



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

**Efecto de la adición de aceite de moringa en la alimentación para mitigar la
producción de gases de efecto invernadero en rumiantes.**

QUE PRESENTA:

PMVZ: JULIO CÉSAR RAMÍREZ RIVERA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

ASESOR

Dr. Rodolfo Lucio Domínguez

CO-ASESOR

MC. José Luis Carlos Bedolla Cedeño

ASESOR EXTERNO

Dr. Manuel González Ronquillo

Morelia, Michoacán. Mayo de 2018.



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

**Efecto de la adición de aceite de moringa en la alimentación para mitigar la
producción de gases de efecto invernadero en rumiantes.**

QUE PRESENTA:

PMVZ: JULIO CÉSAR RAMÍREZ RIVERA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Morelia, Michoacán. Mayo de 2018

DEDICADO A:

César Damián Ramírez Hernández

En este momento no puedes leer y tal vez ni entender mis palabras, pero para cuando seas capaz, quiero que te des cuenta de lo que significas para mí. Hijo mío tu eres la razón de que me levante cada día para esforzarme por el presente y por el mañana.

Gracias por estar presente en todos mis logros, fuiste mi motivación más grande para concluir con éxito este proyecto.

Antonio Ramírez y Martha Rivera Miranda

Dios nos da la vida, nos manda a la tierra para disfrutar de ella, pero cuando somos pequeños somos indefensos, por lo tanto, nos envía con unos ángeles que nos van a enseñar a caminar, a hablar, a defendernos y a enfrentar la vida de la mejor manera posible.

Dios fue muy bueno conmigo estoy muy agradecido porque me envió con dos ángeles que me han apoyado incondicionalmente y que siempre han trabajado arduamente para ofrecerme lo mejor.

Gracias papás porque siempre han estado conmigo y han sido un pilar fundamental para tener éxito en la vida.

Francisco Antonio Ramírez Rivera y Bianca Iveth Ramírez Rivera

A veces parecía que estábamos en guerra, recuerdo aquellas tardes cuando me echaban montón, pero también había momentos en los cuales podíamos jugar y reír de nuestras travesuras, épocas que vienen a mi mente y le dan mucha alegría a mi vida.

Actualmente los tres somos unos profesionistas con metas por cumplir, tiendo mi mano y ofrezco mi apoyo incondicional para mis dos hermanos y que seguro estoy que de igual manera cuento con ustedes.

Gracias hermanos por formar parte de mi vida y por recibir de ustedes aliento para el desarrollo de mi tema de tesis.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis asesores Dr. Rodolfo Lucio Domínguez, MC. José Luis Carlos Bedolla Cedeño y MC. Ángel Raúl Cruz Hernández, gracias por invitarme a formar parte de este proyecto y por compartir de sus conocimientos para concluir con mi tema de tesis.

Agradezco a la FMVZ- UMSNH y a sus académicos por abrirme sus puertas y recibir de todos gran parte de sus conocimientos con la mayor sencillez.

Agradezco a la FMVZ- UAEM por recibirme en sus instalaciones para el desarrollo de algunas técnicas referentes a este trabajo.

Agradezco al Dr. Manuel González Ronquillo, Profesor Investigador de la FMVZ- UAEM pilar fundamental para la realización de las técnicas empleadas en este trabajo.

ÍNDICE

| | |
|---|------------|
| ASESOR EXTERNO..... | 2 |
| Dr. Manuel González Ronquillo | 2 |
| ÍNDICE DE TABLAS | VII |
| ÍNDICE DE GRÁFICAS..... | VII |
| RESÚMEN..... | 1 |
| INTRODUCCIÓN..... | 2 |
| REVISIÓN DE LITERATURA | 4 |
| Cambio climático..... | 4 |
| Fermentación Ruminal..... | 5 |
| Bacterias metanogénicas..... | 6 |
| Digestión de los lípidos | 6 |
| Hidrogenación de las grasas | 7 |
| Forrajes (sustratos) | 8 |
| Heno..... | 8 |
| Rastrojo..... | 8 |
| Pasto..... | 8 |
| Heno de avena..... | 9 |
| Heno de alfalfa | 9 |
| Rastrojo de maíz..... | 10 |
| Pasto kikuyo | 10 |
| Método para estimar la digestibilidad de los forrajes | 10 |
| Método in vitro | 10 |
| Métodos para estimar la degradación y fermentación de los forrajes | 11 |
| Soluciones eficientes para reducción de gases de efecto invernadero..... | 13 |
| Lípidos dietéticos..... | 13 |
| Suplementos alimenticios inhibidores..... | 14 |
| Ionoforos | 14 |
| Taninos | 14 |
| Moringa oleifera..... | 15 |
| Aceite de semilla de moringa..... | 15 |

| | |
|--|----|
| OBJETIVO | 17 |
| MATERIAL Y MÉTODOS | 18 |
| Extracción de aceite | 18 |
| Producción de gas in vitro | 19 |
| Cálculos y análisis estadístico | 20 |
| Cálculos | 20 |
| Análisis estadístico | 22 |
| RESULTADOS | 22 |
| Composición química | 22 |
| Producción de gas | 22 |
| DISCUSIÓN | 31 |
| CONCLUSIÓN | 33 |
| LITERATURA CITADA | 34 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|-----------|
| Tabla 1. Cantidad de inclusión de aceite de moringa oleífera en microlitros | 20 |
| Tabla 2. Composición química de los forrajes utilizados en g/kg MS | 24 |
| Tabla 3. Parámetros de producción de gas in vitro | 24 |
| Tabla 4. Perfil de fermentacion ruminal in vitro | 26 |

ÍNDICE DE GRÁFICAS

| | |
|--|-----------|
| Gráficos 1. Perfiles de producción de gas in vitro (ml/gr MS) de raciones mixtas totales (TRM) que contienen diferentes niveles de inclusión aceite de moringa oleífera..... | 29 |
| Gráficos 2. Perfiles de producción de gas in vitro (ml/hr) de reacciones mixtas totales (RMT) que contienen diferentes niveles de inclusión de aceite de moringa oleífera | 30 |

RESÚMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la adición de aceite de semilla de moringa oleífera en un sistema de producción de gas in vitro con inclusiones de aceite (0, 0.0006mcl, 0.0012mcl, 0.0018mcl) los cuales como sustrato contenían heno de avena, heno de alfalfa, rastrojo de maíz y pasto kikuyo, adicionados con liquido ruminal obtenido de dos cabras con un peso vivo promedio de 23kg, alimentadas con una dieta basada en 50:50 heno de avena y heno de alfalfa, las mediciones fueron realizadas a las 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, y 72 horas, con el objetivo de conocer la fermentación ruminal y la digestibilidad, después de las 72 horas de incubación el contenido resultante de cada frasco se filtró y se puso a secar para determinar directamente y mediante cálculos matemáticos la materia seca desaparecida (MSD), materia orgánica desaparecida (MOD), producción de gas relativa (PGR), producción de gas a las 24 horas (PG24hrs), ácidos grasos de cadena corta (AGCC), proteína cruda microbiana (PCM) y energía metabolizable (EM). La producción de gas in vitro mostro una mayor producción de gas para el heno de avena seguido por el pasto kikuyo. El heno de avena muestra una disminución en la producción de gas con la inclusión de aceite de moringa de 0.0006ml con una disminución del 9.29% en relación al estándar 0% de inclusión. En el rastrojo de maíz se muestra una disminución de la producción de gas del 5.07% con la inclusión de aceite de 0.0018ml. La producción del pasto kikuyo disminuye 23.09% con la inclusión de aceite de 0.0012ml. Para el sustrato de alfalfa la aumenta la fermentación con la inclusión de 0.0018ml. Para los diferentes sustratos fue mayor la MSD para la inclusión de aceite de 0.00018ml y menor para el resto de las inclusiones a medida disminuye la cantidad de inclusión mostrando un efecto lineal.

Palabras clave: Efecto invernadero | Mitigación de gases | Aceite de *moringa oleífera* | Caprinos.

INTRODUCCIÓN

La producción animal es una fuente importante de emisión de gases de efecto invernadero (GEI) en todo el mundo que ha contribuido con una repercusión directa en calentamiento global y como evidencia de esto aumento del promedio mundial de la temperatura del aire y del océano, el deshielo generalizado y el aumento del promedio mundial del nivel del mar (IPCC, 2007).

Los gases que mayor contribución tienen con el calentamiento del planeta son el CO₂ proveniente principalmente de la respiración del ganado con una producción anual de 3000 millones de toneladas y el CH₄ liberado por la fermentación entérica produciéndose 86 millones de toneladas al año (Steinfeld *et al*, 2009).

La digestión anaerobia es un proceso natural en el que las bacterias convierten los materiales orgánicos en biogases (Hassan *et al*, 2005), El CH₄ y el CO₂ son subproductos naturales de la fermentación microbiana de los carbohidratos y, en menor medida, de los aminoácidos (AA) en el rumen y el intestino grueso de los animales de granja (Gerber *et al*, 2013). Los animales rumiantes deben utilizar los nutrientes para el anabolismo en lugar de la producción de metano por lo cual es imposible desarrollar una estrategia para mitigar la emisión entérica de metano que beneficie a los rumiantes y al medio ambiente. Únicamente se han desarrollado estrategias de mitigación como la manipulación dietética, la utilización de aditivos en piensos y administración de vacunas (Huhtanen *et al*, 2015). La utilización de aditivos derivados de plantas son preferibles porque son derivados de fuentes naturales.

Existe gran evidencia de que los lípidos (aceites vegetales o grasas animales) suprimen la producción de CH₄ en el rumen. Los efectos de los lípidos en las arqueas del rumen no son aislados de su efecto supresor general sobre las bacterias y los protozoos (Gerber *et al*, 2013).

El aceite de semilla de moringa oleífera tiene un rendimiento oleoso el 34.83%, con un perfil, de ácidos grasos de alrededor de 75% de ácidos grasos moninsaturados, donde el ácido graso predominante es el ácido oleico (65.695%), y alrededor de

25% de ácidos grasos saturados, donde el palmito presenta la mayor concentración (7.96%) (Herrera *et al*, 2016).

REVISIÓN DE LITERATURA

Cambio climático

El efecto invernadero es un mecanismo fundamental para la regulación de la temperatura, sin el cual la temperatura media de la superficie terrestre no sería de 15 °C sino de -6 °C. La tierra emite de nuevo al espacio la energía recibida del sol a través de la reflexión de la luz y las emisiones de calor. Una parte del flujo de calor viene absorbida por los gases denominados de efecto invernadero y queda atrapada en la atmósfera. Entre los principales gases de efecto invernadero que guardan relación con este proceso destacan el dióxido de carbono (CO₂), el metano (CH₄), el óxido nitroso (N₂O). A causa del calentamiento global se prevén cambios en los patrones meteorológicos, entre los que cabe destacar un aumento de las precipitaciones globales y cambios en la intensidad o frecuencia de fenómenos atmosféricos tales como tormentas, inundaciones y sequías. Es probable que el cambio climático tenga un impacto considerable en el ambiente (Steinfeld *et al*, 2009).

La ganadería contribuye significativamente a acelerar el cambio climático, principalmente, a través de la emisión de gases de efecto invernadero (GEI), tales como: el metano (CH₄) y el bióxido de carbono (CO₂); ambos producidos a partir de la fermentación anaeróbica de los carbohidratos (celulosa, almidón, sacarosa) contenidos en el alimento consumido, además del óxido nitroso (N₂O). Las heces excretadas por los animales domésticos también dan lugar a la producción de metano, y las excreciones vertidas al suelo cargadas de proteínas no asimiladas en el tracto gastrointestinal de los animales contribuyen a la emisión de óxido nitroso al ambiente. De particular importancia, son las emisiones de metano de origen entérico (es decir, producido en mayor proporción en el rumen o panza de los ruminantes (vacas, cabras, ovinos y venados, entre otras especies) en volúmenes considerables, y que son eructados al ambiente por dichas especies (ku *et al*, 2012).

Fermentación Ruminal

Se puede pensar que el rumen es una especie de tanque de fermentación anaerobia, en el que muchos microorganismos vivos, se afectan entre sí. Los componentes nutricionales como los carbohidratos, las proteínas y los lípidos, se degradan por los microorganismos del rumen y se convierten en células microbianas, que incluyen proteínas, carbohidratos, ácidos grasos volátiles y otros gases (CH_4 , CO_2 , NH_4). El hidrogeno deriva principalmente de los carbohidratos y este es utilizado para la producción de metano (Rusell y Wallace, 1997).

Los productos de la fermentación son principalmente ácidos grasos volátiles (acetato, propionato, y butirato), formato, etanol, lactato, succinato y ácidos grasos ramificados, también se produce amonio, hidrogeno y dióxido de carbono, estos dos últimos subproductos son reducidos y convertidos en metano por poblaciones microbiales especializadas. La concentración de H_2 predominante influye en la termodinámica de la fermentación ruminal. Las vías de fermentación y de producción de H_2 se ven favorecidas a bajas concentraciones de H_2 , por lo tanto, los alimentos y las condiciones que dan como resultado bajas presiones parciales de H_2 darán como resultado mayor formación de H_2 y menos formación de propionato, por lo que se forma mayor cantidad de CH_4 . Por lo contrario los alimentos y los aditivos que favorecen altas concentraciones de H_2 dan como resultado una menor formación de H_2 (Janssen, 2010).

La mayoría de las bacterias del rumen son anaerobias y el O_2 resulta toxico para las mismas. El O_2 , presente en las partículas alimenticias o que se difunde a través de la pared del rumen, es consumido rápidamente por los microbios adherentes situados en la pared del rumen y por los escasos anaerobios facultativos del propio rumen. Como la mayoría de los microbios del rumen no disponen de O_2 , sus opciones metabólicas son limitadas. Los microbios anaerobios trabajan con un excedente de equivalentes reductores (NADH) y utilizan diversas reacciones para eliminar la potencia reductora sobrante. El CO_2 es reducido a CH_4 , los sulfatos y

nitritos son reducidos hasta sulfuros y amoniaco y los ácidos grasos insaturados son saturados (Church, 1988).

La dieta puede cambiar la población microbiana en el rumen y consecuentemente influir la producción de ácidos grasos volátiles. En general las dietas altas en fibra producen ácidos grasos volátiles (AGV) con alta proporción de ácido acético, mientras que las dietas de concentrado generan más ácido propiónico (Mendoza *et al*, 2008).

Bacterias metanogénicas

Las bacterias productoras de metano constituyen una clase especial en la población del rumen por su papel en la regulación de la fermentación total al eliminar H₂ gaseoso. La reducción de CO₂ con H₂ gaseoso es el método primario por el que se produce CH₄ en el rumen. Las bacterias metanógenas incluyen: *Methanobrevibacter ruminantium*, *Methanobacterium formicicum* y *Methanomicrobium mobile*. (McDonald *et al*, 1999).

Digestión de los lípidos

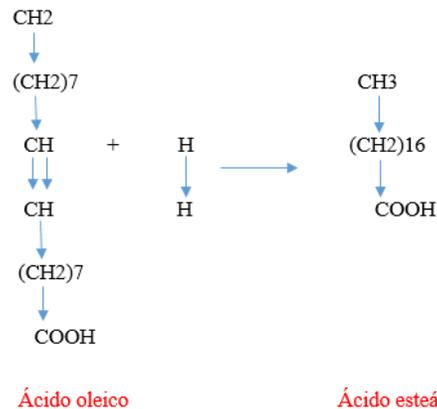
Los lípidos cuantitativamente más importantes en la alimentación de los rumiantes son aquellos que contienen ácidos grasos unidos a un glicerol: triglicéridos, glicolipidos y fosfolípidos. Los triglicéridos son mayoritarios en los lípidos de las materias primas no forrajeras, y los glicolipidos y fosfolípidos, predominan en los lípidos de los forrajes (Morand- Fehr y Tran, 2010).

A los triglicéridos se les denominan de forma genérica como grasas, aunque normalmente se distinguen 2 tipos: aceites y grasas. Los aceites tienen ácidos grasos de más de diez carbonos o con uno o más enlaces dobles, son líquidos a temperatura ambiente, y son normalmente de origen vegetal. Las grasas tienen ácidos grasos saturados de diez o más carbonos, son sólidas a temperatura ambiente, y son de origen animal. (Martínez *et al*, 2010).

Los ácidos grasos son ácidos carboxílicos de cadena alifática hidrófoba. Pueden dividirse en 4 categorías de acuerdo con el número de carbonos o longitud de cadena: volátiles, con 2-4 carbonos; cadena corta con 6-10 carbonos; media con 12-16 carbonos; y larga, a partir de 16 carbonos. Si no contienen ningún enlace doble en su molécula se denominan saturados, cuando contienen enlaces dobles se denominan insaturados, distinguiéndose entre mono, di, tri o poliinsaturados (Cuvelier *et al*, 2004).

Hidrogenación de las grasas

Es el proceso por el cual se fija un hidrogeno en los dobles enlaces de los ácidos insaturados de las grasas, convirtiéndolas en los análogos saturados. Por ejemplo, el ácido oleico da lugar a ácido esteárico:



Las grasas de las raciones consumidas por los rumiantes experimentan, en primer lugar, una hidrólisis en el rumen, que va seguida de la progresiva hidrogenación de los ácidos grasos insaturados libres, hasta ácido esteárico. Ellos explica la aparente contradicción de que siendo las grasas de la ración altamente insaturadas, la grasa corporal de los rumiantes sea muy saturada (McDonald *et al*, 1999).

Forrajes (sustratos)

Heno

La henificación fue el primer proceso ideado por el hombre para conservar partes de los forrajes verdes, principalmente gramíneas y leguminosas, sobrantes en la época de abundancia de los pastos con el fin de utilizarlos en los meses de escasez. Un heno don un 85-90 de la materia seca puede conservarse sin peligro de que se fermente; la sencillez del proceso y su larga tradición convierten la henificación en uno de los principales métodos de conservación de los forrajes (Silveira y Franco, 2006).

Rastrojo

Los rastrojos o residuos de cosecha son subproductos derivados de las actividades agrícolas, y se les considera como la porción del cultivo cosechado (hojas, tallos, espigas y brácteas de la mazorca) que queda después de extraer el grano. En México es común la utilización de rastrojo como alimento para rumiantes, no obstante su escaso valor nutrimental, baja digestibilidad y alto contenido de fibra, debido a su estado de lignificación, aun cuando existen métodos para incrementar su eficiencia en la alimentación ganadera (Inifap, 2013).

Pasto

Los pastos son la base fundamental de la alimentación de todo programa de alimentación en ganadería de trópico, puesto que proveen al animal de nutrientes como carbohidratos, proteínas, aminoácidos, minerales y vitaminas, es un alimento completo, pero económico para la complementación de toda dieta. Los pastos se adaptan con gran versatilidad a pisos térmicos entre los 0 y 1800 m.s.n.m. los valores de proteína oscilan entre 5 y 16%, los valores de grasa no superan el 2%, los valores de energía oscilan entre 0.7 y 1.5 Mcal EN/Kg de materia seca y los contenidos de nutrientes minerales varían mucho dependiendo el terreno en que se cultiven. (Estabrahamís, 2009).

Heno de avena

La Avena (*Avena Sativa*) es una planta herbácea anual, perteneciente a la familia de las gramíneas. Posee raíces más abundantes y profundas que las de los demás cereales; los tallos son gruesos y rectos, pueden variar de medio metro hasta metro y medio, están formados por varios entrenudos que terminan en gruesos nudos; las hojas son planas y alargadas; su borde libre es dentado, el limbo de la hoja es estrecho y largo; la flor es un racimo de espiguillas, situadas sobre largos pedúnculos y el fruto es en cariósipide, con las glumillas adheridas. La avena forrajera es un cultivo de gran importancia en México y en Chihuahua, que es utilizada para el consumo humano y en la alimentación del ganado. En México, la siembra de avena para forraje se realiza en alrededor de 899 mil ha con un rendimiento de 12.9 ton/ha de forraje (Jurado *et al*, 2014).

Heno de alfalfa

La alfalfa (*Medicago sativa*) es una planta perteneciente a la familia de las Leguminosas (*Fabaceae*). Es un cultivo forrajero plurianual con un excelente potencial productivo, cuya duración en el campo es de unos 3-4 años, practicándose varios cortes por año. Ocupa el 22% de la superficie destinada a los forrajes. Se cultiva mayoritariamente en regadío (65%), propio de un cultivo que, aunque bien adaptado a nuestros secanos, cada día se destina más al proceso de producción intensiva asociado a la deshidratación. El proceso de henificación de la alfalfa es un método de conservación bien conocido por nuestros agricultores, aunque en regresión en la actualidad a favor de la deshidratación. El principal problema de la henificación es la lluvia durante el secado de la planta que disminuye el valor nutritivo de este forraje por lavado de solubles. Esto, unido a la pérdida de hojas, hace que se reduzca además su valor proteico, por lo que el valor nutritivo de un heno puede distar mucho del de la planta original (FEDNA, 2016).

Rastrojo de maíz

Los residuos de cosecha, también conocidos como rastrojos, desempeñan un papel preponderante de los sistemas agrícolas y pecuarios. En México, el mayor volumen de rastrojos, esquilos, pajas, zacate, pastura, clazol y basura desempeñan un papel preponderante en los sistemas mixtos agrícolas y pecuarios en el mundo.

Los rastrojos o residuos de cosechas constituyen un insumo para la alimentación de rumiantes, ya sea en pastoreo directo; o bien, cortado, picado y empacado, suministrado como suplemento en la dieta de los animales. Algunas investigaciones destacan la contribución de los rastrojos y por otra parte se reconoce su pobre aportación en la nutrición del ganado (Inifap, 2013).

El cultivo de maíz produce una gran cantidad de biomasa, de la cual se cosecha apenas cerca del 50% en forma de grano. El resto corresponde a diversas estructuras de la planta tales como cana, hoja, limbos y mazorca, la producción de biomasa residual genera un cultivo de maíz de grano que fluctúa entre 20 a 35 toneladas por hectárea.

Pasto kikuyo

Presenta algunos limitantes nutricionales que afectan tanto la producción como la calidad composicional de la leche entre los que se destacan su bajo contenido de energía. El consumo de materia seca del pasto kikuyo no parece estar limitado por su alto contenido de fibra en detergente neutro (FDN), bajo contenido de materia seca (MS) y carbohidratos no estructurales reportándose valores que superan los 18.0 kg de MS/vaca/d con consumos de FDN equivalentes al 1.6% del peso vivo.

Método para estimar la digestibilidad de los forrajes

Método in vitro

Cuando un forraje se incuba con fluido ruminal in vitro, los carbohidratos se fermentan a ácidos grasos de cadena corta, gases principalmente CO₂ Y CH₄ y

células microbianas. La producción de gas es básicamente el resultado de la fermentación de carbohidratos a acetato, propionato y butirato (Blümmel y Orskov , 1993; Wolin, 1960).

Las técnicas más importantes son, la de Tilley y Terry, (1963), se convirtió en una herramienta importante para la evaluación de alimentos para rumiantes y se usa ampliamente. Este método se emplea en muchos laboratorios de evaluación de forrajes e involucra dos etapas en las que los forrajes se someten a fermentación durante 48 horas en una solución tampón que contiene fluido ruminal seguido de 48 horas de digestión con pepsina en una solución ácida.

Menke y Steingass, (1988) desarrollaron una técnica de producción de gas que es básicamente el resultado de la fermentación de carbohidratos y con producción de ácidos grasos volátiles (acético, propiónico y butírico), y gases CO₂ y CH₄. La producción de gas por la fermentación de proteína es relativamente menor en comparación de la fermentación de carbohidratos (Getachew *et al*, 1998)

Theodorou *et al* (1994) desarrollaron un método donde la incubación se lleva a cabo en botellas de vidrio de 125ml, provistas por un tapón de goma y selladas herméticamente. Las botellas se llenan con 1g de sustrato y 90ml de solución de incubación (saliva artificial) pero sin inóculo (líquido ruminal). Previo sellado son gasificadas con CO₂ y en un plazo no superior a 24 horas se inocula al inyectar 10ml por botella de líquido ruminal (Theodorou *et al*, 1994).

Métodos para estimar la degradación y fermentación de los forrajes

Las más utilizadas para la estimación *in vitro* son las propuestas por France *et al* (1993) y Krishnamoorthy *et al* (1991).

Krishnamoorthy *et al.*, (1991)

Ecuación propuesta: $P_g = b(1 - e^{-ct})$

Dónde:

P_g = producción de gas (ml gas/ g-1 MS inicial)

b = producción total de gas (ml gas/ g-1 MS inicial)

c = tasa de degradación con respecto al tiempo (h)

t = tiempo (h)

$$v- D^* (1-e^{-k^*t}) \quad v- D^* (1-e^{-k^*(t-l)})$$

Dónde:

v = producción acumulativa del gas en un momento dado (ml)

D = producción acumulativa potencial del gas (ml)

k = tasa de producción del gas (h⁻¹)

t = tiempo de la fermentación (horas)

l = retraso inicial para el inicio de la fermentación (h)

France *et al.*, (1993)

La producción de gas se estima por diferencia entre el valor registrado de cada frasco de los diferentes sustratos y el valor medio de producción de gas debida al blanco (frasco sin sustrato).

$$\text{Ecuación propuesta: } y= A [1-\exp (-b (t-T)-c (\sqrt{t}-\sqrt{T}))]$$

Dónde:

y = representa la producción de gas acumulada (ml)

t = tiempo de incubación (h)

A = es la asíntota de la curva (producción de gas total, ml)

b = (h⁻¹) y c (h^{-1/2}) son constantes de producción de gas

T = representa el "lag time" (horas), que es el tiempo en que el alimento empieza ser

degradado por los microorganismos del rumen.

Soluciones eficientes para reduccion de gases de efecto invernadero

Lípidos dietéticos

Existe gran evidencia de que los lípidos (aceites vegetales o grasas animales) suprimen la producción de CH₄ en el rumen. Los efectos de los lípidos en las arqueas del rumen no son aislados de un efecto supresor general sobre las bacterias y los protozoos.

Un metaanálisis más reciente de 38 trabajos de investigación reportó una disminución consistente en el consumo de materia seca (CMS) para todos los tipos de grasas examinadas usadas en las dietas (sebo, varias sales de calcio de AG, semillas oleaginosas, grasa comprimida) pero un aumento en la producción de carne y leche (Rabiee *et al*, 2012).

Doreau *et al.*, (2011) observó un efecto de mitigación más elevado de los AG poliinsaturados. La biohidrogenación de estos ácidos también pueden actuar como sumidero de H₂.

Orozco *et al*, (2016) evaluó el efecto de la adición de proporciones 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 % de aceites de semillas de *Thevetia peruviana* (TP) y frutos de aguacate *Persea americana* (AG) en cultivos *in vitro* de líquido ruminal bovino sobre la producción de gas (PG), metano (CH₄), la digestibilidad de materia seca y fibra detergente neutra. La inclusión de 3% fue el nivel más apropiado, redujo la producción de CH₄, sin afectar la producción de gas y digestibilidad del forraje.

Patra & Yu, (2012) realizaron una investigación en la cual utilizaron cinco aceites esenciales (aceite de clavo, eucalipto, ajo, orégano y menta) todos redujeron significativamente la producción de metano, la materia seca disminuyó con el aumento de las dosis y las concentraciones de ácidos grasos volátiles no se vieron afectadas y demostraron que va de la mano la disminución de la metanogénesis con la disminución de la fermentación total.

Suplementos alimenticios inhibidores

La investigación en esta área se ha centrado en los compuestos químicos con efecto inhibitorio específico sobre las arqueas del rumen, entre los compuestos más exitosos probados *in vivo* se encuentra el bromoclorometano (bcm), el 2-bromoetano sulfónico (BES) el cloroformo y la ciclodextrina. Estos inhibidores redujeron la producción de CH₄ hasta un 50% *in vivo* en (ovejas, cabras y bovinos) (Gerber *et al*, 2013)

Ionoforos

La monensina ha sido el ionoforo más estudiado y se usa rutinariamente en la producción de carne y más recientemente en la nutrición de bovinos leche en Norte América.

La monensina no afecta el consumo de materia seca ni la producción de leche de las vacas y se ha demostrado que es una estrategia viable para reducir la producción de CH₄ en vacas lecheras Holstein en lactación (Odongo *et al*, 2007).

Taninos

Se han realizado amplias investigaciones sobre los compuestos polifenólicos, especialmente taninos condensados. Los rendimientos de las leguminosas taníferas tropicales y templadas generalmente son inferiores a los de las gramíneas, y las propiedades agronómicas frecuentemente restringen su uso. Sin embargo, los beneficios de la ingestión de taninos, desde el punto de vista de la nutrición y de la sanidad animal (antihelmínticos, prevención del meteorismo), coinciden con la reducción de la metanogénesis y especialmente de las emisiones de N₂O (Gerber *et al*, 2013).

Mohamed *et al*, (2016) realizó un trabajo donde se evaluó el potencial de cinco especies arbustivas, para reducir la producción de metano, se adicionaron los forrajes en 0, 10, 20 y 30% en base seca a una dieta experimental en un diseño

factorial de cinco plantas por cuatro niveles de inclusion. La planta *Amaranthus spinosus* y *Commelina coelestesis* a niveles de inclusion de inclusion del 20 y 30%, mostraron una disminucion del 26% respecto al estandar.

Moringa oleifera

La moringa pertenece a la familia *Moringaceae*, un grupo pequeño de plantas dentro del inmenso orden de brassicales que incluyen la familia del col y del rábano, junto con la familia del mastuerzo y de las alcaparras (APG, 2009). *Moringaceae* comprende uniccamente un genero, moringa. Dentro de moringa hay 13 especies.

Este arbol tiene un gran potencial para su cultivo en mexico asi como en muchas partes de america tropical por su combinacion singular de propiedades. Las hojas son comestibles y ricas en proteinas, con un perfil de aminoacidos esenciales muy balanceado. Al mismo tiempo, contiene vitaminas, principalmente A y C, altas cantidades, asi como antioxidantes potentes. Los frutos jovenes son comestibles y las semillas producen aceite comestible y lubricante de altisima calidad. los desechos del prensado de las semillas para obtener el aceite contienen uno de los floculantes o aglutinantes vegetales mas potentes que se conocen y pueden eliminar la turbuidez del agua (Martínez, 1959).

Sus hojas ofrecen un forraje nutritivo para los animales, asi como tambien los residuos de semillas despues de la extraccion de aceite y aun las ramas molidas (Reyes y Spörndly , 2006).

Aceite de semilla de moringa

el perfil de acidos grasos del aceite de semillas de *Moringa oleifera*, mostro, que alrederor de 75% de acidos grasos monoinsaturados, donde el acido graso predominante fue el acido oleico (65.69%), y alrededor de 25% de acidos grasos saturados, donde el palmítico represento la mayor concentracion (7.96%) (Herrera *et al.*, 2016).

| Tipo de acido | Nombre del compuesto | Concentración % |
|-----------------|--------------------------------------|-----------------|
| Saturados | Ac. decanoico o laurico. | 0.440 |
| | Ac. tetradecanoico o mirístico | 0.270 |
| | Alcohol pentadecilico o pentadecanol | 0.510 |
| | Ac. hexadecanoico o palmítico | 7.960 |
| | Ac. octadecanoico o esteárico | 5.945 |
| | Ac. Eicosanoico o araquidónico | 3.395 |
| | Ac. behenico o decosanoico | 5.300 |
| | Total | 23.565 |
| Monoinsaturados | Ac.palmitoleico | 2.180 |
| | Ac. oleico | 65.965 |
| | Ac. vaccenico | 4.422 |
| | Ac. eicosenoico o gadolenico | 1.910 |
| | Total | 74.475 |

(Herrera *et al*, 2016)

OBJETIVO

Evaluar el efecto de la adición de aceite de moringa en la alimentación para mitigar la producción de gases de efecto invernadero en rumiantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en las instalaciones de la FMVZ-UMSNH, unidad posta, la cual se encuentra ubicada en la carretera Morelia – Zinapécuaro, Km 9.5, en el municipio de Tarímbaro, Michoacán. Las características fisiográficas de la región son: clima templado con lluvias en verano, precipitación pluvial anual de 600 a 800 mm, con una altitud entre 1900 y 2400 msnm, y temperatura anual promedio de 16 a 18°C (INEGI, 2008).

Las técnicas de producción de gas in vitro y estudio químico proximal de los sustratos se llevaron a cabo en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, Ubicada en el valle de Toluca Estado de México, en las coordenadas 19° 17' latitud norte y 99° 39' de longitud oeste, a una altura de 2675 metros sobre el nivel del mar. El clima predominante templado subhúmedo con lluvias en verano, con poca oscilación térmica entre 5 y 7° C. La precipitación media anual es de 1000 mm y la temperatura media anual de 14° C. El tipo de suelo predominante es vertisol pélvico de origen volcánico (INEGI, 2000).

Extracción de aceite

La semilla fue escarificada manualmente, sometida a molienda con molino de grano manual, para la obtención de harina de semilla de moringa, posteriormente fue sometida a desecación en un horno de aire forzado a una temperatura de 60 °C durante 48h, se pesaron 6 muestras de 6 gramos cada una y se depositaron en los cartuchos de celulosa se adiciono al vaso de precipitados 30ml de éter de petróleo y se inició el proceso de extracción en el cual se mantuvo la estufa a 55 °C durante 4 h, realizando réplicas del procedimiento hasta obtener 100 ml de aceite deseado.

Análisis químico proximal

Las muestras de alimento se secaron en una estufa de aire forzado (60 ° C, 48 h), posteriormente se molieron en un molino (Willey, 2mm Ø Arthur H. Thomas Philadelphia, PA), para determinar la materia orgánica (OM) AOAC (1990), y el nitrógeno total (N) mediante el procedimiento de Kjeldahl (AOAC, 1990), la fibra detergente neutro (FDN), Fibra detergente ácido (FAD) y Lignina se determinó según Van Soest (1991) con la adición de sulfito de sodio y alfa amilasa, usando un digestor de fibra ANKOM. Los residuos de la incubación *in vitro* se secaron (60 ° C, 48 h) para determinar la MS desaparecida a las 72 horas.

Producción de gas in vitro

La producción de gas se determinó en frasco de 125 ml, una serie de incubación con tres replicas por sustrato, tres por nivel de inclusión, tres estándares y tres blancos totales con el método propuesto por Theodorou et al. (1994). En cada frasco se introdujeron 0.8g de MS de cada uno de los sustratos, posteriormente se le adicionaron 90ml de solución buffer (Menke y Steingass, 1998).

Se utilizaron dos cabras adultas peso vivo promedio 23 kg como donadoras de líquido ruminal, las cuales eran alimentadas con 50/50 heno de avena y heno de alfalfa. Se tomaron 600ml de líquido ruminal de las cabras donadoras los cuales fueron adquiridos con una bomba de vacío, se llevaron al laboratorio, se filtraron con 4 capas de tela, se mantuvieron a 39 °C y se gaseó con CO₂ para ser introducidos 10 ml por frasco a cada uno de los frascos se le adiciono un porcentaje de inclusión de aceite de moringa del 0, 0.0006ml, 0.0012ml y 0.0018ml. Los frascos de sellaron y se introdujeron en un baño de agua a 39 °C y las lecturas de la producción de gas se efectuaron a 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 60, 72, hrs de incubación y se llevaron a cabo con un transductor de presión Delta OHM, Modelo 8804 HD.

Al término de las 72 hrs de incubación se retiraron las tapas y con ayuda de una bomba de vacío se filtró todo el contenido de los frascos, el residuo de fermentación

fue secado a 60°C por 48 hrs para el cálculo de materia seca desaparecida (MSD) para posteriormente obtener resultado de la producción de gas relativa (PGR) (Gonzalez Ronquillo *et al.*, 1998)

Tabla 1. Cantidad de inclusión de aceite de *Moringa oleífera* en microlitros

| Sustrato | Heno de avena | Alfalfa | Rastrojo de maíz | Pasto Kikuyo |
|----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Inclusiones de aceite de moringa | 0 0.0006ml 0.0012ml 0.0018ml | 0 0.0006ml 0.0012ml 0.0018ml | 0 0.0006ml 0.0012ml 0.0018ml | 0 0.0006ml 0.0012ml 0.0018ml |

Cálculos y análisis estadístico

Cálculos

El volumen de gas acumulado de cada una de las muestras se ajustó al modelo propuesto por krishnamoorthy (1991).

1. Ecuación propuesta por krishnamoorthy: $P_g = b(1 - e^{-ct})^c$

Dónde: P_g = producción de gas (ml gas/ g-1 MS inicial) b = producción total de gas (ml gas/ g-1 MS inicial) c = tasa de degradación con respecto al tiempo (h) t = tiempo (h)

$$v = D^* (1 - e^{-k^*t})$$

$$v = D^* (1 - e^{-k^*(t-l)})$$

Dónde: v = producción acumulativa del gas en un momento dado (ml) D = producción acumulativa potencial del gas (ml) k = tasa de producción del gas (h-l) t = tiempo de la fermentación (horas) l = retraso inicial para el inicio de la fermentación (h).

Después del período de incubación *in vitro* se filtraron las muestras y se secaron (48 h, 60 °C) para medir la proporción de materia seca desaparecida (DMD72h). La

producción de gas (PG) a las 72 h se correlacionó con la materia seca desaparecida para la producción de gas relativa (RGP: de gas g ml DMD) (González Ronquillo *et al*, 1998).

Al final de la incubación se determinó la materia seca (MSD, mg) y materia orgánica desaparecida (MOD, mg), se determinó la producción de gas a las 24h (PG24), se calculó el volumen de gas (ml gas / g MS) producido después de 24 h de incubación dividido por la cantidad de MSD (g):

Producción de gas (GY24) = ml gas 24h/ g MS g DMD

La producción de gas relativa (RGP) se calculó en mililitros de gas producidos por gramo de MSD después de la incubación 72h.

PGR = ml gas 72h / g MSD

Las concentraciones de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) se calculó de acuerdo a Getachew *et al*. (2002) como: AGCC (mmol / 200 mg DM) = 0,0222 PG - 0.00425

Donde PG es la producción neta de gas 24 h (ml / 200 mg DM).

La producción de proteína microbiana (PCM) se calculó de acuerdo a Blummel *et al*. (1997) como:

PCM (mg / g DM) = mg MSD - (ml gas x 2,2 mg / ml)

Donde 2,2 mg / ml es un factor estequiométrico que expresa mg de C, H y O requerido para la producción de AGCC gas asociado con la producción de 1 ml de gas.

El diseño experimental para la composición química, los parámetros de producción de gas *in vitro* y la fermentación microbiana *in vitro* se utilizó un diseño completamente utilizando la fórmula: $Y_{ij} = \mu + T_{xi} + \epsilon_{ij}$ (Steel *et al*,1997).

Donde Y_{ij} = es cada observación de los tratamientos i ; μ es la media general; T_x ($i = 4$) es el efecto del tratamiento; y E_{ij} es error experimental.

Un valor de $P < 0,05$ fue considerado como una diferencia significativa entre los tratamientos. Se utilizó una prueba de Tukey cuando se observaron diferencias significativas entre tratamientos.

Análisis estadístico

La estimación de la cinética de la producción de gas y los volúmenes de gas registrados (ml/ g de ms), se ajustaron con el paquete estadístico de SAS (2002).

RESULTADOS

Composición química

El contenido de proteína es superior para el heno de alfalfa seguido por el pasto kikuyo, energía metabolizable superior para el pasto kikuyo seguido por el heno de alfalfa.

Producción de gas

En cuanto a los parámetros de producción de gas in vitro b , c , lag time, con sustrato el heno de avena c mostro un resultado significativo ($P < 0.0005$) siendo menor el nivel de inclusión de moringa 0.0006ml respecto al estándar con un efecto cuadrático, lag con resultado ($P < 0.0005$) siendo menor para el estándar mostrando un efecto lineal. La fracción b no muestra efecto significativo. Para el sustrato de alfalfa la variable lag muestra un resultado ($P < 0.0005$) siendo menor para el estándar seguido por la inclusión 0.0018ml, mostrando un efecto lineal. Para el sustrato de rastrojo de maíz no se encuentran diferencias entre tratamientos e interacción. Para el pasto kikuyo la variable b muestra un valor significativo ($P < 0.0001$) fue menor para la inclusión 0.0012 con relación al estándar y mayor para

la inclusión 0.0006, mostrando un efecto cuadrático. La variable lag con un efecto significativo ($P < 0.0005$) fue menor para la inclusión de aceite del 12% y mayor para la inclusión de aceite del 18% respecto al estándar, mostrando un efecto cuadrático.

En la producción de gas *in vitro* a las 72 hrs muestra una mayor producción de gas ($P < 0.0005$) para el heno de avena seguido por el pasto kikuyo y finalmente una menor producción para el rastrojo de maíz.

El heno de avena como sustrato muestra una disminución en la producción de gas con la inclusión de aceite de moringa 0.0006ml con una disminución del 9.29%, seguida por la inclusión 0.0018ml que muestra una disminución del 6.22% con relación al estándar inclusión 0%. Para la alfalfa la inclusión de 0.0018ml muestra un aumento del 5.43% y la inclusión del 0.0006 que muestra un aumento del 0.55% con relación al estándar. En rastrojo de maíz se muestra una disminución de producción de gas del 5.07% con la inclusión de aceite 0.0018ml seguida por la inclusión del 0.0006ml que muestra una disminución del 1.42% con relación a la muestra estándar. La fermentación del pasto kikuyo disminuye 23.09% con la inclusión de aceite del 0.0012ml y con la inclusión del 0.0006ml aumenta la producción de gas un 7.59% con respecto a la muestra estándar.

Para los diferentes sustratos MSD fue mayor ($P < 0.0005$) para inclusión de aceite de 0.0018ml y menor para el resto de las inclusiones a medida que disminuye la cantidad de inclusión de aceite, mostrando un efecto lineal ($P < 0.0005$).

Para heno de avena PGR no mostro efecto significativo. La alfalfa mostro un efecto ($P < 0.0005$) con una menor producción para inclusión 0.0006ml y mayor para la inclusión 0.0018ml respecto al estándar, con un efecto lineal. Para el rastrojo de maíz no hubo efecto significativo. El pasto kikuyo significativo ($P < 0.0005$) menor para la inclusión 0.0012ml y mayor para la inclusión 0.0006ml con relación al estándar, mostrando un efecto cuadrático.

Tabla 2. Composición química de los forrajes utilizados en gr/kg MS

| Componentes | Heno de avena | Heno de alfalfa | Rastrojo maiz | Pasto kikuyo |
|-------------|---------------|-----------------|---------------|--------------|
| MS | 919 | 903 | 925 | 201 |
| MO | 815 | 768 | 857 | 79 |
| CENIZAS | 63.1 | 135 | 68.1 | 121.7 |
| PC | 91 | 169 | 54 | 151 |
| EM | 2.2 | 2.5 | 1.10 | 2.7 |
| Ca | 0.12 | 1.5 | 0.1 | 0.25 |
| P | 0.35 | 0.3 | 0.3 | 0.25 |
| FND | 58.0 | 41.6 | 16.7 | 65.3 |
| FAD | 36.4 | 32.8 | 2.6 | 35.1 |
| LAD | 6.5 | 7.6 | 8.2 | 4.3 |

Tabla 3. Parámetros de producción de gas in vitro

Parámetros de producción de gas in vitro y volumen de gas acumulado después de 72 hrs de incubación de cuatro especies de forraje con cuatro dosis de inclusión de aceite de semilla de *Moringa oleífera* (mg/gr MS).

| Sustrato | Nivel de inclusión | Parámetros de producción de gas | | | Producción de gas in vitro g (ml/g MS acu) | | | | |
|-------------------|--------------------|---------------------------------|----------|----------|--|--------|---------|---------------------|----------|
| | | B | C | Lag | GP6 | GP12 | GP24 | GP48 | GP72 |
| Heno de avena | 0 | 196.77a | 0.0342a | 0.1260b | 36.83a | 76.22a | 106.61a | 157.67 ^a | 177.31a |
| | 6 | 182.85a | 0.0297c | 0.9230a | 24.65b | 54.34b | 87.74c | 136.77b | 160.83b |
| | 12 | 193.72 | 0.0305bc | 0.6200ab | 8.45b | 65.05b | 95.97b | 146.50b | 171.85ab |
| | 18 | 184.91 | 0.0318b | 0.8371 | 27.35b | 63.06b | 93.70bc | 141.95b | 166.27ab |
| SEM | | 5.8874 | 0.0005 | 0.2868 | 1.7577 | 2.4486 | 2.7129 | 4.1354 | 6.1116 |
| Valor P | | 0.0543 | <.0001 | 0.0077 | 0.0002 | 0.0002 | 0.0002 | 0.0015 | 0.0504 |
| efecto lineal | | 0.0388 | 0.0009 | 0.0034 | 0.0002 | 0.0002 | 0.0004 | 0.0016 | 0.0579 |
| Efecto cuadrático | | 0.5090 | 0.0003 | 0.2285 | 0.0190 | 0.0292 | 0.0604 | 0.2905 | 0.9899 |

| | | | | | | | | | | |
|--------------------------|----|--------------|--------------|--------------|--|-------------|-------------|--------|---------------------|---------|
| Alfalfa | 0 | 129.666 | 0.4303 | 0.2285 | | 8.6933 | 41.32 | 73.95 | 109.21 | 122.77 |
| | 6 | 131.905 | 0.0397 | 3.8701 | | 8.99 | 43.40 | 71.62 | 108.47 | 123.45 |
| | 12 | 137.905 | 0.0383 | 4.4095 | | 8.24 | 38.70 | 72.49 | 111.06 | 126.83 |
| | 18 | 140.078 | 0.3820 | 3.7967 | | 10.06 | 44.00 | 74.49 | 113.69 | 129.83 |
| SEM | | 6.2150 | 0.0019 | 0.2064 | | 0.8417 | 1.2182 | 3.3445 | 4.6625 | 5.0471 |
| Valor P | | 0.2181 | 0.0563 | 0.0103 | | 0.1304 | 0.0028 | 0.7133 | 0.5543 | 0.3529 |
| Efecto lineal | | 0.0743 | 0.0177 | 0.0083 | | 0.0820 | 0.0275 | 0.8482 | 0.2731 | 0.1249 |
| Efecto cuadrático | | 0.5363 | 0.1383 | 0.0601 | | 0.0926 | 0.0018 | 0.4845 | 0.9095 | 0.8903 |
| Rastrojo de maíz | 0 | 202.46 | 0.0136 | 6.9157 | | 2.65 | 13.23 | 38.67 | 88.96 | 116.29 |
| | 6 | 209.01 | 0.0130 | 7.8484 | | 2.47 | 10.24 | 35.70 | 86.15 | 114.60 |
| | 12 | 205.17 | 0.0135 | 8.0298 | | 2.59 | 9.99 | 35.93 | 87.92 | 115.48 |
| | 18 | 197.55 | 0.0136 | 8.0975 | | 2.93 | 9.38 | 34.05 | 85.00 | 110.39 |
| SEM | | 14.38 | 0.8096 | 0.0015 | | 0.5467 | 2.1988 | 3.1175 | 3.8542 | 3.9440 |
| Valor P | | 0.6873 | 0.3184 | 0.9590 | | 0.7475 | 0.2198 | 0.3940 | 0.6145 | 0.3319 |
| Efecto lineal | | 0.6873 | 0.1117 | 0.9795 | | 0.4272 | 0.0645 | 0.1075 | 0.2445 | 0.1045 |
| Efecto cuadrático | | 0.6256 | 0.3875 | 0.9173 | | 0.6959 | 0.4217 | 0.8514 | 0.7382 | 0.4660 |
| Pasto kikuyo | 0 | 175.961 | 0.0211b | 2.0992b c | | 10.97a b | 40.53a b | 63.44a | 109.65 ^a | 134.90a |
| | 6 | 181.566 | 0.0241a b | 2.3328a b | | 12.78a | 43.43a | 72.18a | 122.39 ^a | 145.98a |
| | 12 | 119.591 b | 0.0276 | 1.2640c | | 10.95a b | 42.04a | 52.88b | 84.57c | 103.75b |
| | 18 | 177.81 | 0.0225a b | 3.2084 | | 9.69b | 34.91b | 65.33a | 114.14a b | 138.48a |
| SEM | | 6.5306 | 0.0020 | 0.3890 | | 0.8090 | 2.0048 | 3.6293 | 4.7698 | 5.5625 |
| Valor P | | <.0001 | 0.0207 | 0.0021 | | 0.0106 | 0.0087 | 0.0013 | <.0001 | <0.0001 |
| Efecto lineal | | 0.7370 | 0.4274 | 0.0082 | | 0.0880 | 0.0226 | 0.5421 | 0.2829 | 0.4533 |
| Efecto cuadrático | | <.0001 | 0.0035 | 0.0010 | | 0.3064 | 0.0273 | 0.0020 | <.0001 | <.0001 |

¹ b es la asíntota de producción de gas (ml/g MS); c es el rango de producción de gas (/h); L es el tiempo de demora en iniciar la producción de gas (h).

a,b,c,d Diferentes superíndices que siguen los promedios entre los niveles de inclusión de especies de plantas e indican las diferencias a $P < 0.05$

Tabla 4. Perfil de fermentación ruminal in vitro

Perfil de fermentación ruminal in vitro de cuatro especies de plantas y cuatro niveles de inclusión de extracto de aceite de semilla de *Moringa oleifera* (mg/g MS).

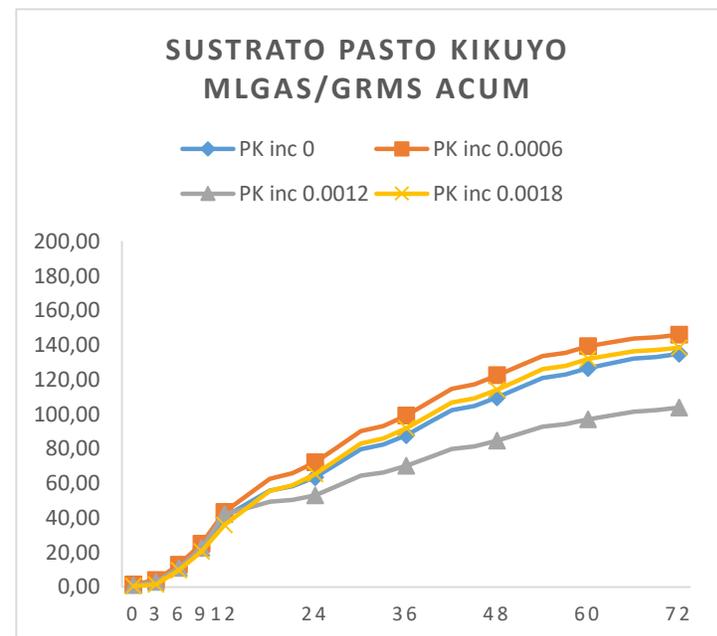
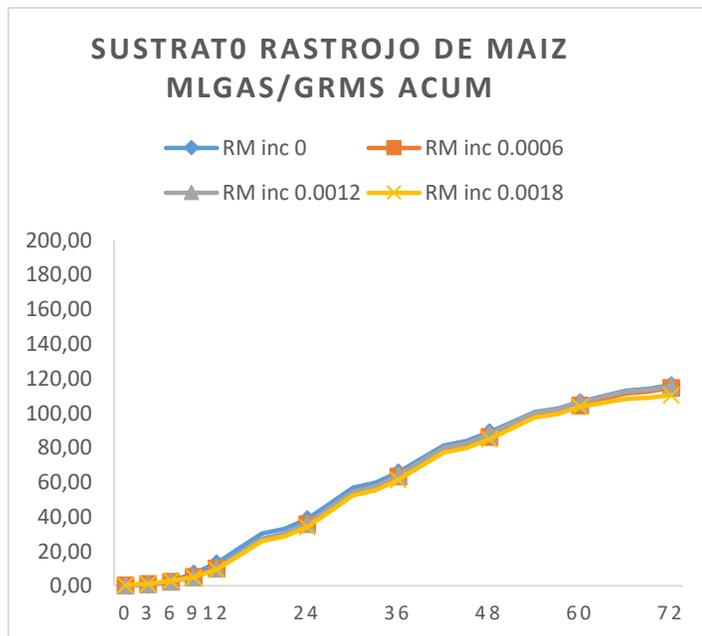
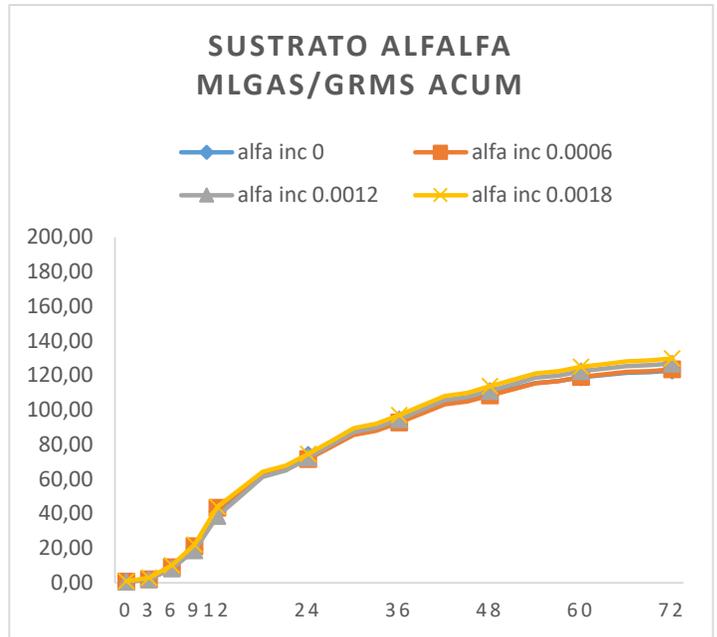
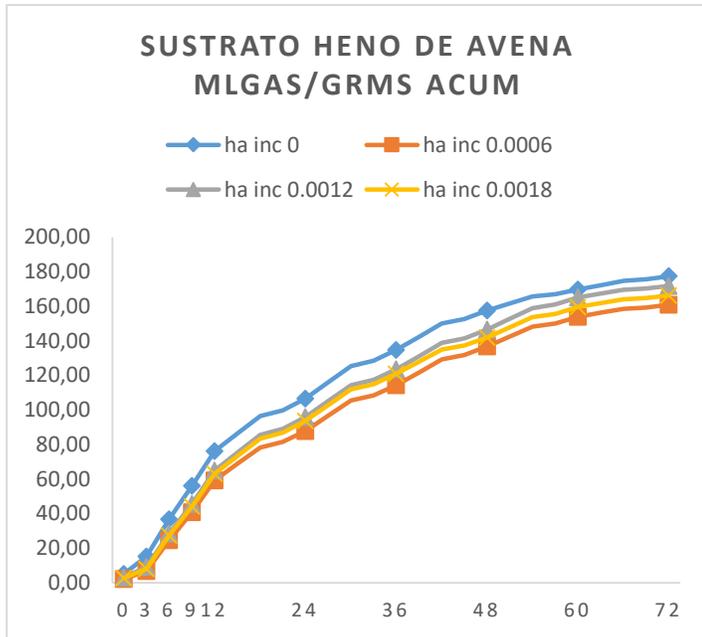
| Estratos | | MSD | PGR | PG24h | AGCC | PCM |
|-------------------|----|----------|----------|--------|----------|----------|
| Heno de avena | 0 | 0.5433a | 326.43 | 21.32a | 0.4666a | 489.75 |
| | 6 | 0.5342ab | 298.24 | 17.56c | 0.3866c | 498.75 |
| | 12 | 0.5140a | 331.30 | 19.19b | 0.4233b | 474.44 |
| | 18 | 0.5117b | 325.28 | 18.74 | 0.4133bc | 468.77 |
| SEM | | 0.0111 | 15.666 | 0.5430 | 0.0115 | 12.766 |
| Valor P | | 0.0224 | 0.114 | 0.0002 | 0.0002 | 0.075 |
| Efecto lineal | | 0.0085 | 0.931 | 0.0004 | 0.0005 | 0.078 |
| Efecto cuadrático | | 0.3169 | 0.636 | 0.0602 | 0.0755 | 0.608 |
| Alfalfa | 0 | 0.4880 | 251.75b | 14.79 | 0.326 | 457.46a |
| | 6 | 0.4862 | 254.01ab | 14.32 | 0.313 | 455.15a |
| | 12 | 0.4713 | 269.14ab | 14.49 | 0.316 | 438.10ab |
| | 18 | 0.4563 | 284.57a | 14.90 | 0.330 | 471.22b |
| SEM | | 0.0122 | 12.320 | 0.6691 | 0.014 | 11.536 |
| Valor P | | 0.0416 | 0.037 | 0.7088 | 0.463 | 0.009 |
| Efecto lineal | | 0.0130 | 0.011 | 0.8455 | 0.780 | 0.003 |
| Efecto cuadrático | | 0.9210 | 0.913 | 0.4826 | 0.276 | 0.927 |
| Rastrojo de maiz | 0 | 0.4407 | 264.01 | 7.73 | 0.166 | 422.99 |
| | 6 | 0.4312 | 265.71 | 7.14 | 0.153 | 414.29 |
| | 12 | 0.4286 | 269.41 | 7.18 | 0.156 | 410.86 |
| | 18 | 0.4121 | 267.95 | 6.81 | 0.146 | 491.68 |
| SEM | | 0.0122 | 7.920 | 0.6247 | 0.015 | 13.651 |
| Valor P | | 0.1064 | 0.843 | 0.3950 | 0.485 | 0.108 |

| | | | | | | |
|--------------------------|----|---------|----------|--------|--------|---------|
| Efecto lineal | | 0.0212 | 0.559 | 0.1079 | 0.147 | 0.022 |
| Efecto cuadrático | | 0.8047 | 0.557 | 0.8522 | 1.000 | 0.724 |
| Pasto kikuyo | 0 | 0.6112a | 220.78a | 12.69a | 0.280a | 582.09a |
| | 6 | 0.5677b | 257.14a | 14.43a | 0.316a | 531.57b |
| | 12 | 0.5610b | 184.98c | 10.57b | 0.230b | 533.39b |
| | 18 | 0.5572b | 248.62ab | 13.06a | 0.286a | 524.58a |
| SEM | | 0.0102 | 10.794 | 0.7260 | 0.015 | 9.292 |
| Valor P | | 0.0007 | 0.0001 | 0.0013 | 0.001 | 0.0002 |
| Efecto lineal | | 0.0002 | 0.0134 | 0.5429 | 0.613 | <.0001 |
| Efecto cuadrático | | 0.0126 | 0.0002 | 0.0020 | 0.001 | 0.016 |

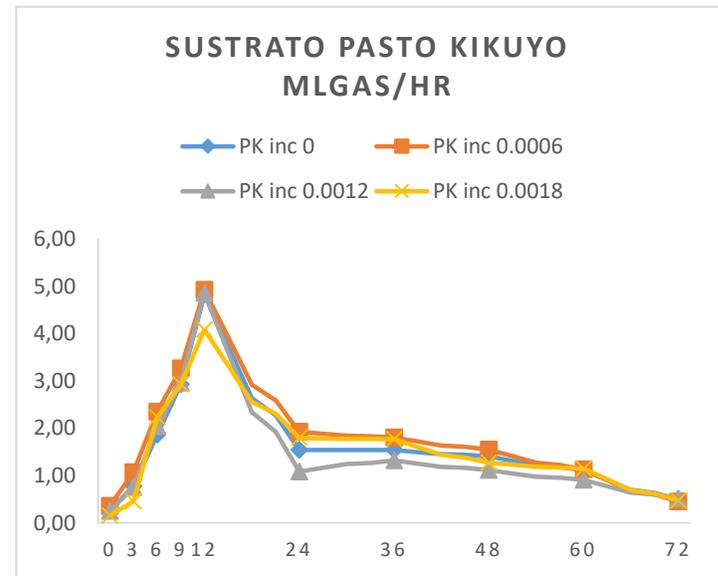
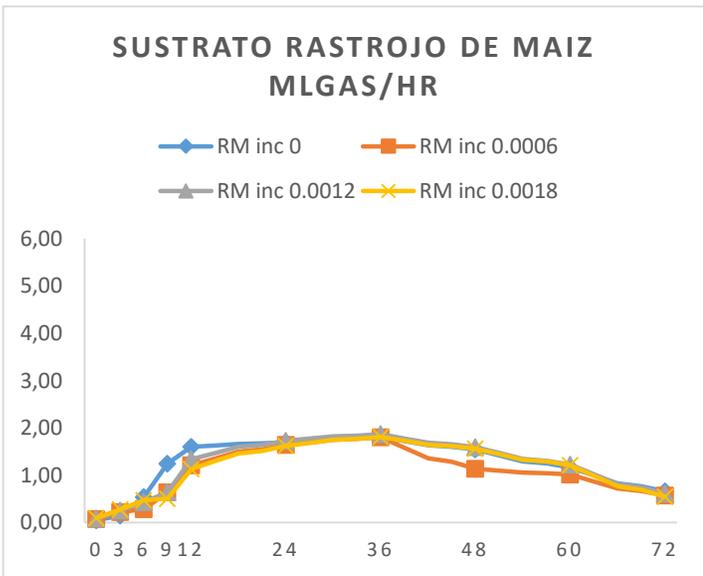
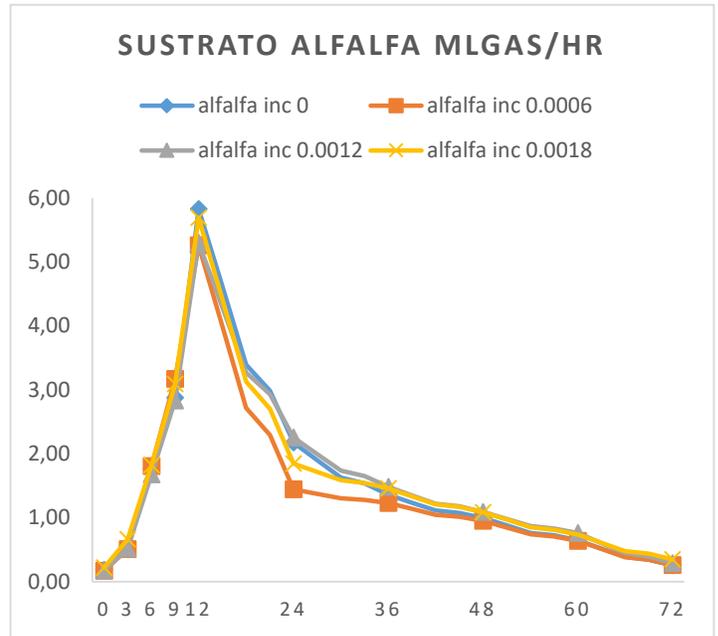
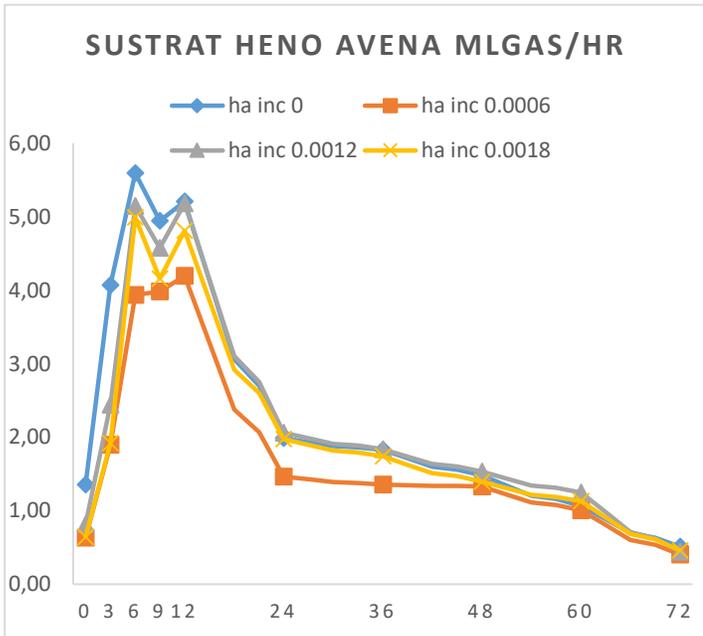
PG₂₄ es producción de gas a las 24 h (ml gas/g); AGCC Es ácidos grasos de cadena corta (mmol/g MS); PCM es proteína cruda microbiana (mg/g MS).

^{a,b,c,d} Diferentes superíndices que siguen los promedios entre los niveles de inclusión de especies de plantas e indican las diferencias a $P < 0.05$

Gráficos 1. Perfiles de producción de gas in vitro (ml/grs MS) de raciones mixtas totales (TRM) que contienen diferentes niveles de inclusión aceite de *moringa oleífera*



Gráficos 2. Perfiles de producción de gas in vitro (ml/hrs) de reacciones mixtas totales (RMT) que contienen diferentes niveles de inclusión de aceite de *Moringa oleífera*.



DISCUSIÓN

Los sustratos que contienen mayor cantidad de proteína fueron el heno de alfalfa, seguido por el pasto kikuyo, mayor contenido de energía metabolizable para el pasto kikuyo, seguido por el heno de alfalfa y los resultados coinciden con el (NRC, 2012)

El perfil de ácidos grasos del aceite de semillas de *Moringa oleífera*, muestra que alrededor del 75% de ácidos grasos son monoinsaturados, donde el ácido graso predominante es el ácido oleico y el 25% son ácidos grasos saturados y dentro de esto el palmítico representa el 7.96% (Herrera , y otros, 2016). En tratamientos con aceites poliinsaturados, monoinsaturados y glicerol, la producción de gas in vitro disminuye del 12 al 20% y afecta los parámetros de fermentación (Castagnino *et al.* 2015). En el presente estudio el aceite disminuyó la fermentación de 5.07% a 23.09% con las diferentes inclusiones agregadas al sustrato.

Patra y Yu, (2012) Realizaron una investigación en la cual utilizaron cinco aceites esenciales (aceite de clavo, eucalipto, ajo, orégano y menta) todos redujeron significativamente la producción de metano, la materia seca disminuyó con el aumento de las dosis y las concentraciones de ácidos grasos volátiles no se vieron afectadas y demostraron que va de la mano la disminución de la metanogénesis con la disminución de la fermentación total. En el presente estudio redujo la producción con 0.0006 ml, 0.0018 ml, 0.0012ml, para el heno de avena, rastro de maíz y pasto kikuyo respectivamente, la materia seca disminuyó con el aumento de las dosis de aceite.

Orozco et al, (2016) realizó un trabajo donde evaluó el efecto de la adición de semillas como *Thavethia peruviana* y frutos de aguacate *Persea americana* en cultivos in vitro de líquido ruminal y como resultado obtuvo una reducción de metano sin afectar la producción de ácidos grasos volátiles y digestibilidad del forraje. En el presente estudio no se realizó medición de metano, pero la adición del aceite favoreció la digestibilidad y aumento la cantidad de materia seca desaparecida

Roldan, (2017) realizo un estudio de producción de gas in vitro adicionó extracto de tomillo a los forrajes en inclusiones de 0.0006, 0.0012, 0.0018ml, se mostró un aumento en la fermentación, debido a la alta cantidad de carbohidratos que muestra su composición tal como lo menciona (Robles, 2010) a diferencia del presente estudio donde se utilizaron los mismos forrajes pero la fermentación disminuyo con relación al estándar por el efecto de la inclusión del aceite.

CONCLUSIÓN

Se concluye que la adición de aceite de moringa tuvo efectos positivos sobre la mitigación de gases de efecto invernadero difiriendo entre los sustratos, para el heno de avena la inclusión de 0.0006ml fue capaz de disminuir el 6.22% de la fermentación total con relación al estándar, para el rastrojo de maíz la inclusión de 0.0018ml disminuyo 5.43% y para el pasto kikuyo la inclusión de 0.0012ml disminuyo el 23%. Favoreciendo el incremento de la materia seca desaparecida con el aumento de las dosis de aceite.

La disminución de la fermentación total va de la mano con la disminución de la metanogénesis, como lo han demostrado autores que realizaron un estudio de metano con la adición de aceites poliinsaturados a diversos sustratos.

LITERATURA CITADA

- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis* (15th ed.). USA: Association of Official Analytical Chemists.
- APG. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical Journal*(161), 105-121.
- Blümmel, M., y Orskov , E. (1993). Comparison of gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle . *Animal Feed Science and Technology* , 40 , 109-119.
- Blümmel, M., Makkar, H., y Becker, K. (1997). In vitro gas production: a technique revisited . *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* , 77, 24-34.
- Blümmel, M., Steingass, H., y Becker, K. (1997). The relationship between in vitro gas production, in vitro microbial biomass yield and 15N incorporation and its implication for prediction voluntary feed intake. *British Journal of Nutrition* (81), 911-921.
- Carmona, J. C., Bolivar, D. M., y Giraldo , L. A. (2005). El gas metano en la producción ganadera y alternativas para medir sus emisiones y aminorar su impacto a nivel ambiental y productivo. *Colombiana de ciencias pecuarias*, 18(1), 49-64.
- Castagnino, P.S., Meesana J.D., Fiorentini G., De Jesus R.B., San Vito E., Caravalo IPC, Berchielli, T.T (2015). Glicerol combined with oils did not limit biohydrogenation of unsaturated fatty acid but reduced methane production in vitro. *Animal feed science and technology* 201: 14-15
- Church , D. (1988). El Rumiante, Fisiología digestiva y nutrición. (Lengua Española ed.). ZARAGOZA (España): Acribia .
- Cobos, P. M., González, S. M., Mendoza, G. M., García , C. B., y Barcena, R. G. (1997). Nutritional evaluation of cattle manure, molasses and corn stover silage for lambs. *Small Ruminant Research*. 25, 33-38.
- Cuvelier, C., Cabaraux, J., Dufrasne, I., Hornick, J., y Istasse, L. (2004). Acide gras: Nomenclature et sources alimentaires . 148, 133-140.
- Doreau , M., Martin , C., Egéne , M., Popova, M., y Morgavi, D. (2011). Leviers d'action pour réduire la production de méthane entérique par les ruminants. *INRA Productions Animales* , 24: 461-474.

- Estabraham´s. (2009). *Estabraham´s Blog* . Recuperado el 14 de Febrero de 2018, de <https://estabraham.wordpress.com/generalidades-del-pasto-de-corte>
- FAO. (1990). *Utilización de alimentos tropicales: cereales*. Roma.
- FEDNA. (2016). *Fundacion Española para el Desarrollo de la Nutricion Animal* . Recuperado el 18 de Noviembre de 2017, de <http://www.fundacionfedna.org/forrajes/alfalfa-heno-en-rama>
- France , J., Dhanoa , M., Theodorou, M., Lister , S., Davies , D., y Isac, D. (1993). . A model to interpret gas accumulation profiles associated with in vitro degradation of ruminant feed. *Journal of Theoretical Biology* , 163, 99-111.
- Gerber, P. J., Steinfeld, H., Henderson, B., Mottet , A., Opio , C., Dijkman, J., Tempio, G. (2013). *Enfrentando el cambio climático a través de la ganadería*. Roma: FAO.
- Gerber, P., Henderson, B., y P., H. (2013). mitigación de las emisiones de gases de efecto invernadero en la producción ganadera. *fao producción y sanidad animal* , 251.
- Getachew , G., Makkar , H., & Becker, K. (1998). The in vitro gas coupled with ammonia measurement for evaluation of nitrogen degradability in low quality roughages using incubation medium of different buffering capacity. *Science of Food and Agriculture* , 77(1), 87-95.
- Getachew, G., Makkar, H. P., y Becker, K. (2002). Tropical browses: contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*(139), 341-352.
- Getawech, G., Blümmen, M., Makkar, H. P., y Becker, K. (1988). In vitro gas measuring techniques for assessment of nutritional quality of feed: a review. *Animal Feed Science and Technology*(48), 185-197.
- Gonzalez Ronquillo, M., Fondevila, M., Barrios Urdaneta, A., & Newman, Y. (1998). In vitro gas production from buffel grass (*Cenchrus ciliaris* L.) fermentation in relation to the cutting interval, the level of nitrogen fertilisation and the season of growth. *Animal Feed Science and Technology*, 19-32.
- Herrera , J., Alvarez , O., San Juan , J., Sierra , Y., Hernández , N., Cruz, A., y Bravo , N. (2016). Rendimiento oleoso, valor nutricional y perfil de ácidos grasos en Moringa oleífera cultivada en Tzitzio, Michoacán. *Congreso estatal de ciencia, tecnología e innovación*.
- Huhtanen, P., Cabezas , E., Utsumi, S., y Zimmerman, S. (2015). Comparison of methods to determine methane emissions from dairy cows in farm conditions. *American Dairy Science Association* .

- INEGI. (2009). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Toluca de Lerdo*. Recuperado el 15 de 02 de 2017, de http://www3.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/15/15090.pdf
- Inifap, S. (2013). Produccion y consumo de rastrojos en México . *RASTROJOS*. 7: 13-23.
- IPCC. (2007). Cambio Climático 2007. *Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático*, 2.
- Janssen , P. (2010). Influence of hydrogen on rumen methane formation and fermentation balances through microbial growth kinetics and fermentation thermodynamics. *Journal of Dairy Science* , 160: 1-22.
- Jurado , P., Lara, C., y Sierra , J. (2014). *Guia tecnica para la produccion de avena forrajera en chihuahua*. Recuperado el 18 de noviembre de 2017, de http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/8/2013/trimestrales/an_exo_2413-5-2014-02-2.pdf
- Krishnamoorthy, U., Soler, H., Steingass, H., y Menke, K. (1991). A comparative study on rumen fermentation of energy supplements in vitro. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 65, 28-35.
- ku, J., Ayala , A., Pérez , C., Herrera , J., y Castelan , O. (2012). *Emisiones de metano por rumiantes*. Recuperado el 07 de Nov de 2017, de <http://www.cyd.conacyt.gob.mx/259/articulos/emisiones-de-metano.html>
- López-Malo, A., Palou, E., Jimenez, M., Alzamora, S. M., y Guerrero, S. (2005). Multifactorial fungal inactivation combining thermosonication and antimicrobials. *Journal of Food Engineering*, 67, 87-93.
- Martínez , M. (1959). *Plantas útiles de la flora Mexicana, BOTAS* . México D.F: 621p.
- Martínez, A., Pérez , M., Pérez , L., y Gómez, G. (2010). Digestión de los lípidos en los rumiante: Revisión. *INTERCIENCIA* , 35(4), 240-246.
- McDonald, P., Edwards, R., Greenhalgh, J., y Morgan, C. (1999). *Nutricion animal* (5ta ed.). ZARAGOZA (España): Acribia. S.A.
- Mendoza , G., Plata, F., Espinoza , R., y Lara, A. (2008). Nutritional management to improve efficiency in the use of energy in ruminants. *Universidad y ciencia* , 24.
- Menke , K., y Steingass, H. (1998). Estimation of energetic feed value obtained from chemical analyses and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research*(28), 7-55.

- Menke, K., Raab, K., Salewski, L., Steingass, A., Fritz, H., & Schaneider, D. (1979). 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. *Journal of Agricultural Science*, 93, 217-222.
- Mohamed Gomaa, R. M. (2016). *Desarrollo de estrategias para reducir la producción de metano a nivel ruminal por el ganado bovino en México*. Toluca: UAEM.
- Mohamed, R., González, M., Arredondo, J., Molina, L., y Castelán, O. (2016). Effect of tanniferous plants on in vitro digestion and methane production. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 4(11), 371-380.
- Morand-Fehr, M., y Tran, G. (2010). La fracción de lípidos de alimentos y grasas utilizados en la alimentación animal. *INTERCIENCIA*, 35(4), 240-246.
- Mulet, A., Cárcel, J. A., Benedito, J., y Sanjuan, N. (2002). Applications of low-intensity ultrasonics in the dairy industry. *Enginnering and food for the 21 Century*, 763-783.
- National Research Council. (2007). *Nutrient requirements of small ruminants (Sheep, goats, cervids, and new world camelids)*. Washington.
- NRC. (2012). *Nutrient Requirements of Swine*. 11th Ed. Washington DC: National Academy Press.
- Odongo, N., Bagg, R., Vessie, G., Dick, P., Orrashid, M., Hook, S., McBride, B. (2007). Long-term effects of feeding momensins on methane production on lactating dairy cows. *Journal Dairy Science*, 90: 1781-1788.
- Orozco, K., Herrera, J., Castelan, O., Márquez, L., Buenrostro, O., y Kú, J. (2016). Reducción de la metanogénesis ruminal in vitro con aceites vegetales de *Thevetia peruviana* y *Persea americana*. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 9: 335-344.
- Patra, A., y Yu, Z. (2012). Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations. *NCBI* (4271-80).
- Rabiee, A., Breinhild, K., Scott, W., Golder, H., Block, E., y Lean, I. (2012). Effect of fat additions to diets of dairy cattle on milk production and components: A meta-analysis and meta-regression. *Journal Dairy Science*, 95, 3225-3247.
- Reyes, N., y Spörndly, 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: 34-31.

- Robles , M. (2010). Efecto de extractos de productos naturales. Universidad Autónoma de Nuevo León .
- Robles H., M. d. (2010). *Efecto de extractos de productos naturales para controlar la presencia de Campylobacter jejuni y Salmonella spp en carne molida de pollo*. Nuevo León : Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Rusell, J., y Wallace, R. (1997). *The rumen microbial Ecosistem*. 2da Ed. London : P.J Hobson and C.S Stewart.
- SAS. Institute, Inc. (2002). *User's guide: Statistics, Statistical*. 8 Ed. Cary, North Carolina, U.S.A.
- Schneeman, B. O. (1989). Dietary fiber. *Food Technology*, 10: 133-138.
- Silveira , E., y Franco, R. (Noviembre de N de 2006). *Conservacion de forrajes: Primera parte*. Recuperado el 19 de Noviembre de 2017, de <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111106.html>
- Steel, R., Torrie, J., y Dicky, D. (1997). *Principles and Procedures of Statistics, A Biometrical Approach* (3rd ed.). New York: MacGraw Hill.
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar , T., Castel, V., Rosales, M., y Haan, C. (2009). Problemas ambientales y opciones . *La larga sombra del ganado* .
- Theander, O., Westerlund, E., y Aman, P. (1994). Structure and components of dietary fiber. *Journal Article in AGRIS*, 38(3), 135-138.
- Theodorou, M., Williams, B., Dhanoa, M., McAllan, A., y France, J. (1994). Simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 3-4(48), 185-197.
- Torley, P. J., y Bhandari, B. R. (2007). Ultrasound in food procesing and preservation. *Handbook of food preservation*, 713-739.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., y Lewis, B. A. (1991). Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*(74), 3583-3597.
- Wolin, M. (1960). A theoretical rumen fermentation balance. *Journal Dairy Science* , 43, 1452-1459.