

UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**“EFECTO DE FORRAJE DE MORINGA, DE SEMILLA DE SACHA INCHI
(*Plukenetia volubilis*) Y *Acacia mearnsii* EN LA FERMENTACIÓN Y
ECOLOGÍA MICROBIANA RUMINAL”**

Trabajo de investigación previo a la obtención del grado de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Autora:

Evelyn Katherine Paucar Manjarres

Tutor:

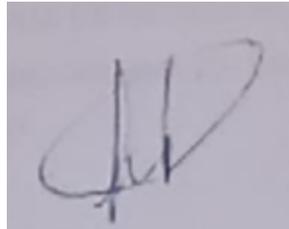
Ing. Marcos A. Barros Rodríguez, Ph.D

CEVALLOS – ECUADOR

2021

DECLARACION DE ORIGINALIDAD

“Yo, Evelyn Katherine Paucar Manjarres, portadora de la cedula de identidad número: 180491972-6, libre y voluntariamente enuncio que el Informe Final del Proyecto de Investigación titulado: **“EFECTO DE FORRAJE DE MORINGA, DE SEMILLA DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis*) Y *Acacia mearnsii* EN LA FERMENTACIÓN Y ECOLOGÍA MICROBIANA RUMINAL”**, es genuino, original o único y personal. En dicha virtud, expreso que el contenido plasmado es de mi sola responsabilidad legal y académica, con excepción en la parte que se indican las fuentes de información examinadas.



Srta. Evelyn Katherine Paucar Manjarres

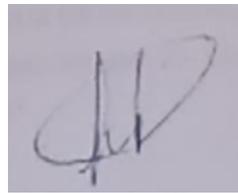
C.I. 180491972-6

AUTORA

DERECHOS DE AUTOR

“Al presentar el Informe final del Proyecto de Investigación titulado: “EFECTO DE FORRAJE DE MORINGA, DE SEMILLA DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis*) Y *Acacia mearnsii* EN LA FERMENTACIÓN Y ECOLOGÍA MICROBIANA RUMINAL” autorizo a la institución (Universidad Técnica de Ambato), para que este documento esté disponible para su lectura, consulta o procesos de investigación, según las normas de la Universidad.

Cedo mis derechos de forma patrimonial de mi proyecto, con fin de transmisión pública mediante las regulaciones de la Institución, siempre y cuando la reproducción no suponga ganancias económicas potenciales.



Srta. Evelyn Katherine Paucar Manjarres

C.I. 180491972-6

AUTORA

APROBACION DEL TRIBUNAL DE GRADO

“EFECTO DE FORRAJE DE MORINGA, DE SEMILLA DE SACHA INCHI (*Plukenetia volubilis*) Y *Acacia mearnsii* EN LA FERMENTACIÓN Y ECOLOGÍA MICROBIANA RUMINAL”

APROBADO POR:



Firmado electrónicamente por:
**MARCO OSWALDO
PEREZ SALINAS**

20/07/2021

Ing. Marco Pérez Salinas

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



Firmado electrónicamente por:
**MARCO ANTONIO
ROSERO
PENAHERRERA**

20/07/2021

Dr. Marco Rosero,

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



Firmado electrónicamente por:
**RAMON GONZALO
ARAGADVAY YUNGAN**

20/07/2021

Ing. Gonzalo Aragadvay

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

“Mira que te mando que te esfuerces y seas valiente, no temas ni desmayes, porque Jehová tu Dios estará contigo en dondequiera que vayas:” Josué 1:9

AGRADECIMIENTO

A menudo la vida se nos presenta oportunidades o circunstancias en las cuales tenemos mucho y a muchos, que agradecer y se hace a veces tan difícil empezar agradecer desde al que más ha dado o al que menos ha dado; y es tan difícil porque uno no acaba de comprender quien mismo dio más; es por eso que comienzo agradeciendo segura a Dios junto con mis padres, hermanos, abuelitas, tíos y en general a toda mi familia y a todos aquellos que me dieron la oportunidad de compartir mis estudios universitarios en una de las mejores universidades de país como es la UTA (Universidad Técnica de Ambato); maestros, quienes con su sabiduría me inculcaron valiosos conocimientos que me servirán en mi futura vida profesional, compañeros y amigos con quienes compartí instantes de aprendizaje y de infinitos e inolvidable momentos de alegría y sueños a quienes en un futuro no poder verlos cada día pero los llevare en mi corazón y mi mente todos los días de mi vida, a todos ellos; no me queda más que desde el fondo de mi corazón darles un abrazo y un eterno agradecimiento.

**“He peleado la buena batalla, he acabado la carrera, he guardado la fe.”
2Timoteo 4:7**

**“No hay secretos para el éxito,
Este se alcanza preparándose,
Trabajando arduamente y
aprendiendo del fracaso”**

DEDICATORIA

La vida es una constante lucha, desde el momento que somos creamos hasta el momento que dejamos de existir, tiempo en el cual, en nuestra mente se producen sueños, que son metas o propósitos que debemos alcanzar y cada día de tu vida nunca debes dejar de luchar por conseguirlos, y en esta dura batalla siempre va a ver seres que te acompañen, te guíen, te enseñen; y vas consiguiendo tus metas, y dan como culminación la conquista de los sueños que siempre te has propuesto. Durante este duro proceso asoman muchos seres a quienes uno se les tiene mucha gratitud pero de todos estos seres uno siempre se tiene en la mente a los mejores a los que más te han apoyado a quienes se les dedica la meta final, quienes han estado conmigo en las buenas, en las malas, en la salud y en la enfermedad por eso a ellos a mis padres con quienes compartí la alegría y la tristeza durante toda mi vida estudiantil, a ellos les dedico esta, mi culminación como Medica Veterinaria y Zootecnista en una de las mejores universidades del país La UTA (Universidad Técnica de Ambato), asíéndoles entender también que nunca se termina de aprender y que mis sueños serán siempre seguir conquistando nuevas metas.

Att. Evelyn Paucar Manjarres

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
CAPITULO I	
1.1. INTRODUCCION.....	3
CAPITULO II	
REVISIÓN DE LITERATURA O MARCO TEÓRICO	6
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	6
2.2. Características Fundamentales.....	10
2.2.1. Moringa (<i>Moringa oleífera</i>).....	10
2.2.2. Sacha Inchi (<i>Plukenetia volubilis</i>).....	10
2.2.2.1. Propiedades de la semilla.....	11
2.2.3. Acacia (<i>Acacia Mearnsii</i>)	12
2.2.4. Taninos.....	12
CAPITULO III	
HIPOTESIS Y OBJETIVOS	13
3.1. HIPOTESIS.....	13
3.2. OBJETIVOS	13
I. OBJETIVO GENERAL	13
II. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
CAPITULO IV	
METODOLOGIA	14
4.1. Ubicación del experimento.....	14
4.2. Características del lugar	14
4.2.1. Clima	14
4.2.2. Suelo	14
4.2.3. Agua.....	14
4.3. Animales	15
4.4. Alimentación	15

4.5.	Alojamiento.....	15
4.6.	Equipos y materiales	15
4.6.1.	Equipos.....	15
4.6.2.	Materiales.....	15
4.6.2.1.	Material Vegetal.....	15
4.6.2.2.	Obtención del forraje de moringa	16
4.6.2.3.	Obtención la Semilla de Sacha Inchi.....	16
4.6.2.4.	Obtención de Acacia mearnsii	16
4.6.3.	Material Biológico	17
4.6.4.	Material Químico	17
4.6.5.	Material Inerte	17
4.7.	METODOS.....	18
4.7.1.	FACTORES DE ESTUDIO	18
4.7.2.	TRATAMIENTOS.....	18
4.8.	DISEÑO EXPERIMENTAL	19
4.9.	VARIABLE RESPUESTA	19
4.9.1.	Producción de gas <i>in vitro</i> (CO ₂).....	19
4.9.2.	Degradación ruminal de la MS.....	20
4.9.3.	Digestibilidad aparente <i>in vitro</i>	21
4.9.4.	Ecología microbiana (protozoarios de rumen)	21
CAPITULO V		
5.	RESULTADOS.....	22
5.1.	Degradación ruminal y digestibilidad <i>in vitro</i> MS	22
5.2.	Parámetros de producción de gas, metano y dióxido de carbono.....	23
5.3.	Población de Protozoos en el rumen	24
6.	DISCUSIÓN.....	25
6.1.	Degradación ruminal <i>in situ</i>	25
6.2.	Digestibilidad <i>in vitro</i>	25
6.3.	Fermentación	25
6.4.	Población de Protozoos en el rumen	26

CAPITULO VI

6.1. CONCLUSIONES	27
6.2. BIBLIOGRAFIA	28
6.3. ANEXOS.....	35

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Cinética de degradación ruminal y digestibilidad <i>in vitro</i> de materia seca. 22
Tabla 2. Parámetros de la producción de gas, metano y dióxido de carbono..... 23
Tabla 3. Población de protozoarios Holotricos y Entodiniomorfos en el rumen cuantificados a las diferentes horas (12, 24 y 48) por incubación..... 24

INDICE DE CUADROS

CUADRO. 1. Características taxonómicas de moringa (<i>Moringa oleífera</i>) 10
CUADRO.2. Contenido nutricional de las hojas de moringa (100G)..... 10
CUADRO. 3. Composición química de la semilla de sachá inchi (<i>Plukenetia volubilis</i>).....¡E rror! Marcador no definido.
CUADRO.4. Composición antinutricional de acacia..... 12
CUADRO.5. Diseño cuadro latino de 5x5 (5 tratamientos – 5 rumiantes)..... 18

TEMA DE INVESTIGACIÓN

**“EFECTO DE FORRAJE DE MORINGA, DE SEMILLA DE SACHA INCHI
(*Plukenetia volubilis*) Y *Acacia mearnsii* EN LA FERMENTACIÓN Y
ECOLOGÍA MICROBIANA RUMINAL”**

AUTORA: EVELYN KATHERINE PAUCAR MANJARRES

Cevallos – Ecuador

RESUMEN

Se determinó el efecto de la inclusión de la semilla de Sacha Inchi, forraje de *Moringa oleífera* y *Acacia mearnsii* en la dieta de ovinos sobre la fermentación y la ecología microbiana ruminal. La investigación se desarrolló en el campus Querocha de la Universidad Técnica de Ambato. Cinco tratamientos fueron evaluados: T1; (Moringa 40%- 60%Forraje), T2; (sacha inchi 40%- Forraje60%), T3; (Acacia 40%- Forraje 60%), T4; (Moringa 30%, Sacha inchi 30%, Acacia 30% y forraje 10%), bajo un diseño de cuadrado latino (5x5). La degradación de la materia seca (MS) en el rumen, digestibilidad aparente de la MS y la Producción de gas, metano y dióxido de carbono fue evaluado. La fracción soluble (A) fue mayor (P=0.0001) en el tratamiento T2 (41.2%), en la fracción insoluble pero potencialmente degradable (B) no se observó diferencias entre los tratamientos evaluados (P=0.1602). La tasa de degradación en % por hora (c) fue mayor (P=0.0001) en T1. El potencial de degradación A+B fue mayor (P=0.0006) en T2 (77.6%). La degradación efectiva a las diferentes tasas de pasaje 0.02, 0.05 y 0.08 k fue mayor (P=0.0001) en T1 (65.1, 56.8 y 52.3 % respectivamente). La digestibilidad de la MS fue mayor (P=0.0001) en el T5 (53.7). La producción de gas, CH₄ y CO₂ fue menor (P=0.0001) en los tratamientos T1 y T2. Las poblaciones de protozoos Holotricos y Entodimorfos a las 12 horas no mostraron diferencias significativas entre tratamientos (P=0.9438 y P=0.1242 respectivamente). A las 24 horas la población de protozoos Holotricos fue menor (P=0.0010) en T3 y T5. Sin embargo, la población de protozoarios Entodimorfos no presentaron diferencias (P=0.1082) entre tratamientos. Bajo las condiciones de este estudio, se puede concluir que: la inclusión del forraje de *Moringa oleífera*, *Plukenetia volubilis* y *Acacia mearnsii* en la dieta de rumiantes, disminuyen la producción de gases de efecto invernadero y la población de protozoarios del rumen.

Palabras claves: degradabilidad, digestibilidad, fermentación ruminal, producción de gas.

SUMMARY

The effect of the inclusion of the seed of *Sacha Inchi*, forage of *Moringa oleifera* and *Acacia mearnsii* in the diet of sheep on fermentation and rumen microbial ecology was determined. The research was developed at the Querocha campus of the Universidad Tecnica de Ambato. Five treatments were evaluated: T1; (Moringa 40%- 60% fodder), T2; (sacha inchi 40%- fodder 60%), T3; (Acacia 40%- fodder 60%), T4; (Moringa 30%, Sacha inchi 30%, Acacia 30% y fodder 10%), under a Latin square design (5x5). The rumen degradation of the Dry Matter, Apparent digestibility of the Dry Matter and Production of gas, methane and carbon dioxide were evaluated. The soluble fraction (A) was higher ($P = 0.0001$) in the T2 treatment (41.2%), in the insoluble but potentially degradable fraction (B) no differences were observed between the evaluated treatments ($P = 0.1602$). The degradation rate in% per hour (c) was higher ($P = 0.0001$) in T1. The potential for A + B degradation was higher ($P = 0.0006$) in T2 (77.6%). The effective degradation at the different passage rates 0.02, 0.05 and 0.08 k was higher ($P = 0.0001$) in T1 (65.1, 56.8 and 52.3% respectively). DM digestibility was higher ($P = 0.0001$) in T5 (53.7). The production of gas, CH₄ and CO₂ was lower ($P = 0.0001$) in treatments T1 and T2. Holotric and Entodinomorphic protozoa populations at 12 hours did not show significant differences between treatments ($P = 0.9438$ and $P = 0.1242$ respectively). At 24 hours, the Holotric protozoa population was lower ($P=0.0010$) in T3 and T5. However, the population of Entodinomorphic protozoa did not show differences ($P=0.1082$) between treatments. Under the conditions of this study, it can be concluded that the inclusion of *Moringa oleifera*, *Plukenetia volubilis* and *Acacia mearnsii* forage in the diet of ruminants, reduces the production of greenhouse gases and the population of rumen protozoa.

Keywords: degradability, digestibility, ruminal fermentation, gas production

CAPITULO I

1.1. INTRODUCCION

En lo que compete a la nutrición de los bovinos se debe tomar en cuenta que su alimentación es a base de gramíneas y leguminosas rastreras dependiendo de la zona latitudinal en la que se encuentre; con respecto a la costa y sierra que presentan monocultivos de gramíneas y en lo que compete al alti plano es de Monocultivo de mezclas forrajeras entre gramíneas y leguminosas rastreras; sin embargo los balances nutricionales principalmente del aportes de energía hay que tenerlos en cuenta ya que un déficit en esta podría llevar a problemas como: la pérdida de peso, el acortamiento de producción láctea y descenso de la misma, entre otras (Huber, Ramírez and Oxf, 1978). Por otro lado, en lo que respecta a una carencia de proteína en el suministro de alimento contribuirá con el descenso de ácidos grasos volátiles (AGV's), ya que la biomasa bacteriana está compuesta de alrededor del 50% de proteína (Makkar, 2009).

Actualmente la ganadería ha sido señalada como un responsable principal de los problemas medioambientales; debido a que genera más gases de efecto invernadero que otras explotaciones agropecuarias; por lo cual este proyecto tiene como fin la evaluación de la aplicación de nuevas dietas a base de forrajes como: Forraje de *Moringa oleifera*, *Acacia mearnsii* y Sacha Inchi, para disminuir la producción de AGV's, (propionico, acético y butírico principalmente) sin alterar de forma negativa la fisiología animal como por ejemplo la degradabilidad ruminal, la digestibilidad ruminal, entre otros (Borge, 2011) & (Czajkowski *et al.*, 2017)

Estudios anteriores afirman que la reducción de la producción de gas se da por una baja degradabilidad ruminal, sin embargo, si el suministro de alimento tiene una degradabilidad alta pero con un alto valor de proteína cruda (PC) también se producirá menor cantidad de gas (Melesse *et al.*, 2012), a pesar de esta afirmación se debe tener cuidado debido a que un exceso de PC podría producir daño al animal (toxicidad del amoníaco (NH₃) en el organismo, reducción de fertilidad) a pesar de

que esta sea utilizada por los microorganismos para la síntesis de sus propias proteínas y aminoácidos al ser transformada a nivel ruminal a NH₃ (degradación de la proteína a péptidos y aminoácidos y estos a través de las enzimas a amoníaco) el exceso de éste una vez absorbido es dirigido al hígado para ser sintetizado en aminoácidos, otros compuestos nitrogenados y urea próximamente excretada en forma de orina, leche y saliva. Por otro lado dicho daño no es confirmado ya que entre estudios realizados se han presentado controversias en este punto (Mejía and Mejía, 2007).

La *Moringa oleifera* es una nueva fuente de proteína cruda (PC) y carbohidratos estructurales, que ha demostrado en estudios anteriores producir una baja cantidad de gas debido a su alto contenido de proteínas y grasas en las hojas (Rusdy, Yusuf and Ismartoyo, 2020) & (Luz and Santacoloma, 2011). Por otro lado (Melesse and Berihun, 2013) mencionan que el alto contenido de lignina (única fibra no carbohidrato o no polisacárido conocida y abundante en el mundo vegetal) en las vainas verdes produce una reducción en la producción de gas, debido a que produce un limitado ataque de los microorganismos al suministro alimenticio (Miron *et al.*, 2016), (Moyo *et al.*, 2011) & (Makkar, 2009).

La *Acacia mearnsii* es una fuente natural de proteína, fibra y alta concentración de taninos condensados, benéficos para los bovinos ya que producen un efecto llamado proteína sobrepasante debido al enlace proteína-tanino, el cual consiste en proteger la proteína que se encuentra libre en el rumen de la degradación de los microorganismos ruminales; este efecto produce una disminución en la degradación de PC y de la FDN dándonos como resultado una menor producción de gas metano y AGVs (propiónico, acético y butírico); y una mejor utilización de nitrógeno ya que inhibe a la ureasa microbiana ruminal impidiendo un exceso de nitrógeno en el rumen (Noreljaleel *et al.*, 2019) & (Kazemi, M., 2012).

La semilla de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) es considerada como una fuente de proteína (27%), aceites (34- 60%) y una alta concentración de ácidos grasos

polisacáridos (48,6%) entre ellos el de mayor concentración es el α -linolénico (50,8%); Dohme-Meier *et al.*, (2014) señala que las grasas con alta concentración de ácidos grasos puede producir una disminución de metano y de protozoos ya que es tóxica para dicha población; la misma que se encuentra en simbiosis con las bacterias metanogénicas por lo que su población también disminuiría y al ser estas las responsables de la degradación de la materia orgánica para la formación de metano, es directamente proporcional a la disminución del mismo (López, K; Santa Cruz, C; Gutiérrez, 2016), (Francisco de Paula, et al., 2015) & (Prieto-Manrique, 2016)

Tomando en cuenta estos antecedentes se puede llegar a la conclusión de que el desbalance proteico tanto como el energético se debe a la baja calidad alimenticia por lo cual se busca nuevas fuentes de alimento con alta digestibilidad ruminal y que permita a su vez reducir el daño a nivel ambiental.

CAPITULO II

REVISIÓN DE LITERATURA O MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

La introducción de plantas arbóreas- leguminosas se presenta en la actualidad como una viable solución a la rentabilidad mejorando la producción, dado al incremento de la digestibilidad, contenido proteico e incluso a minerales y aceites esenciales para la nutrición; debido a esto actualmente se realizan estudios como el de Urbano, D., Dávila, C., & Moreno, (2016) en el que señalan que un sistema de producción lechera con leguminosas alcanzó una mayor producción de leche con un alto nivel proteico, en comparación al sistema tradicional con gramíneas que obtuvo una mejor producción.

Nouala, S., et al., (2006), realizaron un estudio “La influencia de las hojas de *Moringa oleífera* como sustituto del concentrado convencional en la producción de gas *in vitro* y la digestibilidad del heno de cacahuete” en el que utilizaron 3 toros de 6 años, canulados de forma permanente en el rumen, los mismos que se mantenían aislados individualmente y alimentados con maíz adicionándoles un suplemento de mezcla concentrada en 20%. La mezcla obligatoria era de torta de cacahuete y salvado de arroz en proporción 1:1 y los suplementos que utilizaron fueron 4: solo la mezcla concentrada (T1), *Moringa oleífera* (T2), Concentrado y *Moringa oleífera* (75:25) y concentrado y moringa oleífera (50:50). Concluyo que al remplazar el concentrado con *Moringa oleífera* en un 25% del total del mismo se obtiene un mejor aporte nutricional y aumenta la rentabilidad; menciona también que la *Moringa oleífera* puede ser utilizada en un 50% y no afectar al rumen.

Rodríguez, (2011), estudio la “alimentación de vacas lecheras con *Moringa oleífera* en fresco y en ensilado sobre la cantidad, calidad y composición de leche” para lo

cual utilizó un tratamiento control (*P.purpureum* cv CT115) y un concentrado comercial para vacas lecheras. Analizó los resultados y concluyó que la *Moringa oleífera* puede ser suministrada de forma única como alimento, sin presentar efectos negativos ya sea en la digestibilidad, el consumo voluntario o la producción de leche además señala también que dicha planta no produce alteraciones en la composición química de la leche.

Miron *et al.*, (2016), afirman que el contenido protéico de las hojas de Moringa (*Moringa oleífera*) es alto a nivel nutricional para ser utilizado como alternativa en suplemento para la producción de rumiantes, principalmente cabras en crecimiento, de acuerdo con sus estudios; se recomienda utilizar hasta el 75% de follaje de moringa en sustitución de concentrados convencionales, ya que la rentabilidad es mejor y la digestibilidad es mayor.

Pérez, V. (2013), realizó un estudio bromatológico de la harina de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*) con el fin de conocer sus valores nutricionales y compararlos con la torta de soya para posteriormente sustituir su uso con la harina de sachá inchi. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: Proteína (sachá inchi 45 %) (torta de soya 46%), lisina, metionina y treonina (sachá inchi 2; 2; 1,82%) (torta de soya 2,89; 0,65; 1,87%); por lo que concluye en que dado que los niveles nutricionales de las dos materias primas son similares se puede sustituir de forma parcial o total la soya como fuente proteica en la nutrición animal y recomienda realizar más estudios para descartar efectos secundarios de dicha materia prima.

Muirragui, C. (2013), mediante un estudio dio a conocer que la pasta de sachá inchi cruda no es palatable y señala además que no cumple con los niveles nutricionales adecuados para ser considerada una materia prima óptima para balanceados; sin embargo la pasta tostada de sachá inchi es lo suficientemente palatable para su utilización en balanceados avícolas; toda esta información obtuvo de su experimentación con 3 tratamientos: T1(25% de pasta tostada de sachá inchi),

T2(25% de pasta cruda sachá inchi) y T3(25% pasta soya), donde se observó que el consumo del tratamiento 1 fue superior al 2 pero inferior al 3.

Guamani Toapanta, (2018), investigó el “efecto de inclusión de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*) en la dieta de ovinos sobre la fermentación ruminal y la producción de gas”, para lo cual realizó 8 tratamientos, los mismos que tuvieron distintos %; (0%, 10%, 20%, 10%, 20%, 2%, 4% y 6%). Obteniendo como conclusión que los tratamientos con 10% y 20% tuvieron la menor producción de metano y en lo que respecta a CO₂ los niveles de 2%, 4% y 6% fueron los que presentaron mejores resultados.

Tituaña P, (2018), reporta que en su estudio el consumo voluntario de leguminosas arbóreas en caprinos, la especie que destacó finalmente fue *Acacia mearnsii* como una de las plantas con mejores resultados (112,43 g/kg MS) para la utilización de forrajes en consumo voluntario y menciona que puede deberse a los bajos niveles de FDN y FDA (10% y 15.6%) como también señala Ayata et al. (2015), que las especies arbóreas con niveles bajos de fibra, benefician el consumo voluntario y la digestibilidad. Sin embargo, en este caso la degradación fue baja - el consumo voluntario alto -la digestibilidad baja y la producción de gas *in vitro* se encontró en valores intermedios (446.38mL/0.5g).

Wischer, G., Boguhn, J., Steingäß, H., Schollenberger, M., & Rodehutschord, (2013), menciona que en su proyecto de investigación utilizó 6 vacas canuladas con el fin de analizar el efecto de los taninos en la fermentación ruminal; para lo cual utilizó monensina en una dosis de 300mg/animal/día y un extracto de *Acacia mearnsii* rico en taninos 100mg animal/día. Los resultados fueron de 10.7% de reducción de metano con monensina y de 8% con taninos; por lo que concluye en que el uso de dichos sustratos ayuda a mejorar el metabolismo energético y por tanto a disminuir el metano.

Aguillon, M, (2020), realizó un experimento *in vitro* e *in situ* para determinar el efecto de *Acacia mearnsii* en una función ruminal y en la producción de metano y

CO₂, en la cual utilizó 4 tratamientos (T1) *Medicago sativa* y *Lolium perenne* 50/50%, (T2) *Medicago sativa*, *Lolium perenne* y *Acacia mearnsii* 40-50-20%, (T3) *Medicago sativa*, *Lolium perenne* y *Acacia mearnsii* 30-30-40% y (T4) *Medicago sativa*, *Lolium perenne* y *Acacia mearnsii* 20-20-60%) y 6 repeticiones dándole un total de 24 observaciones. El tratamiento 1 y 2 demostraron una mayor digestibilidad tanto en MS (T1: 74.794 y T2: 58.141) como en MO (T1: 77.093 y T2: 59.495) comparación a los otros 2 tratamientos T3 (MS 41.496 y MO 41.532) y T4 (MS 20.656 y MO 20.681).

Roa and Muñoz, (2012), realizaron un estudio de inclusión de la Acacia roja (*Delonix regia*) donde obtuvieron resultados similares a los obtenidos en el tratamiento 2 del estudio de Vargas (2020) y señalan que la utilización de plantas fenólicas y aminolíticas tienen una función como reguladoras ruminales, las mismas que al entrar en el rumen tienen la función de modular la micro flora bacteriana dando como resultado un mejoramiento de su funcionamiento y eficiencia en lo que respecta a la degradabilidad de compuestos y así una mayor digestibilidad tanto para materia seca como orgánica.

2.2. Características Fundamentales

2.2.1. Moringa (*Moringa oleífera*)

La *Moringa oleífera* es una planta leguminosa originaria de India, Pakistán, Himalaya y Afganistán; la misma que se encuentra en la mayor parte del planeta a una altitud que oscile entre los 0 msnm y los 1800msnm, además se reproduce de forma asexual y sexual (Roa and Muñoz, 2012).

CUADRO. 1. Características taxonómicas de moringa (*Moringa oleífera*)

NOMBRE CIENTIFICO	<i>Moringa oleífera</i>
DIVISION	<i>Magnoliophyta</i>
CLASE	<i>Magnoliopsida</i>
FAMILIA	<i>Moringaceae</i>
GENERO	<i>Moringa</i>
ESPECIE	<i>M. oleífera</i>

Fuente: Tituaña Pulluquitín, M. C. (2018)

CUADRO.2. Contenido nutricional de las hojas de moringa (100g)

NUTRIENTE	MORINGA
Vit. A (ug)	1129
Vit. C (ug)	221
Ca mg	440
K mg	258
Proteínas mg	6700

Fuente: Rodríguez, (2011).

2.2.2. Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*)

Sacha inchi, es una planta leguminosa nativa de las zonas bajas de Los Andes en Sudamérica, también es conocida con varios nombres de los cuales los más distinguidos son: maní del inca, sachayuchi y maní silvestre; debido a que su nombre deriva del quechua donde sachay es “silvestre” e inchi “maní”; otra de sus

características es que es considerada una oleaginosa completa dado a los compuestos de su semilla como los aminoácidos esenciales y no esenciales que posee (Roa and Muñoz, 2012).

CUADRO. 3. Composición química de la semilla de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*)

HUMEDAD%	4,2± 0,2
PROTEINA%	29,6 ± 0,5
FIBRA	6,6 ± 0,7
CENISAS	2,7 ± 0,2
CARBOHIDRATOS TOTALES	12,1 ±1,3

Fuente: Guamani Toapanta, (2018).

2.2.2.1. Propiedades de la semilla

La semilla de Sachá inchi está compuesta por un alto contenido de aceites (34-61%) y proteínas (26-27%) además de sustancias termolábiles. Esta semilla posee bioactivos como fitoesteroles (b-sitosterol y estigmasterol) y tocofenoles (c-y d-tocopherols); minerales (K, Mg, y Ca), ácidos grasos (50,7% a-linoleico, 33,5% linoleico principalmente y oleico, palmítico en menores cantidades), altas cantidades de cisteína, tirocina, triptófano y treonina en relación a otras semillas de plantas arbóreas u oleaginosas (Roa and Muñoz, 2012).

Cisneros, F. *et al.*, (2014), señalan que el aceite de la semilla de sachá inchi es considerado como el mejor debido a sus altos niveles de ácidos polisaturados como: ácidos grasos esenciales (48,61%) alfa linolénico Omega 3, (36,79) linoleico Omega 6 y (8,29) oleico Omega 9; además también contiene Ácidos grasos saturados, antioxidantes y vitaminas por lo cual señalan que es el más apto para el consumo tanto humano como animal ya que supera a los aceites de oliva, girasol, palma, maíz, etc.

2.2.3. Acacia (*Acacia Mearnsii*)

La Acacia es una planta arbórea leguminosa, distribuida en todos los continentes con excepción de Europa. Se caracteriza principalmente por su alto contenido proteico en hojas y ramas; sin embargo, su utilización como suministro animal ha presentado controversias entre actores, debido a sus altos niveles de compuestos secundarios (taninos y saponinas) considerados anti nutricionales (Waghorn, G. C., & Hegarty, 2011).

CUADRO.4. Composición anti nutricional de acacia

Taninos	76,6 mg/100g
Fitatos	16,3 mg/10g
Inhibidores de tripsina	28,3 UI/mg

Fuente: García et. al. (2014).

2.2.4. Taninos

Los taninos compuestos pertenecientes a los polifenoles, presentes en plantas leguminosas forrajeras principalmente de climas templados y tropicales. Estos taninos son utilizados por las plantas como defensa ante herbívoros, patógenos además de utilizarlos para conservar el nitrógeno. Estos compuestos se caracterizan principalmente por formar un complejo conocido como tanino-proteína, el cual se realiza al enlazarse el tanino a la proteína para evitar la degradación proteica a nivel ruminal. Los taninos se clasifican en hidrolizables y condensados, los mismos que tiene un efecto anti nutricional o toxico pero que puede actuar o no de forma benéfica para los animales dependiendo de su nivel de concentración en la planta (Cortés J, *et al.*, 2009)

Johnson *et al.*, (2007), señalan que los taninos condensados en cantidades moderadas producen un efecto benéfico en el metabolismo de los rumiantes al nivel proteico, ya que disminuye la degradación de la proteína en el rumen mediante el complejo tanino-proteína lo que conlleva a un aumento de absorción de aminoácidos a nivel del intestino delgado y esto a una disminución de parásitos gastrointestinales y a la presentación de timpanismo.

CAPITULO III

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

3.1. HIPOTESIS

La inclusión de forraje de *Moringa oleifera*, semilla de sacha inchi y *Acacia mearnsii* a la dieta de bovinos influye de forma positiva a las funciones del rumen y la reducción de producción gas.

3.2. OBJETIVOS

I. OBJETIVO GENERAL

1. Evaluar el efecto de la inclusión de la semilla de Sacha Inchi, forraje de *Moringa oleifera* y *Acacia mearnsii* en la dieta de rumiantes sobre la fermentación y la ecología microbiana ruminal.

II. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1). Determinar el efecto del forraje de *Moringa oleifera* en la dieta de rumiantes sobre la fermentación y la ecología microbiana ruminal.
- 2). Evaluar el efecto de la inclusión de la semilla de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) en la dieta sobre la fermentación y la ecología microbiana ruminal.
- 3). Analizar el efecto de suministrar *Acacia mearnsii* en la dieta sobre la fermentación y la ecología microbiana ruminal.

CAPITULO IV

METODOLOGIA

4.1. Ubicación del experimento

El presente trabajo se realizó en el establo de la Granja Experimental Docente en Querochaca, ubicada en la parroquia La Matriz perteneciente al Cantón Cevallos de la provincia de Tungurahua que se encuentra a una altitud de 2868msnm aproximadamente; cuyas coordenadas geográficas son: 1°21'02'' latitud Sur y 78°36'21'' longitud Oeste (GPS).

4.2. Características del lugar

4.2.1. Clima

El centro meteorológico ubicado en la Granja Experimental Docente de Querochaca, Universidad Técnica de Ambato informó las siguientes características climáticas:

-Temperaturas variantes entre 5 y 20° C - Humedad relativa: 76,1% Velocidad de viento: 3,3 m/seg. Dirección Este-Oeste.

4.2.2. Suelo

Esta zona se caracteriza por poseer material volcánico, presencia de relieves con pH de neutro a alcalino ligeramente, el reporte de dicho suelo menciona las características siguientes:

N: 41ppm P: 25,2 ppm K: 0,5 meq/100g Ca: 3,3 meq/100g Mg: 1meq/100g
MO: 3,1% (Mojica R. et al., 2009).

4.2.3. Agua

El agua utilizada provino del canal Ambato- Huachi – Pelileo; mismo que contiene un pH de alrededor de 7,78.

4.3. Animales

La presente investigación requirió la utilización de 5 rumiantes provistos de una fistula permanente con cánula en el rumen.

4.4. Alimentación

Los rumiantes fueron alimentados con una dieta forrajera mixta a base de kikuyo, Ray Grass y Alfalfa más agua *ad libitum*. En las dietas experimentales se utilizó el forraje de Moringa, Semilla de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) y *Acacia mearnsii* como bases de 5 diferentes dietas.

4.5. Alojamiento

Los animales se alojaron en los potreros durante el día y en la noche en los corrales de piso cubierto por techo es decir un sistema de estabulación mixta.

4.6. Equipos y materiales

4.6.1. Equipos.

- **Digestor de Fibra (ANKOM Technology)** .- Sirve para observar la cantidad de composición química de los forrajes de la dieta, específicamente de la pared celular en lo que respecta la Fibra Detergente Neutra, Fibra Detergente Acida y Lignina.
- **Transductores de gas o de presión.** - Sirve para medir Metano, CO₂ y Óxido Nitroso
- **Cámara de Neubauer o Hemocitómetro**

4.6.2. Materiales.

4.6.2.1. Material Vegetal

- Forraje de Moringa
- Semilla de Sacha Inchi
- Acacia Mearnsii

4.6.2.2. Obtención del forraje de moringa

Esta obtención fue de únicamente hojas y tallos tiernos de matas con rebrotes de 60 a 70 días, el forraje de moringa se trajo de la Universidad Estatal de la Península de Santa Elena de una parcela de alrededor de 5000m² establecida hace 3-4 años; para la obtención de forraje se hizo un corte de igualación de las matas y posterior a los 60 – 70 días se recolecto todas las hojas frescas y los tallos más tiernos; posterior a eso las hojas fueron deshidratadas bajo cubierta y luego llevadas una estufa de aire forzado para su respectivo secado a 40-50°C; posterior a esto fueron molidas hasta alcanzar una partícula de 2mm utilizando un molino de martillo, con el fin de realizar las pruebas tanto de análisis químico, como de análisis tanto en in vitro como in vivo; y anterior a esto después de la recolección de tallos tiernos se separó una cantidad la cual fue llevada inmediatamente al laboratorio para analizar el % de materia seca (Kou *et al.*, 2018) & (Olson, and Alvarado-Cárdenas, 2016).

4.6.2.3. Obtención la Semilla de Sacha Inchi

Los frutos de Sacha Inchi se los recolecto de una plantación de la zona del Tena de la provincia de Napo con sembríos establecidos de alrededor de 3 ½ años de la cual los frutos se recolectaron en la época de cosecha; para la obtención de la semilla se retiró la carcasa y se obtuvo la harina de sachá inchi únicamente de la almendra sin la cascara; esta almendra fue puesta alrededor de unos 300g en una estufa a 40 – 50°C (evitando la volatilización y degradación de los metabolitos secundarios que posee cada uno de los forrajes) para cuantificar el contenido de materia seca (Wang, S., Zhu, F. and Kakuda, Y. 2018).

4.6.2.4. Obtención de *Acacia mearnsii*

La Acacia fue recolectada de árboles que se encuentran en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato; las hojas que se recolectaron fueron jóvenes y tiernas las cuales se deshidrataron bajo cubierta entre 15-20kg; luego a temperatura controlada entre 40 y 50°C; dichas hojas fueron colocadas en una estufa de aire forzado para determinar la composición de la materia seca y la

composición química de los nutrientes (Noreljaleel *et al.*, 2019) & (Kazemi, M., 2012).

4.6.3. Material Biológico

- 5 rumiantes
- Líquido ruminal

4.6.4. Material Químico

- Saliva artificial (mezcla química artificial)
- Agua destilada
- Hipoclorito de sodio (NaClO) al 5%

4.6.5. Material Inerte

- Frascos de digestión ámbar de 100ml de capacidad
- Estufas
- Baños maría
- Balanzas analíticas
- Kits de extracción de ADN
- Frascos de vidrio color marrón de 100 ml.
- Cisoles
- Pinzas
- Vasos de precipitación
- Matraces aforados

4.7. METODOS

4.7.1. FACTORES DE ESTUDIO

Monocultivos de mezclas forrajeras entre gramíneas y leguminosas como *Moringa oleífera*, *Acacia mearnsii* y Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*).

4.7.2. TRATAMIENTOS

Para desarrollar la presente investigación las dietas se distribuyeron de forma aleatoria a los siguientes tratamientos; los mismos que serán estudiados *in vitro*, e *in situ* de ser requerido.

T1: paja de cebada 30% + 30% Alfalfa + 40 % moringa

T2: paja de cebada 30% + 30% Alfalfa + 40 % *Sacha inchi*

T3: paja de cebada 30% + 30% Alfalfa + 40 % *Acacia mearnsii*

T4: paja de cebada 30% + 30% Alfalfa + 13.3 % moringa + 13.3 % *Sacha inchi* + 13.3 % *Acacia mearnsii*

T5: paja de cebada 50% + 50% Alfalfa

Cuadro.5. Diseño cuadro latino de 5x5 (5 tratamientos – 5 rumiantes)						
		COLUMNAS				
FILAS	T1D	T2E	T3A	T4B	T5C	
	T5C	T1D	T2E	T3A	T4B	
	T4B	T3C	T5D	T2E	T1A	
	T3A	T4B	T1C	T5D	T2E	
	T2E	T5A	T4B	T1C	T3D	

Las letras representan los animales y las T los tratamientos

4.8. DISEÑO EXPERIMENTAL

Los datos de digestibilidad aparente y protozoarios se sometieron a un análisis de varianza para un cuadrado latino 5x5 mediante el procedimiento PROC ANOVA del SAS. La cinética de degradación ruminal, producción de gas, metano y dióxido de carbono se la analizó bajo un diseño completamente al azar utilizando el procedimiento PROC GLM del SAS. Y la comparación de medias se la realizó mediante la prueba de Tukey 5%.

4.9. VARIABLE RESPUESTA

4.9.1. Producción de gas *in vitro* (CO₂)

Para estas pruebas, el contenido del rumen (contenido líquido y sólido) se obtuvo de cada toro por separado (n=5). El contenido de los rumiantes fue recolectado antes de su respectiva comida por la mañana y guardado en recipientes de plástico, se transportaron al laboratorio para ser procesados dentro de la primera hora de la recolección. Para esto, se preparó un ambiente rico en nitrógeno (saliva artificial) de acuerdo a lo descrito por Menke y Steingass (1988). Se estimó la producción de gas utilizando el método descrito por Theodorou et al. (1994), que insisto poner 0.500 mg de muestra seca en una botella de vidrio con una capacidad nominal de 100 ml. En la botella, se incubó 60 ml de inóculo (medio 70:30; saliva /inóculo; contenido del rumen) bajo un flujo constante de CO₂; incubé la botella entre 39 – 40 ° C.

La presión de gas y el volumen se midió manualmente de acuerdo a los siguientes tiempos 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48 y 96 horas con un sensor de presión (DO 9704, Delta OHM, Italia) y jeringa de plástico; mientras que para calcular la producción de CH₄ y CO₂ se utilizó el analizador de detección de GAS, modelo GX – 6000, UK. Para cada temperatura de secado (tratamientos) se utilizó 5 botellas en la que se colocó el inóculo preparado por cada toro (n=5) mismos que fueron considerados como repetición, y tres botellas adicionales por cada toro (inóculo) fueron empleados como blanco. Al finalizar los datos de las 96 horas, se ha justaron a la ecuación

monobásica $mL_{gas} = GV (1 + (B/t)C)^{-1}$ de Groot et al. (1996). La producción de gas, CH_4 y CO_2 se estimó por 0.5 g de MS Fermentable.

4.9.2. Degradación ruminal de nutrientes *in situ*

Se evaluó mediante la metodología de la bolsa de nylon en el rumen, como describe Ørskov et al. (1980); para lo cual se utilizó 5 bovinos provistos de una cánula, castrados con un peso aproximado de 450kg y de raza mestiza, los mismo que se encontraron alojados de forma individual con agua y comida (forrajes) *ad libitum*. En cada animal se colocó una bolsa en la cual cada cierto tiempo se colocaba una bolsita por tratamiento en cada toro (0,500-0,530g tratamiento) y se incubaba por 96, 72, 48, 24, 12, 6, 3 y 0 h. Las bolsas fueron removidas a las 0 horas, lavadas con agua corriente y secadas en una a 60 °C hasta obtener un peso constante. posterior se realizó el análisis del contenido de nutrientes. Para estimar las constantes de degradación ruminal de los nutrientes se utilizó el programa (GraphPad Prism versión 7. 2016) que ajusta los datos en la ecuación exponencial para la cinética de degradación ruminal de nutrientes ecuación (i) y la degradación efectiva ecuación (ii) descritas por Orskov y McDonald (1979).

$$Y = a + b (1 - e^{-c t}) \quad (i)$$

$$\text{Degradabilidad efectiva} = a + ((b * c) / (c + k)) \quad (ii)$$

Dónde: Y = Porcentaje de degradación acumulada en un tiempo t %.

a = Intercepto de la curva de degradación cuando

t=0 (de degradabilidad inicial %)

b = Fracción potencialmente degradada en el rumen

c = Tasa de degradación, (% horas).

t = Tiempo de incubación en el rumen, (horas).

e = Base de los logaritmos naturales

k = tasa de flujo de las partículas del rumen

4.9.3. Digestibilidad aparente *in vitro*

El contenido del rumen fue extraído mediante una la fistula en el rumen a las primeras horas de la mañana antes de su alimentación. Posteriormente, el contenido del rumen fue transportado al laboratorio en un recipiente térmico manteniendo una temperatura constante de 39 – 40 °C.

Para esto con 24 horas de anterioridad, se preparó un ambiente rico en nitrógeno (saliva artificial) de acuerdo a lo descrito por Menke y Steingass (1988). Se estimó la digestibilidad utilizando el método descrito por Tilley, J. M. A., & Terry, R. A.(1963), que ínsito poner 0.500-0.530g de muestra en una botella de vidrio con una capacidad nominal de 100 ml. en el frasco de cristal, se incubó 60 ml de inóculo (medio 70:30; saliva /inóculo; contenido del rumen) bajo un flujo constante de CO₂; incubé la botella entre 39 – 40 ° C; por 48 horas para posteriormente filtrar, secar, y hacer cenizas los residuos obtenidos y obtener materia seca.

4.9.4. Ecología microbiana (protozoarios de rumen)

El contenido del rumen fue extraído mediante la fistula en el rumen de acuerdo al periodo experimental acorde al diseño empleado. Posteriormente, el contenido del rumen fue transportado al laboratorio en un recipiente térmico manteniendo una temperatura constante de 39 – 40 °C las muestras fueron tomadas en tres tiempos 12, 24 y 48 horas *in vitro* de los frascos empleados para su medición y fueron extraídos y colocados en eppendor de 1,5cm para conservarlos con una solución salina de verde de metilo formamida. Los protozoos se contabilizaron utilizando un microscopio óptico (× 40) (Theodorou et al. 1994) & (Hungate, R.G. 1950).

CAPITULO V

5. RESULTADOS

5.1. Degradación ruminal y digestibilidad *in vitro* MS

Los parámetros de degradación ruminal de la MS muestran que la fracción soluble (A) fue mayor en el tratamiento T2 (P=0.0001) frente a los demás tratamientos. En la fracción insoluble pero potencialmente degradable (B) no se observó diferencias entre los tratamientos evaluados (P=0.1602). La tasa de degradación en % por hora (c) fue mayor en T1 (P=0.0001). En la suma de los parámetros A+B el mayor potencial de degradación ruminal se observó en T2 (P=0.0006). Con respecto a la degradación efectiva se observó que en las diferentes tasas de pasaje 0.02, 0.05 y 0.08 *k* fue mayor (P=0.0001) en T1. En cuanto a la digestibilidad *in vitro* de la MS se observó que el tratamiento T5 fue mayor (P=0.0001) con respecto a los demás tratamientos (Tabla 2).

Tabla 1. Cinética de degradación ruminal y digestibilidad *in vitro* materia seca

Trat	Parámetros de degradación				Degradación efectiva			DMS
	A	B	c	A+B	0.02	0.05	0.08	
T1	36.7c	39.1	0.052b	75.9bc	65.1d	56.8d	52.3d	52.1bc
T2	41.2d	36.3	0.019a	77.6c	57.5c	50.4c	47.6c	47.5bc
T3	29.1a	34.7	0.018a	63.9a	45.0a	38.0a	35.3a	37.0a
T4	34.4b	33.2	0.030a	67.7ab	53.5b	46.2b	43.0b	45.6b
T5	33.2b	40.9	0.025a	74.1bc	55.4bc	46.5b	42.7b	53.7c
ESM	0.783	2.31	0.0031	2.08	0.65	0.73	0.69	1.72
P	0.0001	0.1602	0.0001	0.0006	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

^{abc} Medias con letras distintas entre filas difieren significativamente ($p < 0.05$) de acuerdo al tratamiento u planta colocada en la dieta base: T1 moringa, T2 sachá inchi, T3 acacia, T4 combinación de las tres plantas y T5 dieta forrajera base. DMS; digestibilidad de la materia seca. A; degradación de la fracción soluble, B; degradación de la fracción insoluble pero potencialmente degradable, c; tasa de degradación en % por hora, A+B; potencial de degradación ruminal.

5.2. Parámetros de producción de gas, metano y dióxido de carbono

Los parámetros de producción de gases mostraron diferencias significativas entre tratamientos ($P=0.0001$). T1 y T2 mostraron una menor producción de gas, metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2) con respecto a los demás tratamientos. Por otra parte, T3 y T5 registraron la menor producción de gas en % hora (C) ($P=0.0001$) (Tabla 3).

Tabla 2. Parámetros de la producción de gas, metano y dióxido de carbono

Trat	Gas		CH_4		CO_2	
	B	C	B	C	B	C
T1	341.0ab	0.027d	91.4a	0.013	124.1a	0.011
T2	320.5a	0.027cd	82.1a	0.012	128.6a	0.011
T3	380.7b	0.023ab	110.0b	0.014	150.3b	0.013
T4	365.7b	0.025bc	132.2c	0.011	159.1b	0.012
T5	441.2c	0.022a	135.6c	0.020	178.8c	0.013
ESM	9.14	0.0011	3.43	0.0010	3.82	0.0003
P	0.0001	0.0001	0.0001	0.0621	0.0001	0.0876

^{abc} Medias con letras distintas entre filas difieren significativamente ($p<0.05$) de acuerdo al tratamiento u planta colocada en la dieta base: T1 moringa, T2 sachá inchi, T3 acacia, T4 combinación de las tres plantas y T5 dieta forrajera base.

B; producción total de gas, CH_4 o CO_2 , C; tasa de producción de gas en % hora

5.3. Población de Protozoos en el rumen

Las poblaciones de protozoos Holotricos (P=0.9438) y Entodiniomorfos (P=0.1242) a las 12 horas de incubación *in vitro* no mostraron diferencias significativas entre tratamientos. A las 24 horas de incubación *in vitro* la población de protozoos Holotricos indicaron diferencias estadísticas entre tratamientos (P=0.0010), encontrándose menor población en T3 y T5. Por otra parte, la población de protozoarios Entodiniomorfos no mostraron diferencias significativas (P=0.1082). A las 48 horas de incubación *in vitro* se observaron diferencias significativas entre tratamientos para las poblaciones de protozoos Holotricos (P=0.0026) y Entodiniomorfos (P=0.0447) en T1, T2, T3 y T4 (Tabla 4).

Tabla 3. Población de protozoarios Holotricos y Entodiniomorfos en el rumen cuantificados a las diferentes horas (12, 24 y 48) por incubación

Trat	Protozoos (horas)					
	12		24		48	
	H	E	H	E	H	E
T1	3.14	3.44	3.12bc	3.72	2.82a	3.44ab
T2	3.24	3.68	3.24c	3.40	3.02ab	3.52ab
T3	3.32	3.84	2.92ab	3.76	2.82a	3.38ab
T4	3.18	3.72	3.22bc	3.66	2.72a	3.30a
T5	3.18	3.72	2.78a	3.80	3.18b	3.62b
ESM	0.163	0.0102	0.075	0.107	0.076	0.072
P	0.9438	0.1242	0.0010	0.1082	0.0026	0.0447

^{abc} Medias con letras distintas entre filas difieren significativamente ($p < 0.05$) de acuerdo al tratamiento u planta colocada en la dieta base: T1 moringa, T2 sachá inchi, T3 acacia, T4 combinación de las tres plantas y T5 dieta forrajera base. H; Holotricos, E; Entodiniomorfos

6. DISCUSIÓN

6.1. Degradación ruminal *in situ*

La mayor cinética de degradación ruminal observada en la fracción A en T2 (Tabla 2) se puede deber a la presencia de carbohidratos altamente solubles en la dieta que facilitan la actividad de los microorganismos ruminales y consecuentemente se traduce en una elevada degradación del sustrato (A+B) (Ortiz-Tirado et al., 2019).

La mayor degradación efectiva observada en T1 (Tabla 2) se puede atribuir al elevado aporte de proteína por parte de *Moringa oleífera*, mismo que originan compuestos benéficos en respuesta a la degradación de las proteínas y favorecen el crecimiento y colonización de microorganismos beneficiosos, primordialmente bacterias celulolíticas y proteolíticas (Barros-Rodríguez et al., 2017; Li et al., 2019).

6.2. Digestibilidad *in vitro*

La mayor digestibilidad mostrada en T5 se debe a la menor presencia de carbohidratos estructurales y ausencia de compuestos bioactivos que pueden mermar la población de microorganismos que favorecen a la degradación del sustrato en comparación a los demás tratamientos que contienen forrajes de *Moringa oleífera*, *Acacia mearnsii* y semillas de *Plukenetia volubilis* ricos en compuestos secundarios (Patra y Saxena, 2010). Estos resultados son consistentes con los expuestos por Patra y Yu, (2012) quienes determinaron que los efectos negativos sobre la digestión del alimento es dosis dependiente con una disminución lineal conforme las dosis de aceites esenciales se elevaban.

6.3. Fermentación

La menor producción de gas en T1 y T2 se debe quizá a la menor presencia de fibra y mayor utilización del nitrógeno y merma de la población de protozoos que habitan el rumen (Barros-Rodríguez et al., 2017). Por otra parte, la menor generación de CH₄ y CO₂ en T1 y T2 se podría atribuir al efecto de los compuestos secundarios, primordialmente a los aceites esenciales presentes en la dieta que han mostrado reducir la población de microorganismos metanogénicos (Cobellis, Trabalza-

Marinucci y Yu, 2016). Efectos que se atribuyen a la capacidad de los aceites esenciales para adherirse sobre la membrana citoplasmática y generar daños estructurales y posteriormente elevar la permeabilidad e interferir en la actividad y crecimiento bacteriano (Ku-Vera et al., 2020). Con base en ello, Ebeid et al., (2020) afirman que el aceite de *Moringa Oleifera* mejoró la cinética de fermentación ruminal y mermó la generación de CH₄.

6.4. Población de Protozoos en el rumen

La menor población de protozoarios Holotricos y Entodiniomorfos observados en el presente estudio se debe quizá a la presencia de metabolitos secundarios (aceites esenciales y taninos) que han indicado tener un amplio efecto defaunador sobre los microorganismos que habitan el rumen (Barros-Rodríguez et al., 2017; Núñez Torres et al., 2018). Aunque los mecanismos por los cuales los aceites esenciales actúan sobre los protozoos no están claros, se puede atribuirle a la naturaleza lipofílica de algunos de estos compuestos y su facilidad para introducirse por la membrana del protozoo y destruirlo (Bodas et al., 2012). Resultados similares fueron expuestos por Ando et al. (2003) quienes evidenciaron una reducción significativa en la población de protozoos al utilizar aceite esencial extraído a partir de menta.

CAPITULO VI

6.1. CONCLUSIONES

Se concluye mediante las condiciones del presente trabajo de investigación que la inclusión del forraje de *Moringa oleífera*, *Plukenetia volubilis* y *Acacia mearnsii* en la dieta de rumiantes, disminuyen la producción de gases de efecto invernadero y la población de protozoarios del ruminal.

6.2. BIBLIOGRAFIA

- Aguillón, V., & Raúl, J. (2020). *Inclusión de acacia (Acacia Mearnsii) en dietas y efecto en la función ruminal y producción de CH₄ y CO₂* (Master's thesis, Calceta: ESPAM MFL).
- Ando, S., Nishida, T., Ishida, M., Hosoda, K., & Bayaru, E. (2003). Effect of peppermint feeding on the digestibility, ruminal fermentation and protozoa. *Livestock Production Science*, 82(2-3), 245-248.
- Borge, W. (2011). Producción de madera y carbono en la regeneración de sistemas agroforestales en la reserva indígena de talamanca, costa rica. *Ciencia e Interculturalidad*, 4(1), pp.108-130.
- Barros-Rodríguez, M., Oña-Rodríguez, J., Mera-Andrade, R., Artieda-Rojas, J., Curay-Quispe, S., Avilés-Esquivel, D., ... & Guishca-Cunuhay, C. (2017). Degradación ruminal de dietas a base de biomasa pos-cosecha de *Amaranthus cruentus*: efecto sobre los protozoos del rumen y producción de gas *in vitro*. *Revista de investigaciones veterinarias del Perú*, 28(4), 812-821.
- Bodas, R., Prieto, N., García-González, R., Andrés, S., Giráldez, F. J., & López, S. (2012). Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. *Animal Feed Science and Technology*, 176(1-4), 78-93.
- Busani, M; Patrick, J; Arnold, H; Voster, M. 2011. Nutritional characterization of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *African Journal of Biotechnology* 10(60): 12925-12933.
- Cisneros, F. H. et al. (2014) 'Chemical composition, oxidative stability and antioxidant capacity of oil extracted from roasted seeds of Sacha-inchi (*Plukenetia volubilis* L.)', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(22), pp. 5191–5197. doi: 10.1021/jf500936j.
- Cobellis, G., Trabalza-Marinucci, M., & Yu, Z. (2016). Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. *Science of the Total Environment*, 545, 556-568.

- Cortés, J. et al. (2009) 'Effects of purified condensed tannins extracted from Calliandra, Flemingia and Leucaena on ruminal and postruminal degradation of soybean meal as estimated in', Elsevier.
- Czajkowski, J. D. et al. (2017) Reflexiones sobre el nivel de eficiencia energética de los edificios en Argentina y su relación con las emisiones de gases de efecto invernadero Reflections on the level of energy efficiency of buildings in Argentina and its relation to emissions of greenhouse gases, Jorge Daniel Czajkowski estudios del hábitat |.
- Dohme-Meier, F. et al. (2014) 'Comparison of energy expenditure, eating pattern and physical activity of grazing and zero-grazing dairy cows at different time points during lactation', Elsevier.
- Ebeid, H. M., Mengwei, L., Kholif, A. E., Hassan, F. U., Lijuan, P., Xin, L., & Chengjian, Y. (2020). *Moringa oleifera* oil modulates rumen microflora to mediate in vitro fermentation kinetics and methanogenesis in total mix rations. *Current microbiology*, 1-12.
- Francisco de Paula, U., Francisco de Paula Santander Cúcuta-Colombia Ricardo Alejandro Miranda-Gelvez, U. and Ernesto Guerrero-Alvarado, C. (2015) 'Efecto de la torta de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) sobre el desempeño productivo de juveniles de tilapia roja (*Oreochromis sp.*)', revistas.ufps.edu.co.
- Galindo, J. et al. (2005) Cinética de la actividad de las celulasas microbianas en el líquido de rumen, redalyc.org.
- García, J., Macías, M., & Martínez, O. (2014) Note on nutrient composition and in vitro (pepsin/pancreatin) digestibility of *Moringa oleifera* cultivated in Cuba.
- Guamani Toapanta, S. (2018) Efecto de inclusión de sachá inchi (*Plukenetia volubilis*) en la dieta de ovinos sobre la fermentación ruminal y la producción de gas, Высшей Нервной Деятельности.
- Gutiérrez, M., Rojas, B. and Hernández, R. (2015) 'Evaluación de la composición química y degradabilidad ruminal in situ de ensilaje mixto con *Pennisetum purpureum* cv Cuba CT-169: *Moringa oleifera*', Universidad de Colima, 19, n, pp. 7–16.
- Hassanat, F., & Benchaar, C. (2013). Assessment of the effect of condensed (acacia and quebracho) and hydrolysable (chestnut and valonea) tannins on rumen

- fermentation and methane production in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2), 332-339.
- Huber, A., Ramírez, ; M and Oxf, C. D. (1978) Un metodo para estudiar el consumo de agua de especies arboreas (*) parte i: principios y posibilidades de uso, revistas.uach.cl.
- Hungate, R.G. 1950. The anaerobic, mesophilic cellulolytic bacteria. *Bacterial Ref.* Vol. 14 (1).
- Jarquín Almanza, A. J. et al. (2014) ‘Degradabilidad ruminal del follaje de moringa oleifera a tres diferentes edades de rebrote’, *La Calera*, 13(21), pp. 76–81. doi: 10.5377/calera.v13i21.1637.
- Johnson, J. M. F. et al. (2007) ‘Agricultural opportunities to mitigate greenhouse gas emissions’, *Environmental Pollution*, pp. 107–124. doi: 10.1016/j.envpol.2007.06.030.
- Kazemi, M., (2012) ‘Potential nutritive value of some forage species used as ruminants feed in Iran’, *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, 11(57). doi: 10.5897/ajb12.286.
- Kou, X. et al. (2018) ‘Nutraceutical or pharmacological potential of *Moringa oleifera* Lam.’, *Nutrients*, 10(3). doi: 10.3390/nu10030343.
- Ku-Vera, J. C., Jiménez-Ocampo, R., Valencia-Salazar, S. S., Montoya-Flores, M. D., Molina-Botero, I. C., Arango, J., ... & Solorio-Sánchez, F. J. (2020). Role of secondary plant metabolites on enteric methane mitigation in ruminants. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 584.
- Li, Y., Zhang, G. N., Xu, H. J., Zhou, S., Dou, X. J., Lin, C., ... & Zhang, Y. G. (2019). Effects of replacing alfalfa hay with *Moringa oleifera* leaves and peduncles on intake, digestibility, and rumen fermentation in dairy cows. *Livestock Science*, 220, 211-216.
- López, K; Santa Cruz, C; Gutiérrez, A. (2016) López, K; Santa Cruz, C; Gutiérrez, A. 2016. Perfil de proteínas de las semillas de “sacha inchi” (*Plukenetia volubilis* L. y *Plukenetia huayllabambana* Bussmann, Téllez & Glenn). *the biologist* 1(2).
- Luz, E. and Santacoloma, V. (2011) *Articulo5.pdf*, hemeroteca.unad.edu.co. Available at: <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/913>

- Makkar, H. P. S. and Becker, K. (1996) 'Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves', *Animal Feed Science and Technology*, 63(1–4), pp. 211–228. doi: 10.1016/S0377-8401(96)01023-1.
- Makkar, S. B. y B. M. (2009) '¿Cuál es el Efecto de la *Moringa oleifera* sobre la Dinámica Ruminal? Revisión sistemática', *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(1), p. 43. doi: 10.15381/rivep.v28i1.11675.
- Menke, K., Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Res. Develop.* 28; 7-55
- Mejía, J. and Mejía, I. (2007) 'Nutrición Proteica de Bovinos Productores de Carne en Pastoreo', *Acta Universitaria*, 17(February), pp. 45–54. Available at: <http://www.redalyc.org/pdf/416/41617206.pdf>.
- Melesse, A. and Berihun, - (2013) 'Chemical and mineral compositions of pods of *Moringa stenopetala* and *Moringa oleifera* cultivated in the lowland of Gamogofa Zone', *Journal of Environmental*, (and 2013, Undefined).
- Melesse, Aberra et al. (2012) 'In vitro fermentation characteristics and effective utilisable crude protein in leaves and green pods of *Moringa stenopetala* and *Moringa oleifera* cultivated at low and mid-altitude Phenotypic characterization of indigenous chickens in southern Ethiopia View project Micro-Gap Ethiopia View project In vitro fermentation characteristics and effective utilisable crude protein in leaves and green pods of *Moringa stenopetala* and *Moringa oleifera* cultivated at low and mid-altitudes', Article in *J Anim Physiol a Anim Nutr*, 97(3), pp. 537–546. doi: 10.1111/j.1439-0396.2012.01294.x.
- Miron, Joshua et al. (2016) 'Effect of feeding lactating cows with ensiled mixture of *Moringa oleifera*, wheat hay and molasses, on digestibility and efficiency of milk production', *Animal Feed Science and Technology*, 211, pp. 75–83. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.11.002.
- Moyo, B. et al. (2011) 'Nutritional characterization of *Moringa* (*Moringa oleifera* Lam.) leaves', *African Journal of Biotechnology*, 10(60), pp. 12925–12933. doi: 10.5897/AJB10.1599.

- Muirragui, C. M. (2013) “Estudio de factibilidad del uso de pasta de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) en dietas para aves”.
- Noreljaleel, A. et al. (2019) ‘Analysis of commercial proanthocyanidins. Part 5: A high resolution mass spectrometry investigation of the chemical composition of sulfited wattle (*Acacia mearnsii* De’, Elsevier, *Phytochemi*, pp. 109-120.
- Nouala, F. S., Akinbamijo, O. O., Adewumi, A., Hoffman, E., Muetzel, S., & Becker, K. (2006) The influence of *Moringa oleifera* leaves as substitute to conventional concentrate on the in vitro gas production and digestibility of groundnut hay, researchgate.net.
- Núñez Torres, O. P., Barros Rodriguez, M., Sanchez, D., & Guishca-Cunuhay, C. (2018). Comportamiento productivo, degradación ruminal y producción de gas in vitro en ovinos alimentados con dietas a base de residuos pos-cosecha de *Chenopodium quinoa*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(3), 765-773.
- Olson, M. and Alvarado-Cárdenas. (2016) ‘¿ Dónde cultivar el árbol milagro, *Moringa oleifera*, en México? Un análisis de su distribución potencial’, Elsevier.
- Ortiz-Tirado, P., Barros-Rodriguez, M., Mayorga-Paredes, S., Chay-Canul, A., Guishca-Cunuhay, C., Romero-Herrera, R., & Reyes, H. (2019). Influence of cutting age on chemical composition, rumen degradation kinetics and *in vitro* digestibility of green hydroponic fodder of *Avena sativa*. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 22(3).
- Ørskov, E.R., and I. McDonald. 1979. The estimate of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science* 92:499-503
- Orskov ER, Howell FD, Mould F. 1980. The use of nylon bag technique for the evaluation of feedstuff. *Trop Anim Prod*. 15(3):195-213.
- Patra, A. K., & Saxena, J. (2010). A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*, 71(11-12), 1198-1222.

- Patra, A. K., & Yu, Z. (2012). Effects of essential oils on methane production and fermentation by, and abundance and diversity of, rumen microbial populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(12), 4271-4280.
- Pérez, V. (2013) Exploración de la Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) como fuente de proteína para uso en nutrición animal en Colombia [recurso electrónico].
- Prieto-Manrique, E. and ... L. M.-L.-A. (2016) 'Efecto de la suplementación lipídica sobre ácidos grasos en leche de vaca, énfasis en ácido ruménico', scielo.sa.cr, (Undefined).
- Pulido, R. and Leaver, J. D. (2000) 'Rumen degradation characteristics of the herbage mass samples and the simulated grazing samples for dairy cows', *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 35(5), pp. 1003–1009. doi: 10.1590/s0100-204x2000000500018.
- Reyes Sánchez, N. (2004) 'Marango: cultivo y utilización en la alimentación animal'.
- Roa, M. V and Muñoz, J. M. (2012) Enero-Abril, Rev.MVZ Córdoba. Available at: <https://www.redalyc.org/pdf/693/69323749013.pdf>
- Rodríguez, R. (2011) 'Alimentación de vacas lecheras con *Moringa oleifera* fresco o ensilado y su efecto sobre la producción, composición y calidad de leche', p. 45.
- Rusdy, M., Yusuf, M. and Ismartoyo (2020) 'Utilization of *Leucaena leucocephala* and *Gliricidia sepium* as supplements by goats fed *Panicum maximum* basal diet', *Tropical Animal Health and Production*, 52(2), pp. 541–545. doi: 10.1007/s11250-019-02040-8.
- Tilley, J.M. A., & Terry, R. A.(1963). *J. Brit, Grassl. Soc.*, 18:104.
- Theodorou, M., Williams, B., Dhanoa, M., Mcallan, A., France J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminants feeds. *Animal Feed Science and technology*. 48; 185-197
- Tituaña Pulluquitín, M. C. (2018) Evaluación de la preferencia de consumo de leguminosas arbóreas con potencial forrajero en rumiantes menores (Bachelor's thesis).

- Urbano, D., Dávila, C., & Moreno, P. (2016) Efecto de las leguminosas arbóreas y la suplementación con concentrado sobre la producción de leche y cambio de peso en vacas doble propósito. *Zootecnia tropical*, 24(1), 69-83.
- Waghorn, G. C., & Hegarty, R. S. (2011) Lowering ruminant methane emissions through improved feed conversion efficiency.
- Wang, S., Zhu, F. and Kakuda, Y. (2018). Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.): Nutritional composition, biological activity, and uses. *Food Chemistry*, 265, pp.316-328
- Wischer, G., Boguhn, J., Steingäß, H., Schollenberger, M., & Rodehutschord, M. (2013) Effects of different tannin-rich extracts and rapeseed tannin monomers on methane formation and microbial protein synthesis in vitro. *Animal: An International Journal of*.

6.3. ANEXOS

Anexo1. Determinación de MS, molido, tamizado de para los tratamientos y su respectiva preparación

 		
<p>Recolección, pesado, secado y pesado y determinación de materia seca.</p>	<p>Molido y tamizado</p>	<p>T1 moringa 40% (alfalfa30 cebada30%) T2 Sacha inchi 40% (alfalfa30 cebada30%) T3 Acacia 40% (alfalfa30 cebada30%) T4 M-S-A 40% (alfalfa30 cebada30%) T5 Alfalfa 50% Cebada 50%</p>

Anexo 2. Fermentación ruminal in vitro.

		
<p>Pesado y Precipitación de ingredientes para preparación de saliva artificial</p>	<p>Se coloca CO₂ durante 3-4 horas comenzando a ver resultados a partir de las 2:30h de iniciar.</p>	<p>Recolección de líquido ruminal en ayunas, y colocarlas en fundas dentro de un balde con agua a 39-40°</p>
		
<p>Colocación de Tratamiento en frascos de cristal (0,500-0,530g)</p>	<p>Colocación de líquido ruminal y saliva en proporción 30%-70% dejando un espacio libre de 40% para medir gas.</p>	<p>Incubación de 96h. Toma de datos de presión, volumen, CO₂ y metano (3,6,9,12,24,36,48,72,96)</p>

Anexo 3. Degradación ruminal in situ.

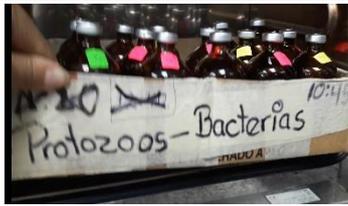
		
<p>Rotulación, secado y pesado de Bolsitas - Colocación Tratamiento (0,500-0,530)</p>		
		
<p>Colocación de bolsitas</p>	<p>Retiro de bolsitas</p>	<p>Lavado y pesado de bolsitas</p>

Anexo 4. Digestibilidad

		
<p>Pesado y Precipitación de ingredientes para preparación de saliva artificial</p>	<p>Se coloca CO₂ durante 3-4 horas comenzando a ver resultados a partir de las 2:30h de iniciar.</p>	<p>Recolección de líquido ruminal en ayunas, y colocarlas en fundas dentro de un balde con agua a 39-40°</p>
		

Colocación de Tratamiento en frascos de cristal (0,500-0,530g)	Colocación de líquido ruminal y saliva en proporción 30%-70% dejando un espacio libre de 40% para medir gas.	Incubación de 48h. Filtrado, Secado, Ceniza y pesado.
--	--	---

Anexo 5. Extracción de bacterias y protozoos

		
Extracción de y protozoos en Eppendorf de 1,5 ml durante 12-24-48 horas.	Conteo de Protozoos Heterotrofos y Autotrofos	Congelación de bacterias

Anexo 5. Fibra Detergente Neutra – Fibra Detergente Acida

		
Rotulación, secado y pesado de Bolsitas - Colocación Tratamiento (0,500-0,530) y sellado de las mismas.		
		
FDN-FDA	Lavado	Secado y pesado

