75, aparato de digestión ANKOM FIBER analizar, Bolsas Balanza, selladora por calor, estufa regulada a 102 ± 15 °C, horno de mufla regulada a 600 ± 15 , desecador, baso de precipitado y pinzas.

Reactivos

Solución neutra detergente: 60 g de sulfato lauril sódico (SDA), 37.2 g EDTA, 13.6 g de tetraborato sódico 10 hidrato, 9.2 g de fosfato disódico, 20 ml de trietilenglicol (antiespumante). Disolver la SDA en un recipiente de 2000 ml con aprox. 800 ml de agua destilada caliente y en un recipiente de 1000 ml disolver el resto de componentes menos el antiesculant. Cuando estén disueltos mezclar los dos en el recipiente de SDS de 2000 ml y añadir el antiespumante. Comprobar que el pH que debe estar entre 6.8 y 7.1 (no lo está, se debe ajustar con sosa ac. sulfúrico) y finalmente enrasar a 2000 ml.

Acetona, alfa amilasa, sulfito sódico anhídrido

1. Preparación de la muestra.
 - a. En caso de utilizar el procedimiento secuencial para la determinación seguir el protocolo desde el punto 2.
 - b. Rotular debidamente las bolsitas a utilizar (3 por cada muestra a analizar)
 - c. Pesar los bolsos (Tb).
 - d. Pesar aproximadamente 0.5g de muestra directamente a la bossa (Tb + m).
 - e. Sellar por calor a 4 mm de la parte superior, teniendo cuidado de que la parte interior de la bolsita está limpia para garantizar el sellado.
2. Colocar las bolsitas en las bandejas del aparato. Las 9 bandejas se utilizan independientemente de n de bolsas que se procesen. Antes de meter las bandejas, si la temperatura del interior del aparato es alta, enfriar con agua.
3. Cuando se analizan 24 bolsas, se utilizan 1900-2000 ml de la solución ácida detergente. Si son menos de 20 bolsas añadir 100 ml / bolsa utilizar un mínimo de 1500 ml.
4. pulsar AGITATE Y HEAT Y confirmó que se esté agitando. Cerrar la tapa y extraer durante 60 minutos.

5. Cuando termina el extracción, primero AGITATE y HEAT. Abrir la llave de evacuación (lentamente al principio) y sacar total la solución antes de abrir la tapa.
6. Cerrar la llave de evacuación y añadir 1900 ml de agua destilada caliente (50 a 90 °C). primero agítate y lavar durante 5 minutos. Repetir los lavados un total de tres veces. La tapa se puede cerrar con el encendido o dejar abierta con el cerrado.
7. Sacar las bolsas de la aparll, pulsar suavemente para eliminar el exceso de agua. Meter las bolsas en un vaso de precipitados de 250 ml y cubrirlas con acetona durante 3-5 minutos.
8. Secar las bolsitas algo al aire. meterlas en una bandeja de aluminio dentro del estufa de 120±2 °C terminar de secar.
9. Sacar de la estufa y meter en la bolsa desecante plegable, aplanar para eliminar el aire, hasta que se enfríen y pesar (Tb + L).
10. Incinerar durante 15 minutos el mismo n^o de crisol de porcelana que de bolsas, enfriar en el desecador y pesar (Tc). Colocar las bolsitas dentro de los crisoles de porcelana e incinerar durante 2 horas a 600 °C. Enfriar en el desecador y pesar (Tc + C).

$$\%FND = \frac{((Tb+L)-(Tc+C) - Tc) \times 100}{(Tb+MF) - TB}$$

Anexo 4. Determinación de fibra acida detergente

Objetivo

Van Soest (1965) define la fibra acida detergente como el residuo fibroso que queda después de disolver el contiene celular y las hemicelulosa de la FND (fibra insoluble en detergente neutro) utilizando detergente ácido, y está constituido fundamentalmente por celulosa y lignina.

Materiales

Bolsitas filtrante ANKOM F75, aparato de digestión ANKOM FIBER analizar, Bolsas Balanza, selladora por calor, estufa regulada a 102 ±15 °C, horno de mufla regulada a 600 ±15, desecador, baso de precipitado y pinzas.

Reactivos

Solución acida detergente, 20 g de bromuro de cetil - trimetil – amonio, acetona, alfa amilasa, sulfito sódico anhidro y 1L H₂SO₄ 1N (28.2 ml/l de H₂SO₄ 95 %).

Procedimiento

1. Preparación de la muestra.
- f. En caso de utilizar el procedimiento secuencial para la determinación seguir el protocolo desde el punto 2
- g. Rotular debidamente las bolsitas a utilizar (3 por cada muestra a analizar).
- h. Pesar los bolsos (Tb).
- i. Pesar aproximadamente 0.5g de muestra directamente a la bossa (Tb + m).

- j. Sellar por calor a 4 mm de la parte superior, teniendo cuidado de que la parte interior de la bolsita está limpia para garantizar el sellado.
2. Colocar las bolsitas en las bandejas del aparato. Las 9 bandejas se utilizan independientemente de n de bolsas que se procesen. Antes de meter las bandejas, si la temperatura del interior del aparato es alta, enfriar con agua.
3. Cuando se analizan 24 bolsas, se utilizan 1900-2000 ml de la solución ácida detergente. Si son menos de 20 bolsas añadir 100 mm / bolsa utilizar un mínimo de 1500 ml
4. Pulsar AGITATE Y HEAT Y confirmo que se esté agitando. Cerrar la tapa y extraer durante 60 minutos.
5. Cuando termina la extracción, primero AGITATE y HEAT. abrir la llave de evacuación (lentamente al principio) y sacar total la solución antes de abrir la tapa
6. Cerrar la llave de evacuación y añadir 1900ml de agua destilada caliente (50 a 90 °C). primero agítate y lavar durante 5 minutos. Repetir los lavados un total de tres veces. La tapa se puede cerrar con el encendido o dejar abierta con el cerrado
7. Sacar las bolsas de la aparato, pulsar suavemente para eliminar el exceso de agua. meter las bolsas en un vaso de precipitados de 250 ml y cubrirlas con acetona durante 3-5 minutos.
8. Secar las bolsitas algo al aire. meterlas en una bandeja de aluminio dentro del estufa de 120±2 °C terminar de secar.
9. Sacar de la estufa y meter en la bolsa desecante plegable, aplanar para eliminar el aire, hasta que se enfríen y pesar (Tb + L).
10. Incinerar durante 15 minutos el mismo n0 de crisol de porcelana que de bolsas, enfriar en el desecador y pesar (Tc). Colocar las bolsitas dentro de los crisoles de porcelana e incinerar durante 2 horas a 600 °C. Enfriar en el desecador y pesar (Tc+C)

$$\%FAD = \frac{((Tb+L)-((Tc+C)- Tc) \times 100}{(Tb+MF)- TB}$$

Anexo 5. Determinación de lignina

Objetivos

El residuo de la fibra acida detergente consiste principalmente de celulosa, la solución de ácido sulfúrico (72%) disuelve la celulosa, quedando la lignina y las cedros insolubles en ácido en el residuo final recuperado. La cutina también se retenida y consecuentemente se toma como si fuera parte de lignina.

Materiales

Bolsitas filtrante ANKOM F75, aparato de digestión ANKOM FIBER analizar, Bolsas Balanza, selladora por calor, estufa regulada a 102 ± 15 °C, horno de mufla regulada a 600 ± 15 , desecador, baso de precipitado y pinzas.

Reactivos

Ácido sulfúrico 72 %: 758 ml H₂SO₄ (95%)+ 242 ML H₂O, acetona

Procedimiento

1. Preparación de la muestra.
 - a. En caso de utilizar el procedimiento secuencial para la determinación seguir el protocolo desde el punto 2.
 - b. Rotular debidamente las bolsitas a utilizar (3 por cada muestra a analizar).
 - c. Pesar los bolsos (Tb).
 - d. Pesar aproximadamente 0.5g de muestra directamente a la bossa (Tb + m).
 - e. Sellar por calor a 4 mm de la parte superior, teniendo cuidado de que la parte interior de la bolsita está limpia para garantizar el sellado.
2. Meter las 24 bolsitas con la muestra digerida en la solución acida detergente en una vertiente de precipitados de 1L le añadió la cantidad suficiente (aprox. 250 ml) de H₂SO₄ al 72% importante: las bolsitas deben estar completamente secas y temperatura ambiente antes da añadirse ácido.
3. Meter un vaso de 500ml dentro del vaso de 1L para que las muestras queden sumergidas en ácido sulfúrico. Agitar 30 veces cada 30 minutos presionar con el vaso de precipitados de 500ml.
4. Después de 3 horas sacar el ácido sulfúrico y lavar con agua destilada caliente, para quitar el resto de ácido sulfúrico. Repetir este procedimiento hasta que el pH sea neutro.
5. Lavar con acetona durante 3 minutos. Secar las bolsitas algo al aire. Mantener en una bandeja de aluminio en la estufa de 102 ± 2 °C para terminar de secar.
6. Sacar de la estufa y meter en la bolsa desecante plegable, aplanar para eliminar el aire, hasta que se enfríen y pesar (Tb + L).
7. Incinerar durante 15 minutos el mismo no de crisoles de porcelana que de bolsas, enfriar en el desecador y pesar (Tc). Colocar las bolsitas dentro de los crisoles de porcelana e incinerar durante 2 horas a 600 ± 15 °C. Enfriar en el desecador y pesar (Tc + C).

$$\%LDA = \frac{((Tb+L)-(Tc+C)- Tc) \times 100}{(Tb+MF)- TB}$$