

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS
MAESTRIA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN ANIMAL



CALIDAD NUTRICIONAL Y CONTENIDO DE ALCALOIDES DEL ENSILADO DE FORRAJE DE LUPINO (*L. rotundiflorus* y *L. exaltatus*) EN DOS TIEMPOS DE CORTE.

TESIS PRESENTADA POR:

MVZ. DORA MANUELA CARRASCO GARCÍA.

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN ANIMAL

DIRECTOR:

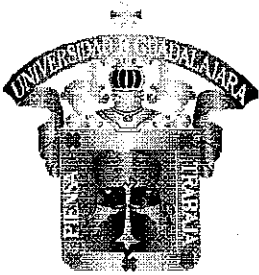
M. EN C. HORTENCIA VERDÍN SÁNCHEZ.

ASESORES:

M. EN C. MANUEL GALINDO TORRES.

PHD. JOSÉ ROGELIO OROZCO HERNÁNDEZ.

Zapopan, Jalisco. Mayo 2006



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
DIVISION DE CIENCIAS VETERINARIAS



COORDINACIÓN DE POSGRADO

COORDINACIÓN DE POSGRADO DE LA
DIVISION DE CIENCIAS VETERINARIAS
DE LA UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
PRESENTE.

Por este conducto nos permitimos enviar la **VERSION FINAL DE LA TESIS** que desarrolló la pasante de Maestría en Ciencias de la Nutrición Animal de la Universidad de Guadalajara, **M.V.Z. Dora Manuela Carrasco García**, cuyo título es:

"Calidad nutricional y contenido de alcaloides del ensilado de forraje de lupino (*L. rotundiflorus* y *L. exaltatus*) en dos tiempos de corte".

Trabajo dirigido por: **M. en C. Hortencia Verdín Sánchez**

Los que suscriben la presente avalan esta versión, la cual fue revisada y reúne los requisitos teóricos y metodológicos necesarios.

ATENTAMENTE

Las Agujas, Zapopan, Jal. a 09 de Mayo del 2006.

**"2006. Año del Bicentenario del natalicio del Benemérito de las Américas
Don Benito Juárez García"**

REVISOR
DR. JUAN FRANCISCO ZAMORA NATERA

REVISOR
M. EN C. LUCÍA BARRIENTOS RAMÍREZ

REVISOR
M. EN C. JORGE HERNANDEZ GOBORA

REVISOR
DR. MA. DE LOURDES ISAAC VIRGEN

REVISOR
M. EN C. HORTENCIA VERDIN SANCHEZ

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

A LA UNIVERIDAD DE GUADALAJARA

A MI DIRECTORA M.C. HORTENCIA VERDÍN S.
A MIS ASESORES DR. ROGELIO OROZCO Y M.C. MANUEL GALINDO
TORRES

AL PERSONAL DELLABORATORIO DE NUTRICION ANIMAL DEL
DEPARTAMETO DE PRODUCCION ANIMALDEL CUCBA
AL M.C. JORGE HERNANDEZ G., QFB. CECILIA JIMENEZ , ING. EVELIA
MARTINEZ Y MVZ. ADOLFO RODRIGUEZ.
POR EL APOYO BRINDADO

AL PERSONAL DEL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGIA DEL
DEPARTAMENTO DE BOTANICA DEL CUCBA
DR. MARIO A. RUIZ L., DR. FRANCISCO ZAMORA N., M.C. PEDRO M.
GARCIA, M.C. JESUS RUIZ Y ELY.
GRACIAS POR SU APOYO, CONSEJOS Y AMISTAD

AL MVZ. RUBEN ROSALES RAMIREZ Y M.C. ELIGIO MORENO GOMEZ POR
SU AMISTAD Y AYUDA
INCONDICIONAL

A LAS PERSONAS QUE DE ALGUNA U OTRA FORMA ESTUVIERON
IMPULSANDOME A CONTINUAR CON EL DESARROLLO DE ESTE TRABAJO
EN LOS MOMENTOS DIFICILES

A TODOS GRACIAS

DEDICATORIA

**A LAS DOS RAZONES, MOTIVOS
Y MOTOR DE MI EXISTENCIA**

MIS HIJAS

DORA KARINA Y PAULA KARISSA

A MI MAMA

LUPE-LUPE

A MIS HERMANOS :

**MA. DEL CARMEN, AMANDA, ERNESTO, GLORIA, LULU †, EDITH †,
PATRICIA, FRANCISCO EDUARDO Y EN ESPECIAL A MI PROTECTORA,
LUPITA.**

A TODOS MIS SOBRINOS, TIOS Y PRIMOS

A MIS AMIGOS

A MI HONORABLE JURADO

**DR. MA. DE LOURDES ISAAC VIRGEN
M. EN C. LUCIA BARRIENTOS RAMIREZ
DR. JUAN FRANCISCO ZAMORA NATERA
M. EN C. JORGE HERNANDEZ GOBORA.**

A HORTENCIA Y ROGELIO

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	i
1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 LEGUMINOSAS EN MÉXICO.....	3
2.2 CARACTERÍSTICAS DEL GÉNERO <i>Lupinus</i>	3
2.3 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	4
2.4 DISTRIBUCIÓN EN MÉXICO	4
2.5 UTILIZACIÓN DE LA SEMILLA DE <i>Lupinus</i>	4
2.6 FACTORES ANTINUTRICIONALES	6
2.7 INTOXICACIÓN POR ALCALOIDES	6
2.8 MÉTODOS PARA LA REDUCCIÓN DE ALCALOIDES ...	7
2.8.1 DESTOXIFICACIÓN DE LA SEMILLA	7
2.8.2 MÉTODOS TECNOLÓGICOS	7
2.8.3 EXTRACCIÓN CON AGUA.....	8
2.9 ALCALOIDES	8
2.10 UTILIZACIÓN DEL FORRAJE DE <i>Lupinus</i>	9
2.11 PRODUCCIÓN FORRAJERA DE ESPECIES DE <i>Lupinus</i> SILVESTRES	11

2.12 ENSILAJE DE <i>Lupinus</i>	11
3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
4.- JUSTIFICACIÓN	16
5.- HIPÓTESIS.....	17
6.- OBJETIVOS	18
6.1 GENERAL.....	18
6.2 PARTICULARES.....	18
7.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
8.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
9.- CONCLUSIONES	38
10.- BIBLIOGRAFIA.....	39

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1. COMPOSICIÓN QUÍMICO-PROXIMAL DE SIETE ESPECIES DE <i>Lupinus</i> SILVESTRES MEXICANOS.....	5
CUADRO 2. CARACTERÍSTICAS DE ALGUNOS RESIDUOS DE COSECHA EMPLEADOS EN LA ALIMENTACIÓN DE RUMIANTES.....	10
CUADRO 3. EFECTO DE LA FUENTE DE ENSILADO EN PRODUCCIÓN DE GANADO LECHERO	13

CUADRO 4.	CARACTERÍSTICAS NUTRICIONALES DE LUPINO CONSERVADO EN SECO Y HÚMEDO	14
CUADRO 5.	CONTENIDO DE HUMEDAD, MATERIA SECA Y pH DE FORRAJE DE DOS ESPECIES DE LUPINO A DOS TIEMPOS DE CORTE DURANTE LA CONSERVACIÓN	25
CUADRO 6.	CONTENIDO DE COMPUESTOS NITROGENADOS DEL FORRAJE DE LUPINO CON DOS TIEMPOS DE CORTE Y EN CONSERVACIÓN	28
CUADRO 7.	CONTENIDO DE FIBRA DETERGENTE NEUTRO (FDN) Y FIBRA DETERGENTE ÁCIDO (FDA) EN FORRAJE DE LUPINO CON DOS TIEMPOS DE CORTE Y EN CONSERVACIÓN	36
CUADRO 8.	CONTENIDO DE ALCALOIDES (LUPANINA) EN FORRAJE DE LUPINO A DIFERENTES TIEMPOS DE CORTE Y EN CONSERVACIÓN	37

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1	ESQUEMA DE EXTRACCIÓN DE ALCALOIDES	22
----------	-------------------------------------	----

ÍNDICE DE GRÁFICAS

GRÁFICA 1	CONTENIDO DE HUMEDAD EN EL ENSILADO DE LUPINO CON DOS TIEMPOS DE CORTE	24
GRAFICA 2	CONTENIDO DE PROTEÍNA CRUDA DEL ENSILADO DE LUPINO	27
GRAFICA 3	CONTENIDO DE NITRÓGENO AMONIAICAL EN EL ENSILADO DE LUPINO	30
GRAFICA 4	CONTENIDO DE FDA EN EL ENSILADO DE LUPINO CON DOS TIEMPOS DE CORTE	33
GRAFICA 5	CONTENIDO DE FDN EN ENSILADO DE LUPINO CON DOS TIEMPOS DE CORTE.....	34
GRAFICA 6	CONTENIDO DE LUPANINA EN ENSILADO DE LUPINO A DOS TIEMPOS DE CORTE.....	35

RESUMEN

Las fuentes de proteína son la limitante principal de los sistemas de producción de rumiantes, sobre todo en medianos y pequeños productores que utilizan forraje como su principal insumo alimenticio. Se estima que existen aproximadamente 1,500 especies de leguminosas y dentro de éstas se encuentran las del género *Lupinus*, ya que sus características de crecimiento, disponibilidad, y propiedades químico nutricionales representan una oportunidad forrajera, que le permiten ser susceptible para utilizarse como ingrediente en la alimentación animal. Sin embargo, poseen factores antinutritivos (alcaloides quinozilidínicos) que pueden afectar la salud del animal. Por lo que es importante conocer la capacidad del ensilaje para disminuir los niveles de alcaloides y permitir la conservación de sus componentes nutritivos para utilizarlos de manera segura en raciones para la alimentación animal. Se utilizaron dos especies; *L. rotundiflorus* y *L. exaltatus*. El primer corte realizado a los 90 y el segundo a los 180 días. Se picó la planta completa y se depositó 1 kg en bolsas de plástico selladas herméticamente para favorecer la fermentación anaeróbica. Se abrieron 3 bolsas de cada especie y de cada corte en 5 tiempos (0, 10, 20, 30 y 40 días) de conservación. Al material ensilado se le determinó, humedad, nitrógeno amoniacal y total, pH, FDN, FDA, Proteína Cruda y contenido de alcaloides; la edad de corte manifestó ser diferente en cada una de las variables evaluadas en donde la humedad, N-NH₃, PC, pH y alcaloides fueron las que disminuyeron; no así las FDN y FDA. El ensilado de *Lupinus* en las especies estudiadas mejoró al ser ensilado a los 180 días de edad.

1. INTRODUCCIÓN.

Los productores de carne para consumo humano deben ser competitivos para mantenerse en el mercado, reduciendo costos de producción al tratar de maximizar la utilización de los forrajes que ofrecen a sus animales, principalmente a los estabulados.

Los sistemas productivos se encaminan principalmente a satisfacer sus demandas de calidad, donde se proyecta a una producción animal sustentable o natural sin menoscabo de los ecosistemas. En estos sistemas, los animales reciben parte de la energía en forma de concentrado, pero además necesitan mantener la integridad y motilidad ruminal por lo que se les otorga forraje, para solo adecuar la cantidad de concentrado y cubrir los requerimientos del animal (Haq, 1993).

Generalmente los rumiantes reciben además de hidratos de carbono como principal fuente de energía, proteína que puede estar constituida de aminoácidos o simplemente de compuestos nitrogenados. Dentro de estos últimos se encuentran las pastas residuales de la extracción de aceite, pero la producción nacional no es la suficiente para satisfacer las necesidades de los sistemas de explotación de monogástricos, y mengua la destinada para los rumiantes, los cuales son capaces de utilizar mediante la microbiota ruminal compuestos nitrogenados presentes en el alimento que recibe y transformarlos en proteína microbiana (López -Bellido. y Fuentes, 1986).

Entre las diferentes alternativas disponibles utilizadas actualmente en la ganadería tradicional extensiva en el trópico mexicano, se tiene la implementación de prácticas de tipo agroforestal , que impulsan la integración de árboles y arbustos con la producción animal y que podrían dar la pauta para el desarrollo de sistemas de producción sustentables que no atenten contra el frágil equilibrio ecológico, y que inclusive pudieran mejorar el comportamiento animal (ganancia de peso, producción de leche) sin tener que depender de insumos externos. (Ku Vera y col. 2005) sobre todo para ser empleados por el pequeño y mediano productor que no tiene acceso todo el año a esquilmos agrícolas. Pero debido a la estacionalidad en la abundancia de estos recursos limita su uso, sobre

todo por la periodicidad en su disponibilidad, lo que requiere que se conserven para su posterior utilización en la alimentación animal.

Uno de los métodos de conservación en verde que mantiene los nutrimentos del forraje o hierba húmeda y reduce las pérdidas en su valor nutritivo es el ensilaje. Sin embargo, es necesario evaluar el efecto del proceso de conservación sobre los recursos vegetales alternativos como el forraje de lupino, para así poder proponer a los productores sobre su implementación dentro de sus sistemas de alimentación.

2. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1 Leguminosas en México

México posee una gran variedad de especies vegetales factibles de estudio con fines alimentarios e industriales. Se estima que dicha flora está compuesta por mas de 25,000 especies. Aproximadamente 1,500 de éstas son leguminosas, distribuidas ampliamente en todo el territorio Nacional. Las leguminosas son un grupo de plantas que en su forraje y semilla contienen elevados niveles de proteína cruda, y elementos energéticos, además de poseer la capacidad de fijación del nitrógeno atmosférico en suelos. Algunas especies del género *Lupinus* (lupino), proveen de una oportunidad para producir forraje de calidad nutricional en estiaje para la alimentación del rumiante (Sotelo, 1983; Bramm., 2005).

2.2. Características morfológicas del género *Lupinus*

Las especies del género *Lupinus* presentan la característica de ser de crecimiento anual o perenne y se encuentran de manera silvestre o cultivada. Las especies silvestres pueden tener una altura variable, sus hojas son simples o compuestas de 7 a 11 folíolos, y son alternadas, segmentadas y con cierta vellosidad. Producen un vástago donde se presentan las flores de diferente color, pueden ser blanca, azul, púrpura, bicolor, magenta, etc. posterior a la floración quedan las vainas conteniendo la semilla que la diferencia (Mc Vaugh, 1987).

2.3 Distribución geográfica

La mayoría de las especies de *Lupinus* crecen en América y sólo 12 de éstas crecen en África y la región del Mediterráneo. No se conocen especies nativas en Asia y Australia. Estas especies se adaptan a diferentes ambientes, ocupa hábitats desde el nivel del mar, a la tundra alpina , arriba de los 4000 m de elevación (Planchuelo, 1996).

2.4 Distribución en México

En México, se conocen alrededor de 100 especies del género *Lupinus* silvestres; se distribuyen desde Baja California a Chiapas a lo largo de las cadenas montañosas, principalmente en bosques de pino y pino-encino (Bermúdez y col. 2000) 15 de estas especies se localizan en el Estado de Jalisco, de las cuales a siete de estas especies de *Lupinus* silvestres de origen Mexicano se han evaluado sus semillas para determinar composición química, valor nutritivo y toxicológico, determinando que son una valiosa fuente de proteína (Cuadro 1). Tal vez si se adiciona metionina, o cereal podría ser utilizada como alimento para animales (Helgadottir, 2002; Jannash y Martin, 1999).

2.5 Utilización de la semilla de *Lupinus*

Las especies del género *Lupinus* intervienen de diversas formas en los sistemas de producción agrícola de diferentes partes del mundo y son utilizados bajo aprovechamientos muy diferentes, principalmente la producción de grano utilizado en la alimentación humana y sobre todo animal, dada la destacable composición del grano tanto en especies cultivadas como en silvestres (Ruíz y Sotelo, 2001)

Cuadro 1. Composición químico-proximal de siete especies de *Lupinus silvestres* Mexicanos (g /100 g MS) de semilla.

	1	2	3	4	5	6	7*
Cenizas	4.20	3.59	3.61	4.01	3.59	3.30	3.51
Lípidos totales	5.79	8.50	7.90	5.50	6.29	8.89	6.80
Fibra cruda	12.91	14.61	16.58	15.11	14.42	12.70	15.4
Proteína cruda (N x 6.25)	45.41	40.50	37.31	42.82	40.70	37.20	41.50
CHOs	31.69	32.80	34.60	32.56	35.00	38.10	32.80

*1.- *L. elegans*, 2.- *L. exaltatus*, 3.- *L. reflexus*, 4.- *L. rotundiflorus*, 5.- *L. simulans*, 6 *L. splendens*, 7.- *L. madrensis*.

Fuente (Ruíz y sotelo, 2001).

2.6 Factores antinutricionales.

Como en todas las leguminosas también en el grano de lupino se encuentran algunas sustancias que limitan el uso directo de la semilla cruda en la alimentación humana y animal (Gross y Von Baer, 1977). Algunos factores antinutritivos que se han encontrado en la semilla de lupinos en cantidades mínimas son inhibidores de la tripsina y saponinas, (Cheeke y Shull, 1995; Trugo y Von Baer 1998; Tremblay , 1997).

En cantidades más importantes están los alcaloides, compuestos nitrogenados no proteicos, la mayoría de ellos derivados quinolizidínicos de variada complejidad, que le confieren el sabor amargo a la semilla, según su concentración (Wink, 1993). En cuanto al papel que cumplen los alcaloides en la planta hay antecedentes que indican que pueden ser importantes para el metabolismo primario o el desarrollo de la planta como regulador u hormona de crecimiento, transportadores de nitrógeno o reserva de nitrógeno ya que se pueden transformar en aminoácidos (Lopez y Fuentes., 1986; von Baer y col., 1997).

2.7 Intoxicación por alcaloides.

Se sabe que los efectos tóxicos están relacionados con una dosis alta de alcaloides ingerida en un período corto, por acción directa de ellos sobre el sistema nervioso central. El cuadro clínico se caracteriza por depresión respiratoria, acción hipotensora, inhibición de la transmisión neuromuscular y fibrilación cardíaca (Merck., 1993). En cuadros agudos se ha observado que disminuye drásticamente el consumo de alimento. Especialmente en animales jóvenes hay una alteración metabólica, que reduce la eficiencia alimenticia (Merck, 1993).

2.8 Métodos para la reducción de alcaloides en las semillas de lupino

2.8.1 Destoxificación de la semilla

Para el aprovechamiento del lupino en el consumo humano, es necesario reducir el contenido de alcaloides hasta niveles inocuos, menores de 0.02% e imperceptibles sensorialmente dado su sabor amargo (Gross, 1982). La reducción de estos tóxicos puede lograrse por dos formas principales: Por selección genética y por procesamiento tecnológico apropiado (Gross, 1982; Gross y von Baer, 1977).

2.8.2 Métodos tecnológicos.

Los alcaloides de las semillas de *Lupinus* amargos, además de reducirse durante el crecimiento de la planta por selección genética, pueden disminuirse por la aplicación de métodos fisicoquímicos, lográndose obtener niveles no tóxicos sobre todo empleando solventes orgánicos e inorgánicos ya que en estos vegetales los alcaloides se presentan principalmente como sales y el resto como bases libres; en esta última forma son solubles en sustancias orgánicas y como sales en solventes de mayor polaridad como el agua. Karara, (1987) desarrolló un procedimiento de desamargado que incluye remojo en ácido acético 0.1N por 2 horas.

La inconveniencia principal de estos métodos a base de solvente es la inespecificidad de los productos químicos empleados, ya que los alcaloides, carbohidratos y aminoácidos, son total o parcialmente solubles en agua, etanol, hexano, éter etílico, éter de petróleo, etc. (De la Cruz, 1980; Gross., 1982).

2.8.3 Extracción con agua

Los métodos de destoxificación de las semillas de lupino que se basan en la solubilidad de los alcaloides en agua presentan variantes particulares, pero debido a la menor polaridad de otros solventes en comparación con el agua, por lo general, la disminución de alcaloides es menor, por lo que se utilizan en combinación con agua para aumentar la efectividad del proceso de extracción.

2.9 Alcaloides

El obstáculo que impide la utilización de los *Lupinus*, amargos es su alto contenido de alcaloides tóxicos, de menor importancia en las especies dulces, pero algunos como el *L. mutabilis* presenta altos porcentajes (2.6 – 4.2%) de estas sustancias (von Baer y col. 1997). Las investigaciones sobre toxicidad de los alcaloides del *L. mutabilis* en diferentes especies animales muestran que los alcaloides aromáticos son los más tóxicos y tienen un efecto teratogénico. (Gross, 1982)

En la semilla amarga del *L. mutabilis* se hallaron solamente 0.03% del alcaloide aromático anagirina, lo que no representa peligro alguno desde el punto de vista toxicológico, considerando que en el proceso de desamargado se elimina un 99% de los alcaloides. Además, a medida que aumenta el grado de oxidación, disminuye la toxicidad del alcaloide.

El efecto tóxico de los alcaloides es considerablemente inferior si se ingieren oralmente que si se aplican por vía intravenosa. Esto debido a la baja absorción de los alcaloides que son eliminados en un 95% con los excrementos. Los alcaloides que entran en el flujo sanguíneo son descompuestos y destoxificados por el hígado, sin ser acumulativo (Gross, 1982).

2.10 Utilización del forraje de *Lupinus*.

Aunque las especies de *Lupinus* son buena fuente de proteína, la relación nitrógeno:azufre (N:S) puede ser amplia y causar deficiencias en aminoácidos. Por tanto la producción de proteína microbiana puede verse reducida y así la proteína que el animal recibirá a nivel intestinal carecerá de aquellos aminoácidos azufrados esenciales como metionina y cistina necesarios para desarrollo muscular. En este sentido, se recomienda la utilización de hasta 200 gramos de semilla de *L. albus* en la alimentación diaria de borregos explotados en forma extensiva, e incrementar la cantidad de grano al disminuir la calidad del forraje que consumen (Anónimo, 2003; Fychan, 2000; Fychan, 2002). Por otro lado la parte vegetativa restante tiene características nutricionales que potencialmente pueden servir de nutrimentos (Cuadro 2) a los animales que posean la capacidad de utilización de componentes estructurales como son los rumiantes (Milton y Paterson, 2002).

Los datos sugieren que el forraje de *Lupinus* no aportaría un beneficio nitrogenado neto si se le retira la semilla, pero necesitaría menos fertilización nitrogenada que los cultivos tradicionales a los cuales se les aplica 120 libras de N por acre (Anónimo 2003; Cassman, 1990), sin embargo, puede haber un beneficio económico implícito al cultivo de forraje de *Lupinus* que puede representar una alternativa de insumo alimenticio cuando es conservado como ensilado para época de estiaje.

Cuadro 2. Características de algunos residuos de cosecha empleados en la alimentación de rumiantes.

Forraje	MS (%)	EM (Mj/kg MS)	PC (%)	ADF (%)
Avena	89	6.0-7.7	4.0-6.5	38-45
Cebada	89	6.0-7.5	4.0-6.5	38-47
Trigo	91	5.8-7.0	2.5-6.5	43-52
Triticale	89	5.5-7.0	2.5-6.0	44-52
Lupino	92	5.5-9.5	6.0-10.0	36-44
Chicharo	90	6.5-7.8	6.0-8.5	38-44
Canola	92	5.5-7.5	4.0-7.5	42-50
Sorgo	88	5.5-7.0	3.5-6.0	45-54

MS = materia seca, EM = energía metabolizable, PC = proteína cruda (N x 6.25), ADF = fibra detergente ácido. Fuente: Milton y Paterson (2002).

1Cal= 4,186 j

2.11 Producción forrajera de especies silvestres Mexicanas

En estudios realizados con follaje de *Lupinus* de las especies silvestres de origen mexicano *L. rotundiflorus* y *L. exaltatus*, indican que el forraje a los 90 días posee contenido de 17% de proteína cruda en base materia seca. Además ambas especies de *Lupinus* pueden llegar a producir en promedio 15 toneladas de forraje seco/ha, lo cual hace de la planta un recurso interesante como cultivo alternativo sobre todo para la alimentación de rumiantes (Galindo y col., 2003).

Por tanto su posible utilización como forraje alternativo pudiera conservarse para su posterior empleo mediante procesos que permitan conservar las características nutricionales que se le han reconocido en varios estudios, como el henificado o ensilaje. Sobre todo para aprovechar los recursos nativos con que cuentan los ecosistemas donde se desarrolla el proceso productivo.

2.12 Ensilaje de *Lupinus*

El proceso de ensilaje consiste en la conservación de forrajes u otros recurso forrajero que posea elevado contenido en humedad, colocándolo en reservorios especiales denominados silos, al abrigo del aire, la luz y la humedad exterior (Cañeque, 1998). Se recomienda llenar y cerrar rápidamente el silo para reducir la respiración celular de la planta, ocasionando que el aire aprisionado en el interior del silo sea desprovisto de su oxígeno en menos de 12 horas, lo que permitirá una fermentación adecuada que favorezca el mantenimiento de las características nutricionales de la planta (Galindo y col., 2003). Martins y col. (2005b), encontraron en ensilado de *Lupinus albus* tratado con inóculo y condensado de taninos, valores de proteína cruda de 19.6%, M.S de 18.9%, FDN de 49.4%, y FDA de 38 %.

Se han realizado estudios conducentes a evaluar la capacidad del forraje de *L. albus* (*Lupinus dulce*) para ser ensilado y compararlo con el tradicional forraje de maíz. Los autores (Kochapakdee y col., 1997; Prithiviraj y col. 2000) encontraron que puede potencialmente el ensilado de *L. albus* sustituir al de maíz cuando es empleado en producción de vacas lecheras (Cuadro 3) sin afectar los parámetros productivos, sanguíneos o la calidad de la leche producida.

Martins (2005a) en otro estudio tendiente a evaluar la posibilidad de conservación del forraje de *L. albus* como ensilado comparativamente con el henificado, reportó valores de proteína que variaban de 16-20% de base seca (Cuadro 4). Lo anterior muestra la posibilidad de conservación que tienen los compuestos proteicos del forraje de lupino mediante el proceso de ensilaje como alternativa para su posterior empleo en la alimentación animal, sobre todo en los rumiantes.

Estas características químico nutricionales dan una clara idea del potencial de utilización de este forraje en forma de ensilado para su posterior utilización como fuente proteica en época de estiaje. Sin embargo, es necesario que se determine en forma directa como reaccionaría el forraje alternativo, sobre todo en aquellos de producción nativa (o amargas), cuando son conservados en húmedo para su posterior utilización en animales y así ser considerado como recurso forrajero alternativo.

Algunas especies de lupino nativas (o amargas) por su contenido de nutrimentos, representan atractivas oportunidades para su conservación en forma de insumo húmedo. Sobre todo, por que durante el proceso de ensilaje existe un lixiviado de compuestos lo que posiblemente reduzca la carga de factores antinutricionales que pudiera contener el forraje.

Cuadro 3. Efecto de la fuente de ensilado en producción de ganado lechero.

Ensilado	Consumo	Leche	Grasa	Proteína	BUN
	*Lb MS/día	Lb/día	(%)	(%)	mg/dL
Maíz					
templado	49.9a	67.8a	3.5a	2.9ab	19.7ab
tropical	43.6b	59.0b	3.8b	3.0b	18.6a
Millet	37.8b	57.9b	3.7ab	2.8a	21.1b
<i>Lupinus albus</i>	43.1b	62.7ab	3.6ab	2.9ab	18.4a

BUN = nitrógeno ureico sanguíneo. Promedio con diferente literal son diferentes estadísticamente ($P < 0.05$). Fuente: Kochapakdee y col. (1997).

*Lb a Kg. = No. Lb/2,2046 o multiplicar por 0.4536.

Cuadro 4. Características nutricionales de Lupino conservado en seco y húmedo.

Análisis	Variedad	Seco (%)	Ensilado (%)
FDN	<i>L. Albus</i>	47.80	43.90
FDA	<i>L. Albus</i>	5.78	5.10
PC	<i>L. Albus</i>	19.90	16.70

Fuente: Martins (2005a).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En el territorio de Jalisco existen diversas leguminosas nativas cuyo forraje presenta un potencial para ser empleadas en la alimentación de pequeños rumiantes. Sin embargo, una de ellas el *Lupinus*, posee alcaloides que pudieran afectar la salud del animal que la consume. El proceso de ensilaje tiene como fin preservar diversos tipos de materia orgánica mediante la fermentación anaerobia. Por lo tanto, someter a ensilaje el forraje de lupino reducirá los factores anti-nutricionales que éste contenga, conservando su valor nutritivo para ser empleado cuando sea necesario en la alimentación de pequeños rumiantes.

4. JUSTIFICACIÓN.

El daño ecológico que representa la deforestación, obliga a conocer, conservar, promover y utilizar especies vegetales nativas que permitan su explotación sustentable. Las leguminosas del género *Lupinus* pueden ser una fuente de nutrimentos, en especial de compuestos nitrogenados como son las proteínas. Los *Lupinus* por sus características de crecimiento, disponibilidad y abundancia, así como sus propiedades químico nutricionales le permiten ser susceptible para utilizarse como ingrediente en la alimentación animal. Sin embargo, poseen factores anti-nutricionales como los alcaloides que pueden afectar la salud del animal. El presente trabajo tiene como objetivo determinar si mediante el ensilaje, es posible conservar sus características nutricionales, además de observar el comportamiento de los alcaloides de dos especies de *Lupinus* antes y después de someterlo a este proceso de fermentación.

5. HIPÓTESIS

La reducción de factores antinutricionales mediante hidrólisis mejora el consumo de nutrimentos del ingrediente como la semilla de lupino, además durante el ensilaje de algunos forrajes se genera un lixiviado lo que pudiera reducir el contenido de los alcaloides además de conservar los nutrimentos presentes en la planta, lo que permitirá sea un ingrediente alternativo en la alimentación de pequeños rumiantes.

6. OBJETIVOS

GENERAL

Conocer la calidad nutricional y nivel de alcaloides de *Lupinus rotundiflorus* y *Lupinus exaltatus* en dos tiempos de corte (90 y 180 días) sometido al proceso de ensilaje.

PARTICULARES

1. Determinar la calidad químico-nutricional del ensilado de *Lupinus exaltatus* y *Lupinus rotundiflorus* a los 90 y a los 180 días de tiempo al corte.
2. Evaluar el contenido de alcaloides del forraje de *Lupinus* con la conservación como ensilado.

7. MATERIAL Y MÉTODOS.

Se procedió a la siembra de semillas de dos especies de lupino; *L. rotundiflorus* y *L. exaltatus*, la cual se realizó en la localidad de Nextipac, municipio de Zapopan, Jalisco, México, en las coordenadas extremas de 20°25'30'' a 20°57'00'' de latitud norte y 103°19'30'' a 103°39'20'' de longitud oeste, a una altura de 1,548 metros sobre el nivel del mar.

El clima del municipio es templado, semiseco con invierno y primavera secos, y semi-cálidos con invierno benigno. Al Norte y Sur, es semi-seco con invierno y primavera secos, y semi-cálido. Tiene una temperatura media anual de 23.5°C, y una precipitación media anual de 906.1 milímetros de lluvia en los meses de junio a octubre. Los vientos dominantes son con dirección este, el promedio de días con heladas al año es de 5.12. Los suelos dominantes pertenecen al tipo regosol-eútrico y feozem- háplico y, como suelo asociado, el luvisol- crómico.

Se utilizaron dos especies silvestres de *Lupinus*, obtenidas de la sierra de Tapalpa, Jalisco (*rotundiflorus*) y en las faldas del volcán de Colima, (*exaltatus*). Las semillas se escarificaron por escaldamiento con agua caliente a una temperatura de 70° C por 5 minutos antes de ser sembradas en una extensión de terreno de 12 x 30 m, el cual se dividió en dos parcelas de 15 x 12 m. Una para recolección de material en verde y semilla, y la otra para hacer bloques al azar de *Lupinus exaltatus* y *Lupinus rotundiflorus* con la finalidad de conocer las características agronómicas del vegetal. Se realizó un riego rodado, cada tercer día.

Se obtuvo material vegetativo mediante corte manual a los 90 y 180 días de edad. La planta en verde se procesó en una picadora estacionaria de cuchillas marca Azteca aplicando una velocidad de 2,800 rpm para lograr reducir el tamaño nominal de la partícula a 25 mm.

El forraje resultante del proceso anterior se depositó (1000 g) en sesenta bolsas de polietileno negro (6 mm de espesor), a las cuales se les aplicó presión con la finalidad de extraer el exceso de aire presente entre las partículas del vegetal. Posteriormente cuarenta y seis de las bolsas se cerraron herméticamente para favorecer la fermentación anaeróbica (microsilos) y 12 se utilizaron como testigo (tiempo 0) que consistieron en 3 bolsas de cada especie de ambos cortes (3 x 2 x 2). No se empleó aditivo (como la adición de azúcares o coadyuvante alguno).

A los 10, 20, 30 y 40 días de haber sido colocados en la bolsa para su conservación (ensilaje) se procedió a abrir 3 bolsas al azar para aquellas que contenían *L. rotundiflorus* y 3 bolsas con *L. exaltatus*, correspondiente a cada edad de corte (3 x 2 x 4 x 2). Al momento de la apertura del microsilos, al material ensilado se le determinó el peso total y pH, tomando además muestras para su posterior análisis laboratorial.

A muestras representativas del material fresco y del ensilado se les realizó la determinación, por triplicado, de: materia seca (MS) en estufa a 70°C por 72 h, humedad, nitrógeno soluble y amoniacal (N-NH₃), proteína cruda [PC, método de Kjeldhal; N x 6.25 (AOAC 1990; Tejada 1985)], fibra detergente neutro (FDN) y fibra detergente ácido [FDA (Van Soest, 1967)]. Dichos análisis se efectuaron en el Laboratorio de Nutrición Animal del Departamento de Producción Animal.

Extracción y análisis de alcaloides

La extracción de alcaloides a partir de muestras de forraje sin ensilar y ensilado de *Lupinus* se realizó mediante el método de Harris y Wilson (1988) y Przybylak (2005), con la siguiente rutina:

Se utilizaron 0.5 g de muestra, la cual se colocó en un tubo de ensayo, posteriormente se le agregó 5 mL de ácido tricloroacético al 5% (TCA) y después se colocó dentro de un sonicador (Snorex Super AK 103H) durante 15 minutos. En seguida de la sonicación, el tubo y su contenido se centrifugaron a 4000 rpm durante 5 minutos, el sobrenadante se decantó en un matraz de separación de 125 mL, donde se les agregó 1 mL de NaOH 10 M.

A la anterior mezcla se le adicionó 15 mL de diclorometano (DCM) y se agitó durante 5 minutos permitiendo escapar los vapores dentro de una campana de extracción. Posteriormente el precipitado se recuperó y se colocó en un matraz redondo de 120 mL. Con excepción de la adición del NaOH, todos los pasos anteriores se repitieron tres veces, recuperando los precipitados en cada ocasión. Cuando se obtuvieron los tres precipitados éstos se colocaron en un rotovaporizador hasta recuperar todo el DCM.

Al extracto se le agregó 2 mL de metanol y luego se recolectó 1 mL en un tubo de ensayo, el cual se colocó en un termoblock donde se vaporizó con nitrógeno, al residuo se le adicionó 1 mL de metanol. De éste último se obtuvieron 100 μ L, del cual solo se tomó 1 μ L para su inyección en el cromatógrafo de gases (Varian, modelo CP-3800). La determinación de alcaloides (Figura 1) se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del Departamento de Botánica del CUCBA, de la Universidad de Guadalajara.

Los datos analíticos obtenidos de cada especie de lupino, edad y tiempo de conservación se sometieron a análisis de varianza para un modelo aleatorizado con medidas repetidas en el tiempo, fijando para declarar diferencias estadísticas un alfa 0.05. En los casos donde existió diferencias entre los tratamientos, los promedios se separaron mediante la prueba de comparación de promedios de Duncan.

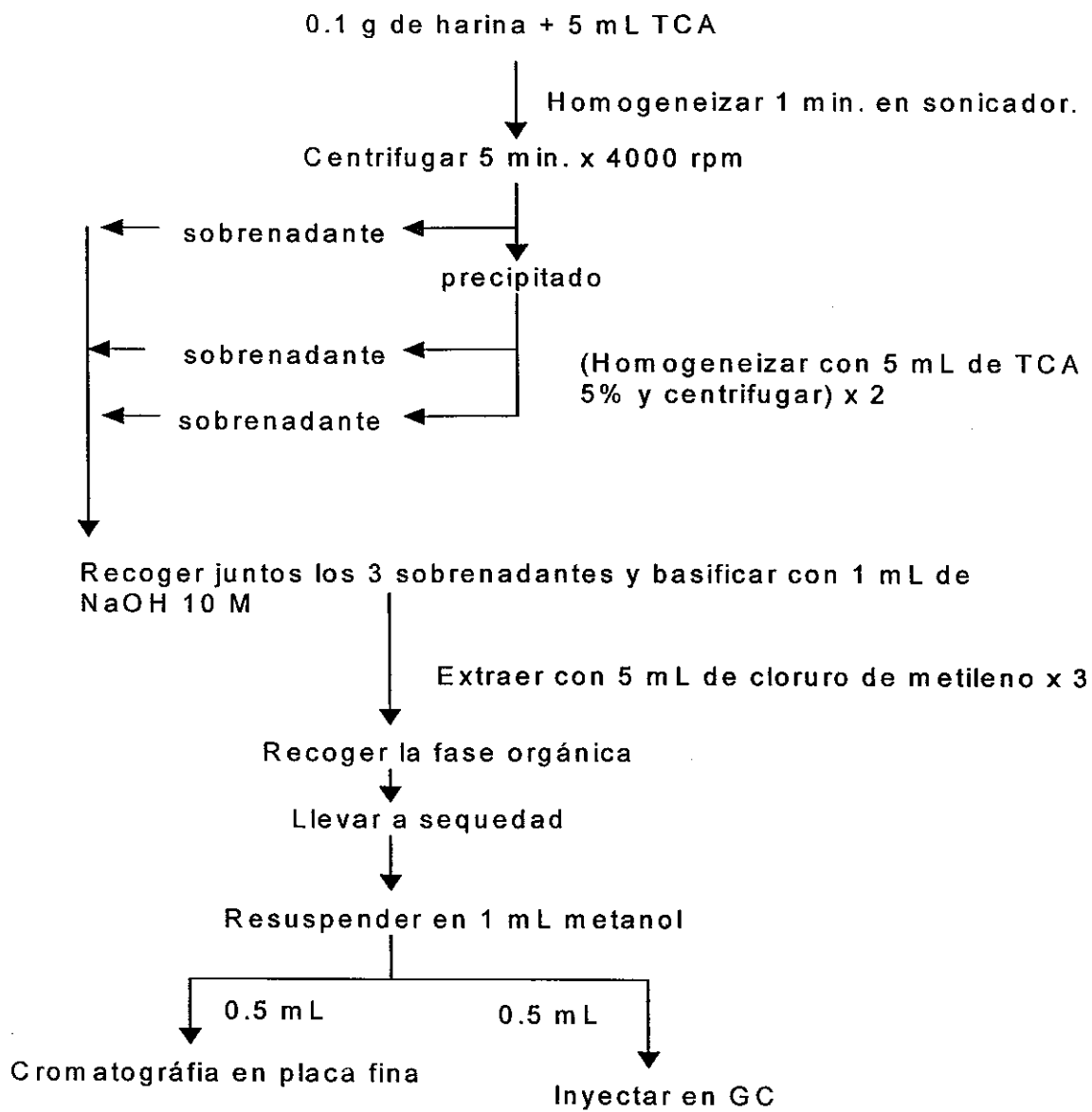


Figura 1. Proceso de determinación de alcaloides.

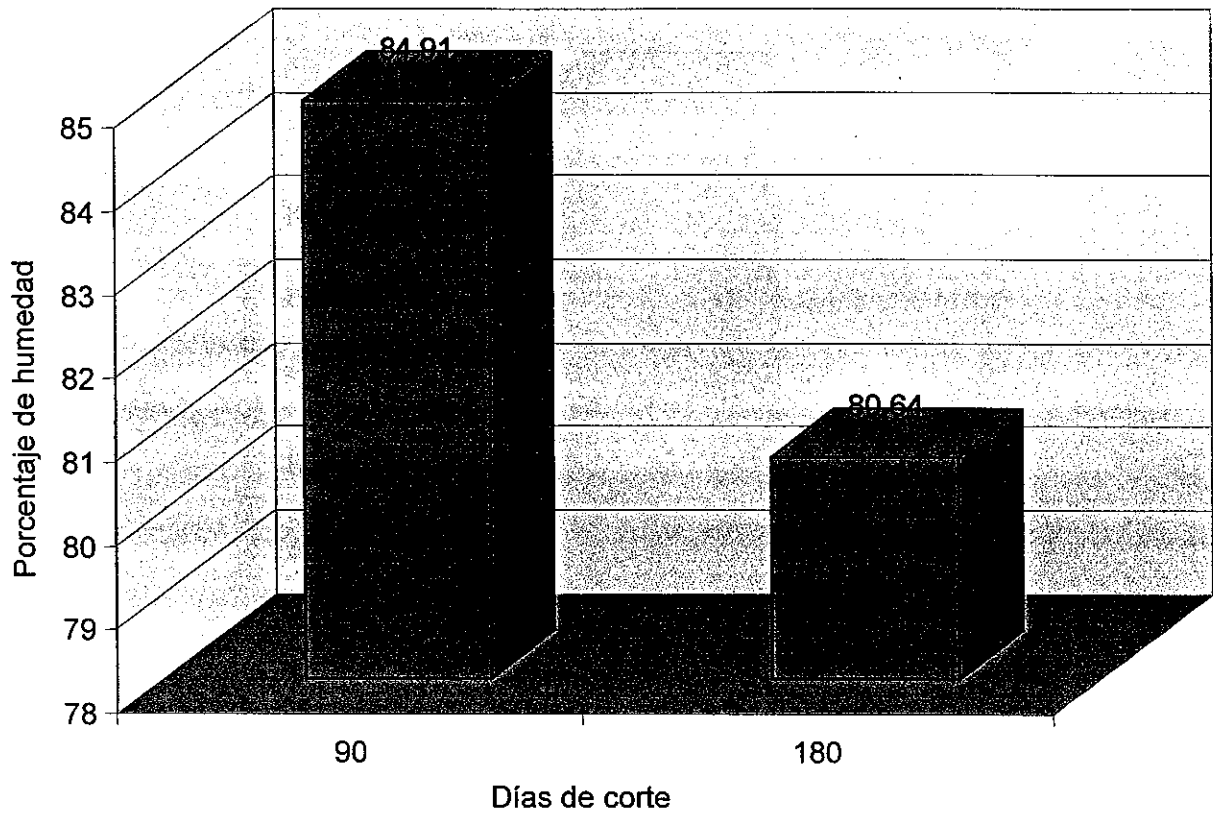
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

El contenido de humedad en el ensilado de Lupino promedió 82.63%, concordando con lo reportado por Martins (2005b) quien obtuvo valores de 81.1% de humedad en ensilado de *L. albus* y lo que se reporta en ensilados de alfalfa SARH (1990) de 78.76%. Sin embargo ésta fracción no mostró diferencias significativas a nivel estadístico ($P > 0.05$) en relación con el tiempo de fermentación durante el almacenamiento, y se observaron valores menores en el *L. exaltatus* comparado con el *L. rotundiflorus* (82.3 contra 83.2%, respectivamente).

El parámetro humedad (%) mostró diferencias en sus valores con respecto al tiempo de corte de la planta ($P < 0.05$; Gráfica 1), también se encontró efecto de la interacción especie de lupino y el tiempo al cual fue cortado el forraje sobre la humedad del ensilado ($P < 0.05$; Cuadro 5). La falta de diferencia en el contenido de humedad del ensilado por la especie de lupino pudiera obedecer al simple hecho que ambos forrajes fueron cosechados en condiciones medioambientales similares, lo que evita alteraciones unilaterales.

Por otro lado, cuando la planta avanza en su madurez el contenido de espacios que pudieran almacenar humedad se reduce por el aumento de la lignificación y cuando la planta es joven posee un metabolismo más activo que requiere agua. El pH del ensilado promedió 5.5 en lo general, sin verse afectado por la especie del lupino almacenada ($P > 0.05$). Los valores de pH encontrados en ensilado de lupino mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto a los días de fermentación en el silo, con una tendencia a aumentar conforme el tiempo de almacenado. Se observó además que al aumentar la edad de corte, disminuyó el pH ($P < 0.05$; 5.84 vs. 5.05 para 90 y 180 días respectivamente). Se observó una interacción entre la especie de forraje y tiempo de corte ($P < 0.05$) (Cuadro 5).

Gráfica 1. Contenido de humedad en el ensilado de Lupino con dos edades de corte.



Cuadro 5. Contenido de Humedad, Materia Seca y pH de forraje de dos especies de lupino a dos tiempos de corte durante la conservación.

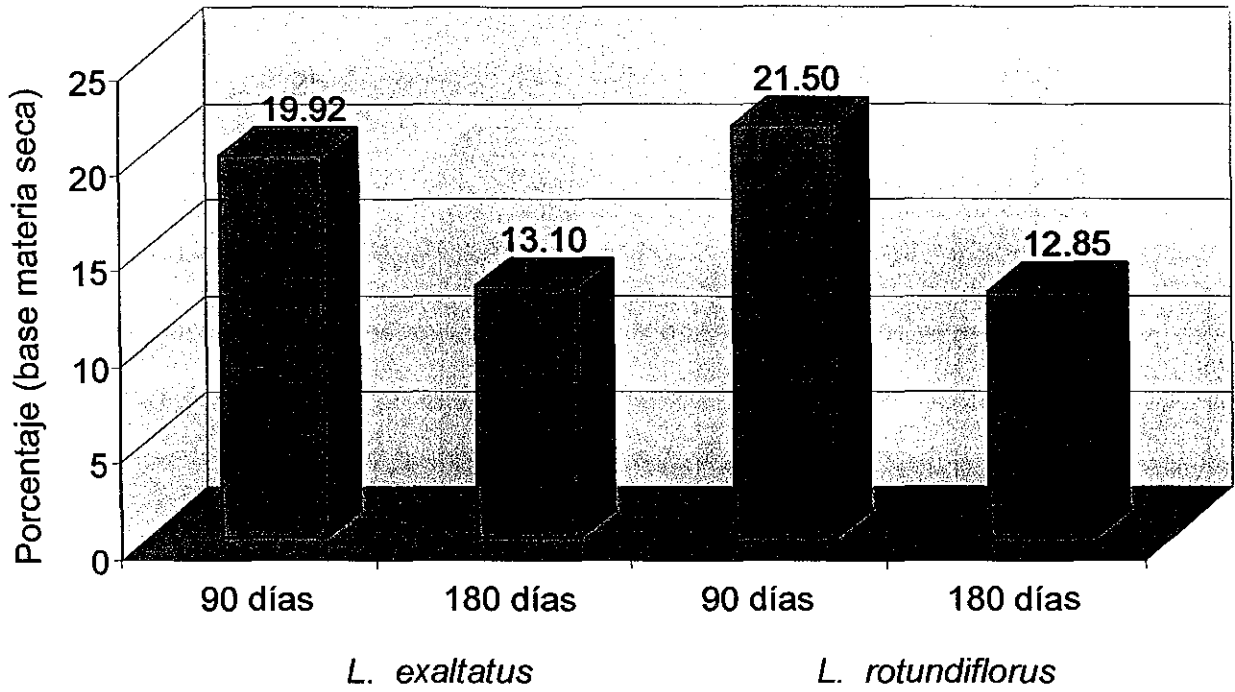
Lupino	Tiempo de corte	Días	Humedad %	MS %	pH
<i>L. exaltatus</i>	90	0	88.53	11.88	6.00
	90	10	79.71	20.29	5.84
	90	20	85.53	14.47	5.30
	90	30	84.90	15.05	5.78
	90	40	81.50	19.00	5.83
	180	0	78.41	21.59	6.00
	180	10	81.60	18.40	4.45
	180	20	79.42	20.58	5.41
	180	30	82.33	17.68	4.41
	180	40	80.14	19.86	5.40
<i>L. rotundiflorus</i>	90	0	87.53	12.47	6.98
	90	10	83.53	16.47	5.00
	90	20	86.08	13.92	5.90
	90	30	85.28	14.72	5.88
	90	40	84.72	15.28	5.88
	180	0	79.94	20.06	6.00
	180	10	81.20	18.80	4.57
	180	20	80.05	19.95	5.29
	180	30	82.19	17.81	5.44
	180	40	82.25	17.76	5.00

Kochapakdee y col., (1997) y Messman y col., (1994) reportaron valores cercanos a los encontrados en el presente estudio para lupino dulce almacenado en forma de ensilado. Por otro lado, según Cañequé y Sancha (1998) el patrón de disminución del pH de las gramíneas muestra que la utilización de los glúcidos disminuye a medida que el medio se acidifica, generando un descenso en el parámetro. Además dicha disminución garantiza en las gramíneas la baja en la proteólisis, lo que disminuye en el nitrógeno en forma soluble y amoniacal.

Dicho comportamiento no obedece cuando se trata de leguminosas con poco contenido de glúcidos, los que provoca que el pH sea mayor en estas, así como el contenido de nitrógeno soluble, nitrógeno amoniacal, y ácidos grasos relacionados con la proteólisis. El comportamiento observado en el pH, proteína, nitrógeno total y amoniacal en el ensilado de lupino del presente estudio tiende a ser clásico de una leguminosa, aunque comercialmente se emplean aditivos para reducir el efecto negativo antes mencionado, tal como lo reporta Martins en su estudio (2005b).

El porcentaje de proteína cruda ($N \times 6.25$) en el forraje ensilado promedió 17.63%, el cual varió de manera significativa ($P < 0.05$) en relación con los días de fermentación en el silo. Así mismo, se observó que el contenido de proteína era mayor cuando el forraje se cortó a los 90 días comparativamente con el que lo fue a los 180 días ($P < 0.05$; 20.7 vs. 13%, respectivamente), así como con la especie de lupino ($P < 0.05$; 16.5 vs. 17.3%, para *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus*; respectivamente). Además se observó un efecto significativo de la interacción del tiempo de corte con respecto a la especie de lupino sobre el contenido de proteína cruda ($P < 0.05$; Gráfica 2) (Cuadro 6).

Gráfica 2. Contenido de proteína cruda del ensilado de lupino.



Cuadro 6. Contenido de compuestos nitrogenados del forraje de lupino con dos tiempos de corte y en conservación.

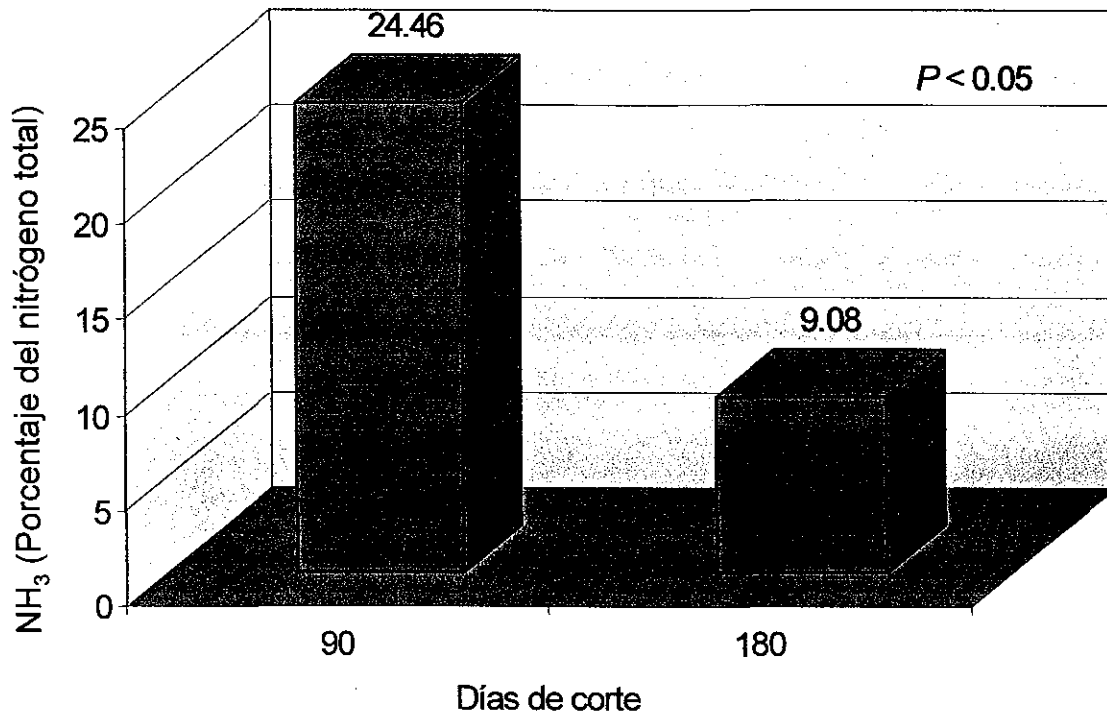
Lupino	Tiempo de corte	Días de conservación	NH ₃ , % de NT	ProtSol, % de Nt	PC, %
<i>L. exaltatus</i>	90	0	0.00	2.81	28.79
	90	10	15.46	1.81	18.79
	90	20	24.41	1.01	16.14
	90	30	17.21	1.57	19.79
	90	40	19.41	1.58	16.09
	180	0	0.00	2.00	19.22
	180	10	12.69	0.89	13.05
	180	20	16.98	0.37	9.77
	180	30	14.02	1.43	18.00
	180	40	14.43	1.15	13.97
<i>L. rotundiflorus</i>	90	0	0.00	2.49	25.19
	90	10	31.91	2.07	23.54
	90	20	34.42	1.58	20.67
	90	30	42.21	1.69	19.50
	90	40	39.58	1.80	19.86
	180	0	0.00	1.30	15.36
	180	10	10.35	1.24	15.91
	180	20	15.93	0.57	10.75
	180	30	23.97	0.65	10.39
	180	40	14.90	0.46	9.98

La diferencia en el contenido de proteína con la edad al corte se debe a que a mayor edad de la planta requiere de nutrimentos para lograr una mayor lignificación y aumenta la fibra cruda en demérito del nitrógeno. Por otro lado, al tomar en cuenta el tiempo de conservación en el microsilo se observó una disminución en el contenido de proteína cruda, dicha diferencia pudiera deberse a que existe una liberación de nitrógeno no protéico en forma de amoniaco que se volatiliza, el cual es producto de la actividad metabólica de la microbiota, la que se favorece con la fermentación de los glúcidos, sobre todo los solubles presentes en el material vegetal.

Estos resultados encontrados en el presente experimento concuerdan con lo reportado por Martins (2005b) siendo en ese caso de 19.6% y por SARH (1990) con contenidos de 19.37% lo que nos da una clara idea del potencial que tiene la planta como fuente de proteína. Por otro lado, la concentración de nitrógeno en forma de porción soluble (porcentaje del nitrógeno total) encontrado en el material conservado, varió con el tiempo de fermentación al que fue sometido el forraje ($P < 0.05$, Cuadro 6), pero no cambió con los días a los cuales fue cortado el forraje ($P > 0.05$; 15 y 16% para los 90 y 180 días, respectivamente), ni con la especie de lupino evaluada ($P > 0.05$; 15.22 y 15.94% en *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus*, respectivamente). Comparando con los valores encontrados por Martins (2005b) de 18.3%. Sin embargo, el presente estudio mostró una interacción de la especie con el tiempo de corte ($P < 0.05$) (Cuadro 6).

También el contenido de nitrógeno amoniacal (N-NH₃, porcentaje del nitrógeno total) mostró diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los días de fermentación. Pero, no se encontraron diferencia en el mismo entre las dos especies estudiadas ($P > 0.05$), sin embargo, se observó diferencia entre los días de edad al corte siendo 24.45% a los 90 días y 9.08% a los 180 días ($P < 0.05$) (Gráfica 3, Cuadro 6). Se observó además que existió efecto significativo de la interacción entre la edad de corte y la especie de lupino ($P < 0.05$).

Gráfica 3. Contenido de nitrógeno amoniacal (% del N total) en el ensilado de Lupino



La anterior observación al igual que la cantidad de nitrógeno soluble pudiera obedecer a un comportamiento normal en el proceso de ensilaje de otras leguminosas que permite la transformación del nitrógeno presente en la planta por fermentación bacteriana en $N-NH_3$, sobre todo cuando se almacenan leguminosas con la finalidad de su posterior utilización. Carruthers y col. (1998, 2000ab), Kochapakde y col. (1997) y Messman y col. (1994) reportaron el mismo fenómeno al momento de abrir el ensilado de varias leguminosas, incluyendo el forraje de lupino dulce. Martins (2005b) reporta 23.7 % en ensilado de *L. albus*; similar a lo encontrado durante el corte de 90 días en este trabajo.

Pero al tratar de localizar literatura concerniente al mismo fenómeno pero con leguminosas nativas no fue posible comparar los resultados encontrados en el presente estudio con otros experimentos que hayan realizado la evaluación de forrajes del mismo género, específicamente en especies nativas como las que se emplearon.

Sin embargo, los reportes publicados sobre la conservación en húmedo de leguminosas de lupino solo muestra los datos observados en aquellas especies cultivadas que se emplean para obtención de semillas como el *L. albus*, Martins (2005b), no de las nativas como las evaluadas en el presente experimento. Por tanto, es difícil comparar el comportamiento de ellas con las encontradas en el entorno de las explotaciones de la región donde crece normalmente la planta.

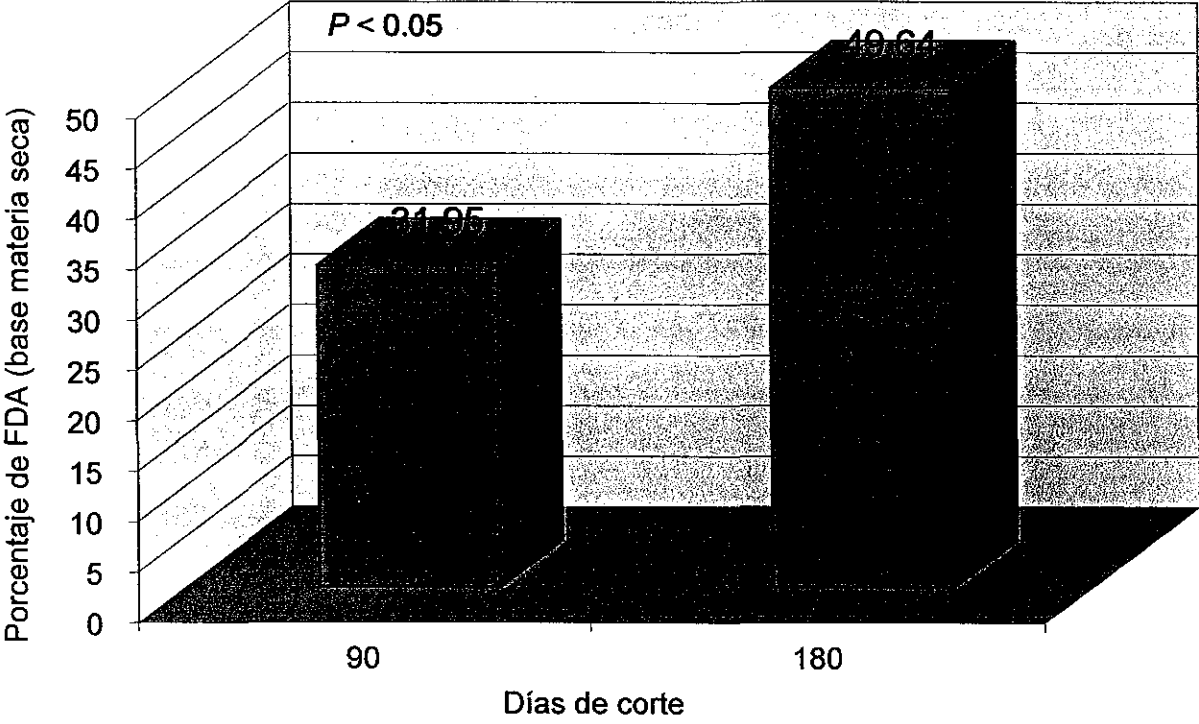
En el presente estudio, se observó que la concentración fibra detergente ácida presentó diferencia ($P < 0.05$) tanto en el tiempo de corte siendo mayor con la planta de 180 días (31.95% 90 días y 49.04% para 180 días) (Gráfica 4; Cuadro 7), así como con los días de fermentación del forraje de lupino. Existió una interacción significativa entre la edad de corte y la especie de lupino ($P < 0.05$). Martins (2005b) encontró valores de 38% de FDA utilizando ensilado de *L. albus*, similares a los encontrados en el tiempo de 90 días de corte.

Los valores del contenido de paredes celulares (FDN) encontrados durante el análisis del forraje conservado no mostraron diferencias estadísticas ($P > 0.05$) con respecto a los días de fermentación, ni con la especie forrajera estudiada. Sin embargo, con los 180 días de edad de corte se encontró una concentración más elevada ($P < 0.05$). (66.86 %) que a los 90 días (45.3%), similar a lo encontrado por Martins (2005b) de 49.4% y por Martins (2005 a) con 43.9 % de FDN en ensilados de *L. albus*. De igual manera, se encontró efecto de la interacción entre tiempo de corte y especie de forraje sobre el contenido de paredes celulares ($P < 0.05$; Gráfica 5; Cuadro 7).

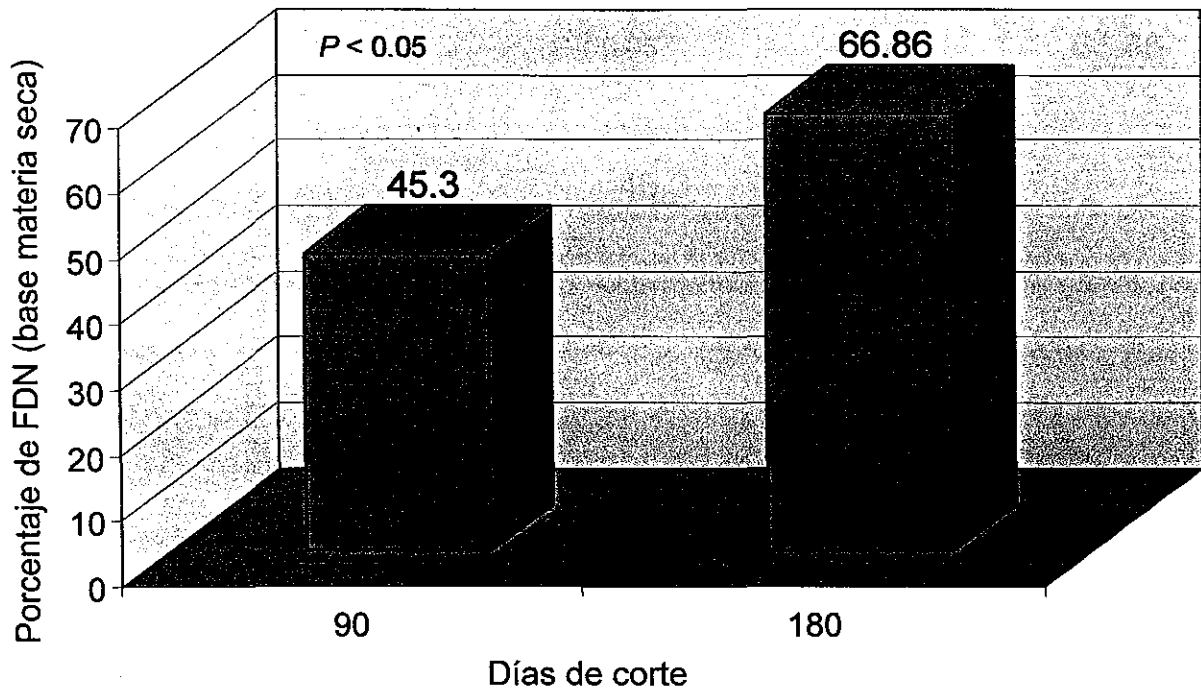
El contenido de lupanina como representativo de los alcaloides presentes en el género *Lupinus* promedió 69.67 (mg/mL). Dicha variable no cambio con el tiempo de conservación en los microsilos, aunque la tendencia numérica presentó una disminución respecto a los días ($P > 0.05$). Por otro lado, la edad de corte afectó la concentración de lupanina, mostrando una mayor concentración a edad temprana (98.7 vs. 25.3 mg/mL para los 90 y 180 días, respectivamente).

La interacción entre tiempo de corte y especie de forraje mostraron un efecto estadístico sobre el contenido de lupanina en el ensilado de lupino ($P < 0.05$). Dicha observación no fue así cuando se midió el efecto del tiempo de fermentación y especie evaluada ($P < 0.05$; Gráfica 6; Cuadro 8).

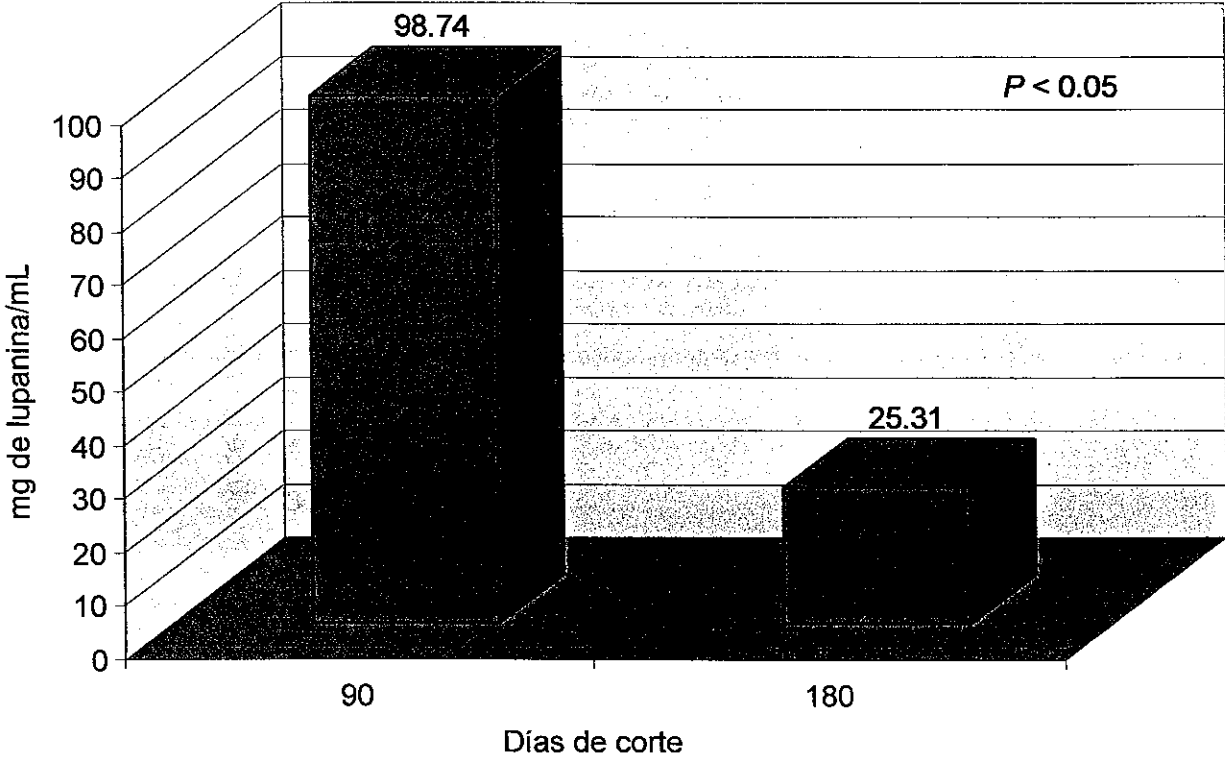
Gráfica 4. Contenido de FDA en ensilado de lupino con dos tiempos de corte.



Gráfica 5. Contenido de FDN en ensilado de lupino con dos tiempos de corte.



Gráfica 6. Contenido de lupanina en ensilado de lupino a dos tiempos de corte



Cuadro 7. Contenido de Fibra Detergente Neutro (FDN) y Fibra Detergente Ácido (FDA) en forraje de Lupino con dos tiempos de corte y en conservación.

Lupino	Tiempo de corte	Días	FDA %	FDN %
<i>L. exaltatus</i>	90	0	21.73	44.86
	90	10	31.76	43.24
	90	20	49.06	5.77
	90	30	32.71	44.15
	90	40	37.49	52.91
	180	0	33.68	57.84
	180	10	54.38	69.17
	180	20	51.50	65.19
	180	30	53.03	70.00
	180	40	52.48	72.00
<i>L. rotundiflorus.</i>	90	0	29.06	45.77
	90	10	26.47	40.22
	90	20	30.30	41.49
	90	30	31.92	42.71
	90	40	54.60	44.80
	180	0	32.56	59.93
	180	10	53.60	69.16
	180	20	56.30	70.33
	180	30	53.66	70.45
	180	40	55.25	69.06

Cuadro 8. Contenido de Alcaloides (Lupanina) en forraje de lupino a diferentes tiempos de corte y en conservación.

Lupino	Tiempo de corte	Días de conservación	Lupanina (mg/mL)
<i>L. exaltatus</i>	90	0	159.84
	90	10	136.03
	90	20	55.21
	90	30	67.84
	90	40	40.11
	180	0	24.83
	180	10	4.88
	180	20	15.39
	180	30	10.58
	180	40	15.94
<i>L. rotundiflorus</i>	90	0	169.95
	90	10	124.47
	90	20	72.90
	90	30	96.00
	90	40	49.55
	180	0	24.30
	180	10	18.79
	180	20	4.88
	180	30	5.01
	180	40	8.34

9. CONCLUSIONES

- El ensilaje de forraje de lupino puede ser empleado para almacenar fuente de proteína y energía para su posterior empleo como insumo alimenticio en la alimentación de rumiantes.
- Los resultados muestran que la calidad nutricional puede ser considerada como adecuada cuando el forraje tiene 180 días de edad, sin embargo aumenta la cantidad de paredes celulares.
- El ensilado de lupino independientemente de la especie conservada presenta tendencia a la disminución de la concentración de lupanina. por efecto de el tiempo de corte y días de fermentación..

BIBLIOGRAFÍA

- Anónimo. 2003. Lupin agronomy. www.soya_and_lupins.uk.htm. Accesado el 20 de octubre 2005.
- AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15 ed. Assoc. of Official Analytical Chemist International.
- Bermúdez T., K., Robledo Q., N., Martínez H., J., Andreas, T. y M. Wink. 2000. Biodiversity of the genus *Lupinus* in Mexico. Proc. 9th international Lupin Conference. Van Santen, E., Wink, M., Weissmann, S. y Römer, P (eds.). Klink/Müritz, Alemania. Pág. 294-296.
- Bramm, A. 2005. Investigation of alternatives for the production of forage protein. 11 International Lupin Conference. Guadalajara Mexico 4-9 mayo. Pág. 142
- Cañeque, M.V. y S.J.L. Sancha. 1998. Ensilado de forrajes y su empleo en la alimentación de rumiantes. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Carruthers, K., Cloutier D.C., Coulman B.E. y D.L. Smith. 1998. Intercropping corn with soybean, lupin, and forages: weed control by intercrops combined with interrow cultivation. Eur. J. Agron., 8:225-238.
- Carruthers, K, Prithiviraj, B., Fe, Q., Cloutier, D., Martin, R.C. y D.L. Smith. 2000a. Intercropping corn with soybean, lupin, and forages: yield component responses. Eur. J. Agron. 12:102-115.
- Carruthers, K., Prithiviraj, B., Fe, Q., Cloutier, D., Martin, R.C. y D.L. Smith. 2000b. Intercropping of corn with soybean, lupin and forages: Silage yield and quality. J. Agron. Crop Sci. 185:177-186.
- Cassman, K.G. 1990. Lupin as rotational crop-87. California rice research board report.
- Cheeke, R.P. y R. L. Shull. 1995. Natural toxicants in feeds and poisonous plants. AVI inc. USA. Pág. 127-130.

- De la Cruz, F.J. 1980. Experimental research into lupine debittering technology. En: Agricultural and Nutritional aspects of lupines (Gross, R. y E. S. Bunting) Pág. 291-317. German Agency for the technical cooperation.
- Fychan, R. 2000. The potential of spring sown lupins for whole crop and grain production. <http://www.royagcol.ac.uk>. Accesado el 20 de enero 2004.
- Fychan, R. 2002. Evaluation of two narrow-leafed lupin varieties for silage and grain production. 10th International Lupin Conference. Iceland. Pág. 44.
- Galindo, T.M., J.L. de Dios Figueroa, H. Verdín y M. Salas. 2003. Valor nutritivo y contenido de alcaloides en el forraje de dos leguminosas del género lupino. Avances de la investigación Científica CUCBA. U de G. Pág. 93.
- Gross, R. 1982. El cultivo y la utilización del Tarwi (*Lupinus mutabilis* sweet). Pág. 141-197. Estudio FAO No. 36. Producción y protección vegetal. Roma.
- Gross, R. y E. Von Baer. 1977. Posibilidades del *Lupinus mutabilis* y *Lupinus albus* en los países Andinos. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 27:451-474.
- Haq, N. 1993. Underutilized crops. Pulses and vegetables. Ed. J.T. Williams. Published by Chapman & Hall London. Reino Unido. Pág. 77-90.
- Harris, D.J., y P.E. Wilson. 1988. A rapid manual method of lupin alkaloid analysis. En: Proc. Vth. int. Lupin Conference. Twardowski, T. (Ed.). Poznan, Polonia. Pág. 598-601.
- Helgadottir, Á. 2002. Annual lupins grown for green fodder in Iceland. 10th International Lupin Conference. Islandia. Pág. 57.
- Jannasch, R. y R.C. Martin. 1999. The potential for capturing the biological yield of white lupin by intercropping with cereals. Biol. Agric. Horticulture 17:113-130.
- Karara, H.A. 1987. An efficient method for the extation of alkaloids from bitter lupine seed. Fett Wiss Technol. 89:442-446.

- Kochapakdee, S., P. Moss, J.L. Lin, W. Reeves y P. Mask. 1997. Lupins silage, an alternative forage. *Highlight in Agric. Res.* 44: 27-28.
- Ku-Vera, J.C., L. Ramírez-Avilés, G. Jiménez Ferrer, J.A. Alayón y L. Ramírez-Cancino. 2005. Árboles y arbustos para la producción animal en el trópico mexicano. Conferencia electrónica de la FAO: Agroforestería para la producción animal en Latinoamérica.
- Lopez-Bellido, L. y M. Fuentes. 1986. Lupin crop as an alternative source of protein. *Adv. Agron.* 40:239-290.
- Martins B., Soares A. y M.A. Martins Monteiro. 2005a. Relationship of nutritive value and crude protein degradability in rumen of Lupine silage and its corresponding forage (*Lupinus albus*). 11th. International Lupin Conference. Guadalajara Mexico. 4-9 mayo. Pág. 143.
- Martins B., Soares A. L. Falcao e Cunha; R. Merry and D. Davies. 2005b. Preliminary study of the effects of condensed tannin on the protein fraction of *Lupinus albus* slage.. 11th. International Lupin Conference. Guadalajara Mexico. 4-9 mayo. Pág. 146
- Mc. Vaugh, R. 1987. *Flora novogaliciana, Leguminosae*. A descriptive account of the vascular plants of Western Mexico. The University of Michigan press. Ed. Ann Arbor. USA. 5:567-569.
- Merck. 1993. *El Manual Merck de Veterinaria* (4^a ed.). México.
- Messman, M.A., W.P. Weiss y M.E. Koch. 1994. Changes in total and individual proteins during drying, ensiling and ruminal fermentation of forages. *J. Dairy Sci.* 77:492.
- Milton, J. y J. Paterson. 2002. Supplementary feeding for sheep for meat production. *Bulletin. Univ. Western Australia.*

- Prithiviraj, B., Carruthers, K., Fe, Q., Cloutier, D., Martin, R.C., y D.L. Smith. 2000. Intercropping of corn with soybean and lupin for silage: Effect of seeding date on yield and quality. *J. Agron. Crop Sci.* 185:129-136.
- Przybylak, J. K., Ciesiolka, D., Wysocka W., García-López, P., Ruiz-López, M., Wysocki W. y Gulewicz K. 2005. Alkaloids profiles of Mexican wild lupin and effect of alkaloid preparation from *Lupinus exaltatus* seeds on growth and yield of paprika (*Capsicum annum L.*). *industrial crops and Products* 21: 1-7.
- Planchuelo, A.M. 1996. Relationship between southamerican and european species of lupin. En: *Advances of legumes of economic importance*. Pichersgill, B. y J.M. Lock (Eds.). Royal Botanic Gardens, UK. Pág. 109-116.
- Ruíz M.A. y A. Sotelo. 2001. Chemical composition, nutritive value and toxicology evaluation of Mexican wild Lupins. *J. Agric. Food Chem.* 49:5336-5339.
- S.A.R.H. 1990. Bromatología de forrajes e ingredients para la alimentación animal. Campo experimental Clavellinas; Tuxpan Jal. Folleto técnico num. 4 pag. 15
- Sotelo, A. 1983. Leguminosas silvestres, reserva de proteína para la alimentación del futuro. *Información Científica y Tecnológica*. CONACYT, México. 54:28-32.
- Statistical Analysis Systems (SAS) Institute. 1990. *SAS user's guide: statistics SAS*. Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Tejada de H. I. 1985. *Manual de laboratorio para análisis de ingredientes utilizados en la alimentación animal*. Patronato de Apoyo a la Investigación y Experimentación Pecuaria en México A.C.
- Tremblay A. 1997. Intoxication au lupin chez la vache. www.medvet.umontreal.ca/cours/toxicologie_mev_2030. Accesado el 15 de noviembre 2003.
- Trugo L.C. y D. von Baer. 1998. Analytical methods for analysis of antinutritional factors in legume seeds. *Recent advances of research in antinutritional factors in*

- legume seeds and rapeseed. 3rd. Int. Workshop on antinutritional factors in legume and rapeseed. European Assoc. for Animal Prod. Publication 93. Wageningen Press. Alemania.
- van Soest, P.J. y R.H. Wine. 1967. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. IV. The determination of plant cell wall constituents. J. Assoc. Officials Anal. Chem. 50:50-55.
- von Baer, D. y W. Feldheim. 1980. Alkaloids in *Lupinus mutabilis*. En: Agricultural and Nutritional aspects of lupines (Gross, R. y E. S: Bunting). Pág. 569-572. German Agency for Tech. Cooperation.
- von Baer, D., M. Marivil, E. von Baer, U. Hashagen y R. Ibañez. 1997. Alcaloides en semilla de híbridos de *Lupinus angustifolius* dulce y amargo. Boletín de la Sociedad Chilena de Química. Numero 629.
- Wink, M. 1993. Quinolizidine alkaloids. Methods in plant biochemistry. Editorial Watterman, Academic Press, London, UK. Pág. 197-239.