

Effect of *Moringa oleifera* forage meal as an additive on health indicators of broilers

Efecto de la harina de forraje de *Moringa oleifera* como aditivo en indicadores de salud de pollos de ceba

Ysnagmy Vázquez, Bárbara Rodríguez and M. Valdivié

Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

Email: ysnagmy@ica.co.cu

Bárbara Rodríguez: <https://orcid.org/0000-0003-0740-9346>

Manuel Valdivié: <https://orcid.org/0000-0002-8858-0307>

Ysnagmy Vázquez: <https://orcid.org/0000-0003-1769-3416>

The inclusion of *Moringa oleifera* forage meal as an additive and its effect on health indicators of broilers were evaluated. A total of 28 male broilers (hybrid EB34) of 1 to 42 d of age were used, from a productive performance experiment. They were distributed in a completely randomized design and four treatments were established: control diet (corn-soybean) and three diets, with inclusion of 0.5, 1.0 and 1.5 % of *Moringa oleifera* forage meal. At 42 d of age, the animals were slaughtered and the abdominal cavity was opened to determine immunological indicators (spleen, thymus and bursa of Fabricius). The organ weight was expressed as relative weight to live weight ($\text{g gLW}^{-1} \times 100$). Blood was extract from the jugular vein to determine health indicators (hematocrit and hemoglobin). The birds mortality was also taken into account. There was no effect of the moringa level on the hemoglobin, hematocrit and mortality values of broilers. An increase in the relative weight of the thymus ($P = 0.0151$) and the bursa of Fabricius ($P = 0.0002$) was found in the broilers that received moringa forage meal in the diet. The results showed the possibility of including up to 1.5 % of moringa forage meal in the broilers diet, without affecting health indicators. Future researches are recommended to supplement this information.

Key words: *forage trees, phytobiotics, broilers*

The use of antibiotics as growth promoters has been used for decades, with great effect on production costs and animal welfare. However, its indiscriminate use caused microbial resistance problems and exacerbated the appearance of residual effects on food for human intake (Ahmed and Gareib 2016 and Muaz *et al.* 2018). For these reasons, in 2006, the European Community prohibits its inclusion in the diet for prophylactic purposes. In this context, nutritionists and specialists began researches to search for additives that are harmless to animals and humans, with effects similar to these drugs (Linares 2015).

One of the possible alternatives reported in poultry production to replace antibiotics is the use of plants, which are incorporated into the diet to improve the yield and immune response of broilers (Gadde *et al.* 2017). *Moringa oleifera* is in great demand due to its high nutritional and medicinal value. Numerous researches were carried out to isolate, identify and characterize bioactive compounds from different

Se evaluó la inclusión de la harina de forraje de *Moringa oleifera* como aditivo y su efecto en indicadores de salud de pollos de ceba. Se utilizaron 28 pollos de ceba machos (híbrido EB34) de 1 a 42 d de edad, que procedían de un experimento de comportamiento productivo. Se distribuyeron en un diseño completamente aleatorizado y se establecieron cuatro tratamientos: dieta control (maíz-soya) y tres dietas, con inclusión de 0.5, 1.0 y 1.5 % de harina de forraje de *Moringa oleifera*. A los 42 d de edad, los animales se sacrificaron y se abrió la cavidad abdominal para determinar indicadores inmunológicos (bazo, timo y bolsa de Fabricio). El peso de los órganos se expresó como peso relativo al peso vivo ($\text{g gPV}^{-1} \times 100$). Se extrajo sangre de la vena yugular para determinar indicadores de salud (hematocrito y hemoglobina). Se tuvo en cuenta además, la mortalidad de las aves. No hubo efecto del nivel de moringa en los valores de hemoglobina, hematocrito y mortalidad de las aves. Se halló incremento del peso relativo del timo ($P=0.0151$) y la bolsa de Fabricio ($P=0.0002$) en las aves que recibieron harina de forraje de moringa en la dieta. Los resultados mostraron la posibilidad de incluir hasta 1.5 % de harina de forraje de moringa en la dieta de pollos de ceba, sin que se afecten los indicadores de salud. Se recomiendan investigaciones futuras que complementen esta información.

Palabras clave: *árboles forrajeros, fitobióticos, aves.*

El uso de antibióticos como promotores del crecimiento se utilizó durante décadas, con gran efecto en los costos de producción y el bienestar animal. Sin embargo, su utilización indiscriminada ocasionó problemas de resistencia microbiana y agudizó la aparición de efectos residuales en los alimentos para el consumo humano (Ahmed y Gareib 2016 y Muaz *et al.* 2018). Por estas razones, en el 2006, la Comunidad Europea prohibió su inclusión en la dieta con fines profilácticos. En este contexto, nutricionistas y especialistas iniciaron investigaciones para la búsqueda de aditivos que resultaran inocuos para los animales y el hombre, con efectos similares a estos fármacos (Linares 2015).

Una de las posibles alternativas que se informan en la producción avícola para reemplazar los antibióticos es el uso de plantas, que se incorporan a la dieta para mejorar el rendimiento y la respuesta inmune de las aves (Gadde *et al.* 2017). *Moringa oleifera* tiene gran demanda, por su alto valor nutricional y medicinal. Numerosas investigaciones se realizaron para aislar, identificar y caracterizar

parts of this plant. These studies showed that the biologically active components in *Moringa oleifera* are compounds called glucosinolates and isothiocyanates, including 4- (4'-O-acetyl- α -L-ramnopyranosyloxy) benzyl isothiocyanate, niazimycin, pteriospermine, benzyl isothiocyanate, and 4- (α -L-ramnanosanioloxi) benzyl glucosinolate, niaziridine, niazirine, as well as carotenoids (Bennett *et al.* 2003 and Shanker *et al.* 2007), which give the plant antiparasitic, antibacterial and digestion modifying properties, among others (Dilawar *et al.* 2018). Due to these properties, it is suggested that their inclusion in the diet in small amounts improves the health and immune response of broilers (Hassan *et al.* 2016 and Mousa *et al.* 2017).

According to Padilla *et al.* (2014), this plant is also of great importance as forage plant, due to its nutritional characteristics and its high yield in the production of fresh biomass. It would be interesting to know if the use of *Moringa oleifera* forage meal in small amounts can improve broilers health. Therefore, the objective of this study was to evaluate the inclusion of *Moringa oleifera* forage meal as an additive and its effect on health indicators of broilers.

Materials and Methods

Elaboration of forage meal. The sowing of moringa was carried out in the Unidad Experimental de Pastos y Forrajes "Miguel Sistach Naya" of the Instituto de Ciencia Animal (ICA), Cuba. Leaves and stems of the plant were used, with a cutting age of 60 d and 30 cm height. The forage was milled in a hammer mill and subsequently dried in the sun for 96 h. In the drying period, the material was spread on the plate at bed height, which did not exceed 30 cm. It was turned several times a day with a rake to achieve uniformity of the material. Then, it was passed through a hammer mill until obtaining a particle size of 3 mm. The material was packed in 50 kg jute bags and kept indoors and aired until their use.

Animals and experimental diets. A total of 28 male broilers from the hybrid EB34, of 1 to 42 d of age were used. The birds came from a productive performance experiment (with 700 chickens) and were distributed in a completely randomized design in four treatments: a control diet (corn-soybean) and three diets, with inclusion of 0.5, 1.0 and 1.5 % of *Moringa oleifera* forage meal. Throughout the experimentation period, the animals had free access to food and water.

Three-phase feeding system was applied: starter (1-14 d), growing (15 to 28 d) and finishing (29 to 42 d). Meal diets were used and formulated according to Rostagno *et al.* (2017) recommendations. Table 1 shows the base diets for each feeding period. To each base diet (without moringa inclusion) 0.5, 1.0 and 1.5 % of *Moringa oleifera* forage meal were added.

At 42 d, seven birds were selected and weighed

compuestos bioactivos a partir de diferentes partes de esta planta. Estos estudios demostraron que los componentes biológicamente activos presentes en *Moringa oleifera* son compuestos llamados glucosinolatos e isotiocianatos, incluidos los 4- (4'-O-acetil- α -L-ramnopyranosiloxi) bencilo isotiocianato, niazimicina, pteriospermina, bencilo isotiocianato y 4- (α -L-ramnanosanioloxi) bencilo glucosinolato, niaziridina, niazirina, así como los carotenoides (Bennett *et al.* 2003 y Shanker *et al.* 2007), que le confieren a la planta propiedades antiparasitarias, antibacterianas y modificadoras de la digestión, entre otras (Dilawar *et al.* 2018). Debido a estas propiedades, se plantea que su inclusión en la dieta en pequeñas cantidades mejora la salud y la respuesta inmune de pollos de engorde (Hassan *et al.* 2016 y Mousa *et al.* 2017).

Según Padilla *et al.* (2014), esta planta tiene además, gran importancia como forrajera, debido a sus características nutricionales y a su alto rendimiento en la producción de biomasa fresca. Sería interesante conocer si el uso de la harina de forraje de *Moringa oleifera* en pequeñas cantidades puede mejorar la salud de pollos de engorde. Por ello, este trabajo tuvo como objetivo evaluar la inclusión de la harina de forraje de *Moringa oleifera* como aditivo y su efecto en indicadores de salud de pollos de ceba.

Materiales y Métodos

Elaboración de la harina de forraje. La siembra de la moringa se realizó en la Unidad Experimental de Pastos y Forrajes "Miguel Sistach Naya" del Instituto de Ciencia Animal (ICA) de la República de Cuba. Se utilizaron hojas y tallos de la planta, con edad de corte de 60 d y altura de 30 cm. El forraje se molió en un molino de martillo y posteriormente se secó al sol durante 96 h. En el período de secado, el material se esparció en el plato a altura de cama, que no superó los 30 cm. Se volteó varias veces al día con un rastrillo para lograr la uniformidad del material. Luego, se pasó por un molino de martillo hasta obtener tamaño de partícula de 3 mm. El material se envasó en sacos de yute de 50 kg y se mantuvo bajo techo y aireado hasta su utilización.

Animales y dietas experimentales. Se utilizaron 28 pollos de ceba machos del híbrido EB34, de 1 a 42 d de edad. Las aves procedieron de un experimento de comportamiento productivo (con 700 pollos) y se distribuyeron en un diseño completamente aleatorizado en cuatro tratamientos: una dieta control (maíz-soya) y tres dietas, con inclusión de 0.5, 1.0 y 1.5 % de harina de forraje de *Moringa oleifera*. Durante todo el período de experimentación, los animales tuvieron libre acceso al agua y al alimento.

Se aplicó sistema de alimentación trifásico: inicio (1-14 d), crecimiento (15 a 28 d) y acabado (29 a 42 d). Se emplearon dietas en forma de harina y se formularon de acuerdo con las recomendaciones de Rostagno *et al.* (2017). En la tabla 1 se presentan las dietas base de cada período de alimentación. A cada dieta base (sin inclusión de moringa) se le adicionó 0.5, 1.0 y 1.5 % de harina de forraje de *Moringa oleifera*.

A los 42 d, se seleccionaron y pesaron siete aves por

Table 1. Base diets of broilers in the different feeding stages.

Raw matter for feeds, %	Starter	Growing	Finishing
Corn meal	47.0	52.9	58.79
Soybean meal	41.13	35.87	30.4
Vegetable oil	6.6	6.3	6.0
Monocalcium phosphate	1.8	1.6	1.6
Calcium carbonate	1.5	1.5	1.4
Common salt	0.35	0.33	0.33
DL methionine	0.31	0.25	0.24
Lysine	0.18	0.12	0.11
Choline	0.13	0.13	0.13
Vitamins and minerals ¹ premixture	1.00	1.00	1.00
Calculated composition, %			
Crude protein	21.81	19.96	18.02
Metabolizable energy, kJ/kg	739.72	753.10	765.05
Crude fiber	3.02	2.83	2.64
Total calcium	1.00	0.95	0.90
Available phosphorus	0.50	0.45	0.45
Lysine	1.39	1.20	1.05
Methionine + cystine	0.95	0.85	0.79

¹ Mineral premixture per kg of food: selenium (0.1 mg), iron (40 mg), copper (12 mg), zinc (120 mg), magnesium (100 mg), iodine (2.5 mg) and cobalt (0.75 mg) and Vitaminic premixture per kg of food: vitamin A (10 000 UI), vitamin D₃ (2 000 UI), vitamin E (10 mg), vitamin K₃ (2 mg), vitamin B₁ (thiamine, 1 mg), vitamin B₂ (riboflavin, 5 mg), vitamin B₆ (pyridoxine, 2 mg), vitamin

per treatment. For this, the average weight of the birds of each treatment was taken into account and the immunological and health indicators described below were determined.

Immunological indicators. The birds were slaughtered two hours and thirty minutes after ingestion of food by the method of bleeding the jugular vein, described by Sánchez (1990). Subsequently, the abdominal cavity was opened and the spleen, thymus, and the bursa of Fabricius were removed. These organs were weighed on a SARTORIUS technical balance, with precision ± 0.1 g. The organ weights were expressed as relative weight to live weight ($\text{g gLW}^{-1} \times 100$). Live weight was established at the slaughter time.

Health indicators. As health indicators, bird mortality was taken into account, as well as hematocrit (Hto) and hemoglobin (Hb).

Mortality. To calculate this indicator, the number of dead birds during the stage was used and it was divided among those that were housed at the beginning of the experiment.

The determination of the hematocrit was carried out on Hawkley microhematocrit equipment with a sliding scale reader that allowed it to be placed at the level of the hematic sediments to perform the reading.

For hemoglobin, the cyanometahemoglobin method, described by Crosby *et al.* (1954) was used.

Statistical analysis. A completely randomized design was used for health indicators, with four treatments and

tratamiento. Para ello se tuvo en cuenta el peso promedio de las aves de cada tratamiento y se determinaron los indicadores inmunológicos y de salud que se describen seguidamente.

Indicadores inmunológicos. Las aves se sacrificaron dos horas y treinta minutos después de la ingestión de alimento por el método de desangrado de la vena yugular, descrito por Sánchez (1990). Posteriormente, se abrió la cavidad abdominal y se extrajeron el bazo, el timo y la bolsa de Fabricio. Estos órganos se pesaron en una balanza técnica marca SARTORIUS, con precisión ± 0.1 g. Los pesos de los órganos se expresaron como peso relativo al peso vivo ($\text{g gPV}^{-1} \times 100$). El peso vivo se estableció en el momento de sacrificio.

Indicadores de salud. Como indicadores de salud, se tuvo en cuenta la mortalidad de las aves, así como el hematocrito (Hto) y la hemoglobina (Hb).

Mortalidad. Para el cálculo de este indicador se utilizó la cantidad de aves muertas durante la etapa y se dividió entre las que se alojaron al inicio del experimento.

La determinación del hematocrito se realizó en un equipo de microhematocrito, marca Hawkley, con un lector de escala móvil que permitió situarlo en el nivel de los sedimentos hemáticos para efectuar la lectura.

Para la hemoglobina se utilizó el método de cianometahemoglobina, descrito por Crosby *et al.* (1954).

Análisis estadístico. Para los indicadores de salud se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con cuatro tratamientos y siete repeticiones. La mortalidad

seven repetitions. The mortality was analyzed by the Chi-square test, using the Comprapro statistical package de Font *et al.* (2007), version 1. The health indicators were analyzed by the statistical package INFOSTAT 2012 (Di Rienzo *et al.* 2012). For the comparison of means, Duncan (1955) mean range test $P < 0.05$ was used.

Results and Discussion

The Hb and Hto indicators did not differ between the studied treatments (table 2). They were found in the established range (7.0-18.6 g dL⁻¹ of Hb and 23-55 % of Hto) for broilers, according to Morton *et al.* (1993). However, it is suggested that when blood is extracted from the brachial vessels, the stress increases, due to the increase in plasma cortisol. This causes the mobilization of erythrocytes, so there may be a slight increase in hemoglobin (Gutiérrez and Corredor 2017). However, this one did not show significant changes between treatments.

Oghenebrorhie and Oghenesuvwe (2016) and

se analizó mediante la décima Chi-cuadrado, para lo que se us  el paquete estadístico Comprapro de Font *et al.* (2007), versión 1. Los indicadores de la salud se analizaron por el paquete estadístico INFOSTAT 2012 (Di Rienzo *et al.* 2012). Para la comparación de medias, se utilizó la décima de rangos medios de Duncan (1955) $P < 0.05$.

Resultados y Discusión

Los indicadores de Hb y Hto no difirieron entre los tratamientos estudiados (tabla 2). Se encontraron en el rango establecido (7.0-18.6 g dL⁻¹ de Hb y 23-55 % de Hto) para pollos de ceba, según Morton *et al.* (1993). Sin embargo, se plantea que al extraer sangre de los vasos braquiales aumenta el estado de estrés, debido al incremento del cortisol plasmático. Este provoca la movilización de los eritrocitos, por lo que se puede presentar un ligero aumento en la hemoglobina (Gutiérrez y Corredor 2017). Sin embargo, esta no mostró cambios significativos entre tratamientos.

Table 2. Hematological indicators of broilers with the inclusion of *Moringa oleifera* forage meal as an additive

Indicator	Levels of <i>Moringa oleifera</i> forage meal, %				SE (\pm)	Value of probability
	0	0.5	1.0	1.5		
Hb (g dL ⁻¹)	10.19	10.57	10.76	10.56	0.20	P=0.2658
Hto (%)	30.57	31.71	32.29	31.71	0.61	P=0.2668

Sánchez *et al.* (2016), when using moringa leaf meal in growing chickens, they do not found differences in Hb and Hto levels. On the contrary, Hassan *et al.* (2016) when evaluating three levels of moringa leaf meal inclusion (0.1, 0.2 and 0.3 %) in broilers, found an increase in the concentration of Hb (9.16, 9.33 and 9.46 mg/100 mL, respectively) with respect to the control (8.93 mg/100 mL). It is probable that the type of diet, age, sex and physiological state of the animals could influence on these results (Ogbe and Affiku 2012).

Table 3 shows the weight of the lymphoid organs, which according to Perozo *et al.* (2004) are used as an indicator of birds health. With the inclusion of meal, there was an increase in the relative weight of the thymus and the bursa of Fabricius with respect to the control.

According to Suárez *et al.* (2010), the immune system in chickens depends on primary lymphoid organs, such as the bursa of Fabricius and thymus, as well as secondary ones, such as the spleen, among

Oghenebrorhie y Oghenesuvwe (2016) y Sánchez *et al.* (2016), al utilizar la harina de hojas de moringa en pollos en crecimiento, tampoco encontraron diferencias en los niveles de Hb y Hto. Por el contrario, Hassan *et al.* (2016) al evaluar tres niveles de inclusión de harina de hojas de moringa (0.1, 0.2 y 0.3 %) en pollos de ceba, encontraron aumento en la concentración de Hb (9.16, 9.33 y 9.46 mg/100 mL, respectivamente) con respecto al control (8.93 mg/100 mL). Es probable que el tipo de dieta, la edad, el sexo y el estado fisiológico de los animales pudieran influir en estos resultados d similes (Ogbe y Affiku 2012)

En la tabla 3 se muestra el peso de los órganos linfoides, los que según Perozo *et al.* (2004) se utilizan como un indicador del estado de salud de las aves. Como se puede observar, con la inclusión de la harina hubo aumento del peso relativo del timo y la bolsa de Fabricio con respecto al control.

Según Suárez *et al.* (2010), el sistema inmunológico en los pollos depende de órganos linfoides primarios, como la bolsa de Fabricio y el timo, así como de los

Table 3. Relative weight (g gLW-1 x100) of lymphoid organs of broilers receiving *Moringa oleifera* forage meal as additive in the diet

Organ	Levels of <i>Moringa oleifera</i> forage meal, %				SE (\pm)	Value of probability
	0	0.5	1.0	1.5		
Spleen	0.12	0.14	0.18	0.15	0.03	P=0.4734
Thymus	0.48 ^a	0.59 ^b	0.62 ^b	0.60 ^b	0.02	P=0.0002
Bursa of Fabricius	0.16 ^a	0.20 ^b	0.22 ^b	0.21 ^b	0.01	P=0.0151

^{a,b} Different letters in the same row differ at $P < 0.05$ (Duncan 1955).

others. B cells are formed in the bursa of Fabricius and T lymphocytes are formed in the thymus from primordial cells that come from the bone marrow or yolk sac during the embryonic phase. For this reason, the development of these lymphatic organs is important to understand the protective functionality of the immune system of chickens. Increasing its size increases the population of cells involved in the immune response, especially B cells. This same process occurs in the thymus, in which the differentiation of T lymphocytes is generated, by which a better immune response is allowed (Cortes and Villamarín 2013).

In a previous study, Perozo *et al.* (2004) reported that as more developed these lymphatic organs are (except in muscular hypertrophy), there is more immune protection in the birds organism. According to this criterion, the chickens under study did not show immunosuppression. On the contrary, with the inclusion of *Moringa oleifera* forage meal favors the increase in the function of the birds' immune system and there is a better immunostimulatory response. These results may be due to the chemical compounds present in moringa, and to the ability of plant polysaccharides to modulate the immune system (Dong *et al.* 2007). In this regard, Cabrera *et al.* (2017) and Kshirsagar *et al.* (2017) reported secondary metabolites, mainly polyphenols, flavonoids, and tannins. In this sense, tannins, although considered anti-nutritional factors, small proportions in diets can be efficient bactericides, fungicides, antioxidants and astringents, thus improving the immune system and with it, the of animals health (Savón *et al.* 2007).

Nkukwana *et al.* (2014) fed broilers with different levels of *Moringa oleifera* leaf meal and found no difference between treatment and control group for spleen weight, but not for the bursa of Fabricius. However, Tete *et al.* (2013) found higher weight of the spleen, thymus, and the bursa of Fabricius in chickens with 1 and 2 % moringa leaf meal compared to those in the control group. Studies with other plants show higher weight of thymus and the bursa of Fabricius in chickens that intake 2.0 and 5.0 % of *Morinda citrifolia* compared to those that intake the control diet (Rentería 2018).

The bird mortality was not affected by moringa levels (figure 1). This shows that the inclusion up to 1.5 % of moringa forage meal in broilers diets does not cause lethality. In this regard, Mona *et al.* (2016) neither did they found effect on the mortality of chickens, reporting values of 1.13 and 0.88 % when including 2 and 3 % of moringa forage meal, respectively.

Similar results were observed when chickens were fed different levels of leaf meal from *Morus alba* (Leyva *et al.* 2012) and *Tithonia diversifolia* (Buragohain 2016).

Although statistically there are no differences between treatments for animal mortality, figure 1 shows that with 1.0 % moringa there are fewer deaths. During the entire experimental period (from 1 to 42 d), 17, 8,

secundarios, como el bazo, entre otros. En la bolsa de Fabricio se forman linfocitos B y en el timo, linfocitos T, a partir de células primordiales que provienen de la médula ósea o del saco vitelino durante la fase embrionaria. Por esta razón, el desarrollo de estos órganos linfáticos es importante para conocer la funcionalidad protectora del sistema inmunitario de los pollos. El aumento de su tamaño incrementa la población de células que participan en la respuesta inmunitaria, en especial de células B. Este mismo proceso ocurre en el timo, en el que se genera la diferenciación de linfocitos T, por el cual se permite mejor respuesta inmune (Cortes y Villamarín 2013).

En un trabajo anterior, Perozo *et al.* (2004) informaron que cuanto más desarrollados están estos órganos linfáticos (excepto en hipertrofia muscular) más protección inmunológica hay en el organismo de las aves. Según este criterio, los pollos en estudio no presentaron inmunosupresión. Por el contrario, con la inclusión de harina de forraje de *Moringa oleifera* se favorece el aumento de la función del sistema inmune de las aves y hay mejor respuesta inmunoestimulante. Estos resultados se pueden deber a los compuestos químicos presentes en la moringa, y a la capacidad de los polisacáridos de las plantas de modular el sistema inmune (Dong *et al.* 2007). Al respecto, Cabrera *et al.* (2017) y Kshirsagar *et al.* (2017) refirieron metabolitos secundarios, principalmente polifenoles, flavonoides y taninos. En este sentido, los taninos, aunque se consideran factores anti-nutricionales, pequeñas proporciones en las dietas pueden ser eficientes bactericidas, fungicidas, antioxidantes y astringentes, por lo que mejoran el sistema inmune y con ello, la salud de los animales (Savón *et al.* 2007).

Nkukwana *et al.* (2014) alimentó pollos de ceba con diferentes niveles de harina de hojas de *Moringa oleifera* y no encontraron diferencia entre el tratamiento y el grupo control para el peso del bazo, no así para la bolsa de Fabricio. Sin embargo, Tete *et al.* (2013) hallaron mayor peso del bazo, timo y bolsa de Fabricio en pollos con 1 y 2 % de harina de hojas de moringa con respecto a los del grupo control. Estudios con otras plantas muestran mayor peso del timo y bolsa de Fabricio en pollos que consumen 2.0 y 5.0 % de *Morinda citrifolia* en comparación con los que ingieren la dieta control (Rentería 2018).

La mortalidad de las aves no se afectó con los niveles de moringa (figura 1). Esto demuestra que la inclusión de hasta 1.5 % de harina de forraje de moringa en las dietas de pollos de cebas no provoca letalidad. Al respecto, Mona *et al.* (2016) tampoco encontraron efecto en la mortalidad de pollos, al informar valores de 1.13 y 0.88 % al incluir 2 y 3 % de harina de follaje de moringa, respectivamente.

Resultados similares se observaron cuando se alimentaron pollos con diferentes niveles de harina de hojas de *Morus alba* (Leyva *et al.* 2012) y *Tithonia diversifolia* (Buragohain 2016).

A pesar que estadísticamente no hay diferencias entre tratamientos para la mortalidad de los animales, en la figura 1 se muestra que con 1.0 % de moringa hay menos

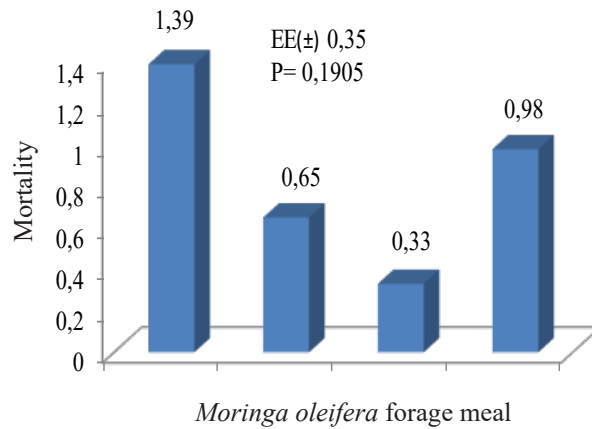


Figure 1. Effect of the level of *Moringa oleifera* on the mortality of broilers

4 and 12 dead animals were recorded for the control treatments, 0.5, 1.0 and 1.5% of *Moringa oleifera* forage meal, respectively. This result corresponds to the immune response of the animals, since despite the fact that there were no differences in the relative weight of the thymus and the bursa of Fabricius in the chickens that intake moringa (table 3), numerically the birds with 1.0 % of inclusion, showed the highest values, which shows higher immunity.

The results showed the possibility of including up to 1.5 % of *Moringa oleifera* forage meal in feed rations for broilers, without affecting the animals health. Future researches are recommended to complement this information and to measure other indicators to be able to recommend *Moringa oleifera* forage meal as an additive for broilers.

muertes. Durante todo el período experimental (de 1 a 42 d) se registraron 17, 8, 4 y 12 animales muertos para los tratamientos control, 0.5, 1.0 y 1.5 % de harina de forraje de *Moringa oleifera*, respectivamente. Este resultado se corresponde con la respuesta inmune de los animales, puesto que a pesar de que no hubo diferencias en el peso relativo del timo y la bolsa de Fabricio en los pollos que consumieron moringa (tabla 3), numéricamente las aves con 1.0 % de inclusión, mostraron los mayores valores, lo que evidencia mayor inmunidad.

Los resultados mostraron la posibilidad de incluir hasta 1.5 % de harina de forraje de *Moringa oleifera* en las raciones para pollos de ceba, sin que se afecte la salud de los animales. Se recomiendan investigaciones futuras que complementen esta información y que midan otros indicadores para poder recomendar la harina de forraje de *Moringa oleifera* como aditivo para pollos de ceba.

References

- Ahmed, A. M. & Gareib, M. M. 2016. "Detection of some antibiotics residues in chicken meat and chicken luncheon". Egyptian Journal of Chemistry and Environmental Health. 2 (2):315-323, ISSN: 2536-9164.
- Bennett, R. N., Mellon, F. A., Foidl, N., Pratt, J. H., Dupont, M. S., Perkins, L. & Kroon, P. A. 2003. "Profiling Glucosinolates and Phenolics in Vegetative and Reproductive Tissues of the Multi-Purpose Trees *Moringa oleifera* L. (Horseradish Tree) and *Moringa stenopetala* L". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51(12): 3546–3553, ISSN 0021-8561, DOI:10.1021/jf0211480.
- Buragohain, R. 2016. "Growth performance, nutrient utilization, and feed efficiency in broilers fed *Tithonia diversifolia* leaf meal as substitute of conventional feed ingredients in Mizoram", Veterinary World, 9(5): 444-449, ISSN (Online): 2231-0916, DOI: 10.14202/vetworld.2016.444-449.
- Cabrera, J., Jaramillo, C., Dután, F., Cun, J., García, P. & Rojas de Astudillo, L. 2017. "Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleifera* Lam. en función de su edad y altura". Bioagro, 29 (1): 53-60, ISSN: 1316-3361.
- Cortés, L.S. & Villamarín, S. C. 2013. "Características morfológicas de órganos linfoides y estudios serológicos en levante de ponedoras utilizando un inmunomodulador, vitaminas y aminoácidos". Spei Domus, 9(18): 29-36. ISSN: 2382-4247.
- Crosby, W. H., Munn, J. I. & Furth, F. W. 1954. "Standardizing a method for clinical hemoglobinometry". United States Armed Forces Medical Journal, 5(5): 693–703, ISSN: 0566-0777.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M. & Robledo, C. 2012. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. Versión 1.0 para Windows. Available: < http://www.infostat.com.ar >
- Dilawar, S., Shah, A., Khan, H. U. & Imad, S. 2018. "Antibacterial, antibiofilm, hemolytic activity and phytochemical study of various aerial parts of *Moringa oleifera* in Pakistan". Asian J. Med. Biol. Res. 4 (1): 77-85, ISSN: 2411-4472 (Print), 2412-5571 (Online), DOI: 10.3329/ajmbr.v4i1.36825.
- Dong, X.F., W.W. Gao, J.M. Tong, H.Q. Jia, R.N. Sa. & Zhang, Q. 2007. "Effect of polysavone (alfalfa extract) on abdominal fat deposition and immunity in broiler chickens". Poultry Science, 86 (9):1955-1959, ISSN: 0032-5791.

- Duncan, D. B. 1955. "Multiple Range and Multiple F Tests". *Biometrics*, 11(1): 1, ISSN: 0006341X.
- Font, H., Noda, A., Torres, V., Herrera, M., Lizazo, D., Sarduy, L.R. & Rodríguez, L. 2007. Paquete estadístico comparación de proporciones (Comprapro). Versión 1. Instituto de Ciencia Animal. Cuba
- Gadde, U., Kim, W.H., Oht, S. T. & Lillehoj, H. S. 2017. "Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review". *Animal Health Research Reviews*, 18(01): 26–45, ISSN: 1466-2523, DOI: 10.1017/s1466252316000207.
- Gutiérrez, L.L. & Corredor, J.R. 2017. "Parámetros sanguíneos y respuesta inmune en pollos de engorde alimentados con probióticos". *Revista Veterinaria y Zootecnia*, 11 (2): 81-92, ISSN 2011-5415. DOI: 10.17151/vetzo.2017.11.2.7.
- Hassan, H.M.A., El-Moniary, M.M., Hamouda Y., El-Daly, E. F., Youssef, A.W. & Abd El-Azeem, N.A. 2016. "Effect of Different Levels of *Moringa oleifera* Leaves Meal on Productive Performance, Carcass Characteristics and Some Blood Parameters of Broiler Chicks Reared Under Heat Stress Conditions". *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11(1): 60-66, ISSN: 1683-9919, DOI: 10.3923/ajava.2016.60.66.
- Kshirsagar, R.B., Sawate, A.R., Patil, B.M. & Zaker, M.A. 2017. "Studies on nutritional profile of different parts of *Moringa oleifera* (Leaf, flower and pod)". *Food Science*, 8 (1): 21-24, ISSN: 2230-9403, DOI: 10.15740/HAS/FSRJ/8.1/21-24.
- Leyva, C. L., Olmo, G. C. & León, A. E. 2012. "Inclusión de harina deshidratada de follaje de morera (*Morus alba* L.) en la alimentación del pollo campero". *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(3):653 – 659. ISSN: 1317-9152.
- Linares, L. 2015. "Los desafíos nutricionales frente a las restricciones de uso de aditivos: eliminación de uso de antibiótico". In: XXIV Congreso Latinoamericano de Avicultura 2015, Guayaquil, Ecuador: Corporación Nacional de Avicultores del Ecuador (CONAVE), Available: <<https://www.engormix.com/avicultura/articulos/losdesafiosnutricionales-frente-t32625.htm>>, [Consulted: marzo 29, 2019].
- Mona, E M. Y., Hamada, A.A. & Ahmed, R. E. 2016. "Productive performance and immune response of two broiler breeds to dietary Moringa supplementation". *J. World Poult. Res.*, 6 (4): 191-198. ISSN: 2322-455X.
- Morton, D.B., Abbot, D., Barclay, R., Close, B S., Ewbank, R., Gask, D., Heath, M., Mattic, S., Poole, T., Seamer J., Southee, J., Thompson A., Trussell, B., West, C. & Jennings, M. 1993. "Removal of blood from laboratory mammals and birds. First report of the BVA/FRAME/RSPCA/UFAW joint working group on refinement". *Laboratory Animals*, 27(1), 1–22. ISSN: 0023-6772, ISSN (Online): 1758-1117.
- Mousa, M.A., Osman, A.S. & Abdel-Hady, H.A.M. 2017. "Performance, immunology and biochemical parameters of *Moringa oleifera* and/or *Cichorium intybus* addition to broiler chicken ration". *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 9 (10): 255-263, ISSN: 2141-2529, DOI: 10.5897/JVMAH2017.0611.
- Muaz, K., Riaz, M., Akhtar, S., Park, S. & Ismail, A. 2018. "Antibiotic Residues in Chicken Meat: Global Prevalence, Threats, and Decontamination Strategies: A Review". *Journal of Food Protection*, 81(4), 619–627, ISSN: 0362-028X (Print), 1944-9097 (Online), DOI:10.4315/0362-028X.JFP-17-086.
- Nkukwana, T.T., Muchenje, N., Pieterse, N.E., Masika, P.J., Mabusela, T.P., Hoffman, L.C. & Dzama, K. 2014. "Effect of *Moringa oleifera* leaf meal on growth performance, apparent digestibility, digestive organ size and carcass yield in broiler chickens". *Livestock Science*, 161: 139-146. ISSN: 1871-1413, DOI:10.1016/j.livsci.2014.01.001.
- Ogbe, A.O. & Affiku, J.P. 2012. "Effect of polyherbal aqueous extracts (*Moringa oleifera*, *Gum arabic* and wild *Ganoderma lucidum*) in comparison with antibiotic on growth performance and haematological parameters of broiler chickens". *Research Journal of Recent Sciences*, 1 (7):10–18, ISSN: 2277-2502.
- Oghenebrorhie, O. & Oghenesuvwe, O. 2016. "Performance and haematological characteristics of broiler finisher fed *Moringa oleifera* leaf meal diets". *Journal of Northeast Agricultural University*, 23 (1):28–34, ISSN: 1006-8104.
- Padilla, C., Fraga, N., Scull, I., Tuero, R., Sarduy, L., 2014. "Effect of cut height on indicators of forage production of *Moringa oleifera* cv. Plain., *Cuban Journal of Agricultural Science*, 48 (4): 405 – 409, ISSN: 2079-3480.
- Perozo, M, Nava J., Mavárez, Y., Arenas, E., Serje, P. & Briceño, M. 2004. "Caracterización morfológica de los órganos linfoides en pollos de engorde de la línea Ross criados bajo condiciones de campo en el Estado Zulia, Venezuela". *Revista Científica*, 14(3): 217-225. ISSN: 0798-2259.
- Rentería, G. A. 2018. Efecto inmunoestimulante de noni (*Morinda citrifolia*) y guanábana (*Annona muricata*) en pollos de engorde machos cobb – 500, lambayeque–perú – 2016. Graduated Thesis, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú, 108 p.
- Rostagno, H. S., Teixeira, L.F., Hannas, M. I., López, J., Sakomura, N.K.; Perazzo, F. G., Saraiva, A., Lobão, M., Borges, P., de Oliveira, R. F., de Toledo, S.L. & de Oliveira, C. 2017. Tablas brasileñas para aves y cerdos: composición de alimentos y requerimientos nutricionales. Ed. por Departamento de Zootecnia Universidad Federal de Viçosa. Cuarta. Brasil: Universidad Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia. ISBN: 978-85-8179-122-7.
- Sánchez, A. 1990. Enfermedades de las aves. La Habana, Cuba: ENPES, 285 p.
- Sánchez, K.Y., Cuadros, A.F. & Peña, M.Y. 2016. "Impacto que genera la utilización de *Moringa oleifera* en la producción de pollo". *Revista Mundo FESC*, 2(12): 98-108. ISSN 2216-0353.
- Savón, L., Scull, I. & Martínez, M. 2007. "Integral foliage meal for poultry feeding. Chemical composition, physical properties and phytochemical screening". *Cuban Journal of Agricultural Science*, 41 (4):359-361, ISSN: 2079-3480.
- Shanker, K., Gupta, M., Srivastava, S., Bawankule, D., Pal, A. & Khanuja, S. 2007. "Determination of bioactive nitrile glycoside in moringa (*Moringa oleifera*) by reverse HPLC". *Food Chemistry*, 105 (1): 376-382. ISSN: 0308-8146, DOI:10.1016/j.foodchem.2006.12.034.
- Suárez, Z. N., Aguilera, Q.I., Ardaya, C., Gianella, D. H. & Rodríguez, J. 2010. Caracterización del Desarrollo de la Bolsa de Fabricio en Pollos de engorde. Graduated Thesis, Universidad Autónoma Gabriel Renè Moreno, Santa Cruz, Bolivia, 53 p.

Teteh, A., Lawson, E., Tona, K., Decuypere, E. & Gbeassor, M. 2013. "*Moringa oleifera* Leave: Hydro-Alcoholic Extract and Effects on Growth Performance of Broilers". International Journal of Poultry Science, 12(7): 401-405, ISSN: 1682-8356.

Received: September 8, 2019

Accepted: February 21, 2020