

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**

**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**Maestría en Ciencias en Nutrición Animal**



**CONTENIDO DE ALCALOIDES Y CINÉTICA DE DEGRADACIÓN *in situ*  
DEL FORRAJE DE DOS ESPECIES DE *Lupinus* EN BORREGOS.**

**TESIS QUE PRESENTA:**

**MVZ. RUBÉN ROSALES RAMÍREZ.**

**PARA OBTENER EL GRADO DE:**

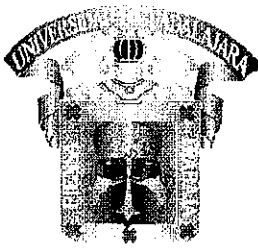
**MAESTRO EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN ANIMAL**

**Director: Ph.D. José Rogelio Orozco Hernández.**

**Asesores: M. en C. Hortensia Verdín Sánchez.**

**M en C Pedro Macedonio García López.**

**Zapopan, Jalisco. Mayo de 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 el pasante de Maestría en Ciencias de la Nutrición Animal de la Universidad de Guadalajara, **M.V.Z. Rubén Rosales Ramírez**, cuyo título es:

**"Contenido de alcaloides y cinética de degradación *in situ* del forraje de dos especies de *Lupinus* en borrego".**

Trabajo dirigido por: **Dr. José Rogelio Orozco Hernández**

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**  
M. EN C. GERARDO SIMON ESTRADA  
MICHEL

**REVISOR**  
M. EN C. ALBERTO CASILLAS BENITEZ

**REVISOR**  
DR. MARIO ALBERTO RUIZ LOPEZ

**REVISOR**  
DR. MARGARITA HERNANDEZ GALLARDO

**REVISOR**  
DR. JOSE ROGELIO OROZCO HERNANDEZ

## CONTENIDO

	PÁGINA
AGRADECIMIENTOS.....	
DEDICATORIAS.....	
RESUMEN .....	i
I INTRODUCCIÓN. ....	1
II REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Taxonomía y sistemática del <i>Lupinus</i> .....	3
2.2. Origen y distribución geográfica.....	4
2.3. Distribución en México .....	6
2.4. Adaptación climática y ecología.....	7
2.5. Antecedentes sobre su utilización.....	8
2.5.1. Toxicidad en la alimentación animal.....	8
2.5.2. Uso en la alimentación humana .....	10
2.5.3. Uso agrícola y forestal .....	11
2.5.4. Uso medicinal .....	13
2.6. Metabolitos secundarios .....	13
2.7. Alcaloides.....	14
2.7.1. Biosíntesis .....	15
2.7.2. Transporte y almacenamiento .....	16
2.7.3. Toxicidad y mecanismos de acción de los alcaloides quinilizidínicos.....	17

2.8. Cinética de degradación ruminal.....	18
2.8.1. Interpretación y descripción de la cinética de degradación .....	18
2.8.2. Procedimiento <i>in situ</i> .....	20
2.8.3. Porosidad de la bolsa .....	21
2.8.4. Tamaño de muestra.....	21
2.8.5. Tamaño de partícula de la muestra .....	22
2.8.6. Efectos de la ración. ....	23
2.8.7. Contaminación microbial .....	23
2.8.8. Efecto del lavado .....	24
2.9. Digestibilidad ruminal .....	24
2.9.1. Digestión de carbohidratos .....	24
2.9.2. Digestión de proteínas .....	25
2.9.3. Digestión de las grasas .....	25
2.10. Nutrición y alimentación ovina.....	26
2.10.1. Sistemas de producción ovina en México.....	28
III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	29
IV JUSTIFICACIÓN .....	30
V OBJETIVOS .....	31
VI HIPÓTESIS .....	32

VII MATERIALES Y MÉTODOS .....	33
7.1. Fase de campo.....	33
7.1.1. Localización y establecimiento de praderas experimentales.....	33
7.1.2. Canulación de borregos.....	34
7.1.3. Descripción de la toma de muestras .....	34
7.2. Fase de laboratorio .....	35
VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
IX CONCLUSIONES.....	59
X RECOMENDACIÓN .....	60
XI BIBLIOGRAFÍA .....	61

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Composición química de siete especies de <i>Lupinus silvestre</i> de México (g /100 g MS) de semilla.....	12
Cuadro 2	Contenido de alcaloides quinolizidínicos en 7 especies de <i>Lupinus silvestres</i> de México (mg de alcaloides/g MS) de semilla.....	15
Cuadro 3	Cinética de desaparición ruminal de la materia seca del forraje de lupino.....	42
Cuadro 4	Cinética de desaparición ruminal de la proteína del forraje de lupino .....	47
Cuadro 5	Cinética de desaparición ruminal de la fibra neutro detergente del forraje de lupino.....	52

Cuadro 6	Cinética de desaparición ruminal de la fibra neutro ácido del forraje de lupino.....	58
----------	--	----

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Posibles centros de origen y diversificación del género <i>Lupinus</i> .....	5
Figura 2.	Distribución geográfica de las especies del género <i>Lupinus</i> en México.....	6
Figura 3	Ruta de biosíntesis de alcaloides quinolizidínicos. ....	16
Figura 4.	Esquema de extracción de alcaloides (Przybylak y cols., 2005).....	35

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1.	Fracción degradable de la materia seca de dos edades de corte y dos especies de lupino .....	37
Gráfica 2	Fracción no degradable de la materia seca de dos edades de corte y dos especies de lupino .....	39
Gráfica 3	Fracción soluble de la materia seca de dos edades y dos especies de lupino.....	40
Gráfica 4	Tasa de degradación de materia seca de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.....	41
Gráfica 5	Fracción degradable de proteína cruda de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.....	43

Gráfica 6	Fracción no degradable de proteína cruda de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.....	44
Gráfica 7	Fracción soluble de proteína cruda de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.....	45
Gráfica 8	Tasa de degradación de la proteína cruda de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.....	46
Gráfica 9	Fracción degradable de la FDN en dos edades de corte y dos especies de lupino.....	48
Gráfica 10	Fracción no degradable de FDN de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.....	49
Gráfica 11	Fracción soluble de la FDN de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.....	50
Gráfica 12	Tasa de degradación de FDN de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.....	51
Gráfica 13	Fracción degradable de la FDA de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.....	53
Gráfica 14	Fracción no degradable de la FDA de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.....	54
Gráfica 15	Fracción soluble de FDA de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.....	55
Gráfica 16	Tasa de degradación de la FDA de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.....	56

## AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Producción Animal por el apoyo otorgado a un servidor con equipo e instalaciones para realizar el presente trabajo.

Al personal que labora en el Laboratorio de Biotecnología del Departamento de Botánica del CUCBA Dr Mario A. Ruiz L., Dr J Francisco Zamora N. M C Jesús Ruiz, M C Ramón Hernández, por su total y desinteresado apoyo para la realización de este trabajo, en especial al M C Pedro M. García. por sus consejos e incondicional apoyo en el uso del laboratorio..

Al personal de Laboratorio de Nutrición Animal del Departamento de Producción Animal del CUCBA: Al M C Jorge Hernández G. por las facilidades otorgadas para hacer uso del Laboratorio en especial al MVZ Adolfo Rodríguez F. y la QFB Cecilia Jiménez por todas las facilidades para la realización de nuestras pruebas.

A mi Director y Asesores porque siempre me impulsaron a seguir adelante y no decaer, aún en los momentos más difíciles de mi proceso de formación, porque me supieron guiar hasta el final del camino.

A todos mis Amigos que de una u otra forma contribuyeron a que culminara con mi trabajo, en especial a Dora, Eligio, Manuel, Rafa, Bourgetts y Raúl.

GRACIAS A TODOS.



## DEDICATORIAS

Doy gracias a Dios por ayudarme para que mis metas y proyectos sean alcanzables.

A la Universidad de Guadalajara por hacer de mí una persona de bien a la sociedad.

A mi Esposa Ana María por todo su gran apoyo, amor y comprensión que aun en los momentos difíciles siempre ha estado a mi lado.

A mis hijos Rubén, Ana Michel y Guillermo que son el motivo para seguir esforzandome en mi vida profesional y personal.

A mis Padres y Hermanos que incondicionalmente han estado siempre conmigo.

## RESUMEN.

La alimentación de pequeños rumiantes en México tradicionalmente se basa en forrajes con bajo contenido de nutrimentos limitando que los animales desarrollen su potencial. Por otro lado, el género *Lupinus* es nativo y está ampliamente distribuido en el país, contando con 22.2% de los registrados a nivel mundial, el cual por su contenido de fibra y proteína representa una alternativa forrajera para alimentar ovinos, pero su contenido de alcaloides, sobre todo en la semilla, limitan su uso. Sin embargo, no se encontró literatura sobre su desaparición ruminal, por lo que el objetivo del presente estudio fue evaluar la cinética de desaparición a nivel ruminal de dos especies de lupinos de dos edades de corte. Para el presente estudio, se utilizaron borregos canulados a nivel de rumen, en los cuales se introdujeron bolsas de nylon con forraje de *Lupinus* de dos especies (*L. rotundiflorus* y *L. exaltatus*) obtenido a dos tiempos de corte 90 y 180 días, para determinar la cinética de desaparición ruminal de MS, PC, FDN, FDA y de alcaloides a las 0, 6, 12, 24, 48, 72 y 96 h. A partir de los resultados de la degradación de los anteriores nutrimentos en este estudio se desprende que el *L. rotundiflorus* con 90 días al corte es la especie que mejores características forrajeras demostró, debido a las interacciones observadas entre edad de corte y especie.

## I. INTRODUCCIÓN

Los requerimientos de proteína para los rumiantes normalmente se satisfacen por dos fuentes: la primera es la proteína de origen microbiano que está disponible a nivel post-ruminal y la segunda es la proteína de la dieta que escapa a la digestión ruminal, pero que es digerida en intestino delgado. La proteína de sobrepaso puede provenir del forraje y/o del suplemento, y normalmente se conoce como proteína no degradable, mientras que la proteína que es degradada en el rumen es conocida como proteína degradada (Peterson y cols. 1996).

Los requerimientos para rumiantes del NRC de los Estados Unidos (NRC 1985), utiliza el sistema de proteína metabolizable para calcular sus necesidades, para poder hacer uso de este sistema, es necesario tener información acerca de la degradación ruminal de la proteína tanto del forraje como del suplemento. Los sistemas recientes han reconocido la importancia de la degradación de la proteína en el rumen, como el principal factor que determina la proteína que se absorbe en intestino delgado NRC (1985).

El grado en que la proteína y la fibra se degradada en el rumen depende de la actividad proteolítica de los microorganismos del rumen, del acceso de los microorganismos hacia estos, y de la tasa de pasaje del alimento (McAllan y Smith, 1983).

Los sistemas productivos de pequeños rumiantes en su mayoría son poco tecnificados y representan la única opción para los pobladores que no tienen acceso a las nuevas tecnologías. Por consiguiente los animales retardan su madurez por la deficiente alimentación a la cual son sometidos sobre todo a proteína y fibra efectiva.

Lo anterior refleja un escaso conocimiento de los recursos forrajeros renovables con que cuentan estas zonas, donde pudiera haber suficiente potencial energético en forma de forrajes alternativos para mantener una producción sustentable y de bajo impacto ecológico.

El género *Lupinus* con más de 500 especies descritas, pertenece a la familia de las leguminosas. Cerca de 12 especies son originarias de Europa y África, mientras que el resto de las especies se encuentran distribuidas en América, extendiéndose desde Alaska hasta Argentina (Planchuelo, 1996).

Algunas especies como *Lupinus albus*, *Lupinus luteus* y *Lupinus mutabilis* han sido cultivadas por cientos de años en varias partes del mundo debido a que las semillas representan una fuente importante de proteína con valores de 30 a 40% a base seca según la especie, variedad y las condiciones ambientales (Hill, 1977).

Sin embargo, los *Lupinus*, al igual que otras leguminosas contienen compuestos antinutricionales que disminuyen su valor alimenticio. Las especies del género *Lupinus* sintetizan y acumulan alcaloides quinolizidínicos, los cuales por su sabor amargo y su alta toxicidad constituyen el principal obstáculo en su aprovechamiento, tanto de la semilla como del resto de la planta (Muzquiz, 1988).

La mayoría de los estudios, tanto en México como en otras partes del mundo son dirigidos principalmente a determinar la composición y concentración de alcaloides en las semillas, por lo tanto existe escasa información sobre la dinámica de acumulación y distribución de estos compuestos en las estructuras de la planta durante el crecimiento y desarrollo.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Taxonomía y sistemática del género *Lupinus*.

El género *Lupinus* pertenece a la familia *Fabaceae*, tribu *Genisteeae* comprende un grupo amplio de especies y es considerado uno de los más complejos desde el punto de vista taxonómico. El nombre genérico *Lupinus* es antiguo, tomado del latín *Lupus* que significa "lobo", ya que estas plantas eran asociadas a los bosques y lugares donde habitaban los lobos (Gladstones, 1974).

La mayoría de las especies crecen en América desde Alaska hasta Argentina y solo 12 especies crecen en tierras altas de África y la región del mediterráneo. No se conocen especies nativas en Asia y Australia (Planchuelo, 1996). El género comprende un grupo dinámico de especies que ocupa hábitats desde el nivel del mar a la tundra alpina arriba de los 4000 m de elevación. La plasticidad para adaptarse a diferentes ambientes y la facilidad para experimentar cambios genéticos hace de la delimitación taxonómica de especies un trabajo difícil (Planchuelo; Ravelo, 1984).

#### Clasificación del género *Lupinus* :

1. División: *Magnoliophyta (Angiospermae)*.
2. Clase: *Magnoliopsida (Dicotyledone)*.
3. Subclase: *Rosidae*.
4. Superorden: *Fabanae*.
5. Orden: *Fabales*.
6. Familia: *Leguminosae (Fabaceae)*.
7. Subfamilia: *Papilionoideae*.
8. Tribu: *Genistea*.
9. Género: *Lupinus*.

Los datos serológicos y la secuenciación de los genes, RbcL e ITS, le han permitido la clasificación como taxón monofilético dándole las características propias del género *Lupinus* (Wink y Waterman, 1999).

Descripción botánica del género *Lupinus*: Es una leguminosa herbácea o arbustiva erecta de tallos cilíndricos, robustos, algo leñoso, generalmente de color verde oscuro, amarillento a veces variando hacia castaño. Se ramifica a partir de un eje central en forma de un candelabro. Alcanza alturas de 0.8 a más de 2 m . Las hojas son palmeadas, digitadas. La floración y formación de frutos es a menudo dispersa en el tiempo, las flores son de color azul, pero pueden cambiar a blanco y rosado. Las vainas contienen 6-8 semillas .

El fruto es una legumbre pubescente, indehisciente en las cultivadas y con cierta dehiscencia en las semicultivadas y silvestres, de forma elíptica u oblonga, aguda en ambos extremos, con cerca de 120 vainas por planta. En las vainas se encuentran las semillas, que pueden variar en su número. Las semillas pueden ser de forma redonda u ovalada, lenticulares, de 5-15 mm de largo y 6-8 mm de ancho, de color variable, pueden ser blancas, marrones o negras y tienen un diámetro aproximadamente de 1 cm .

## 2.2. Origen y distribución geográfica.

Determinar con precisión el origen de un ancestro común ha sido difícil, algunas hipótesis sugieren un origen en Norteamérica mientras que otras en Sudamérica basado en la presencia en plantas con hojas simples, las cuales son consideradas por Planchuelo y Dunn (1984) como representantes primitivos del género.

Otra hipótesis sugiere tres centros de origen y diversificación separados geográficamente en (i) región del mediterráneo y las tierras montañosas de África; (ii) región Andina de Bolivia, Chile y Perú en Sudamérica y (iii) Norteamérica incluyendo México (Figura 1) (Hondelmann, 1984; Planchuelo, 1996). Nuevas teorías basadas en el uso de técnicas moleculares y análisis de ADN han sugerido que el género se originó en el viejo mundo y llegó al nuevo mundo por colonización independiente del Norte y Sudamérica (Küss y Wink, 1996).

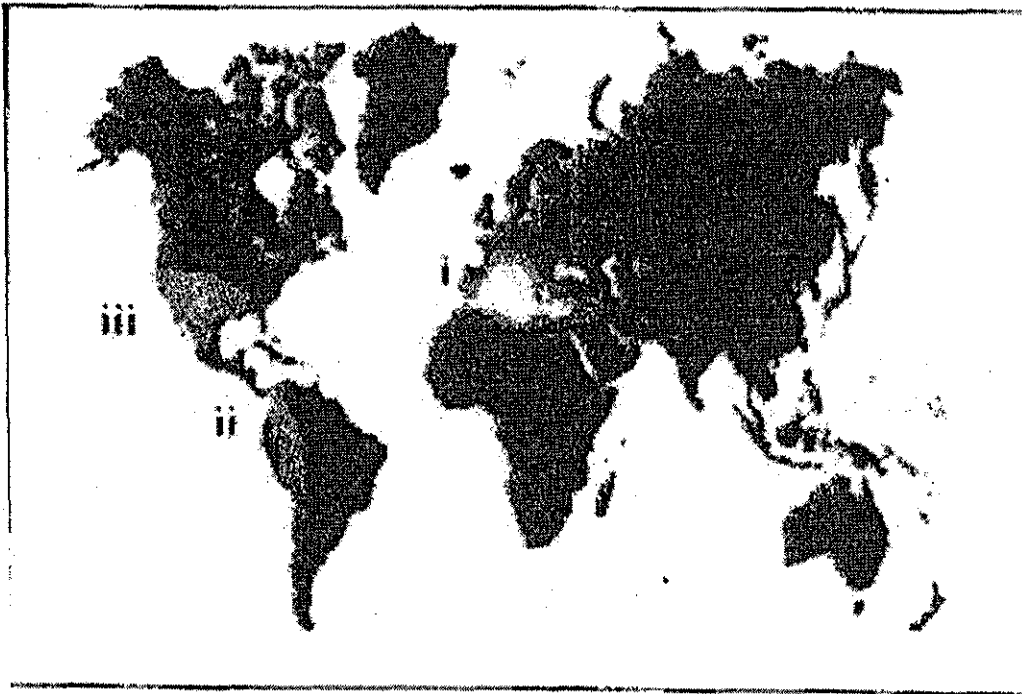


Figura 1. Posibles centros de origen y diversificación del género *Lupinus*.

- (i) Región del Mediterráneo y tierras montañosas de África.
- (ii) Región Andina de Bolivia, Chile y Perú en Sudamérica.
- (iii) Región Norteamérica incluyendo a México.

### 2.3. Distribución en México.

En México el género *Lupinus* se encuentra ampliamente distribuido, cuenta con alrededor de 111 especies, las cuales se distribuyen desde Baja California a Chiapas a lo largo de la cadena montañosa, con un mayor centro de diversidad en el Eje Neovolcánico (2), donde convergen la Sierra Madre Occidental (1) y la Sierra Madre Oriental (3) como se muestra a continuación (Bermúdez y cols.; 2000) (Figura 2).

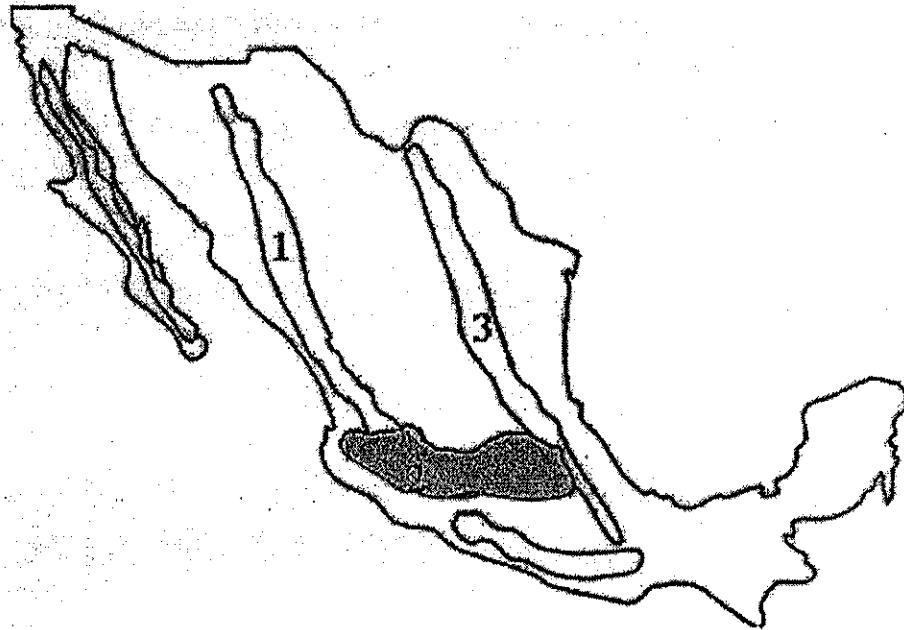


Figura 2. Distribución geográfica de las especies del género *Lupinus* en México.

- 1.- Sierra Madre occidental.
- 2.- Eje Neovolcánico.
- 3.- Sierra Madre oriental.



En Jalisco existen alrededor de 15 especies distribuidos en su mayoría en la Sierra Madre Occidental y Sierra Volcánica Transversal; localizados en los municipios de Tapalpa y Chiquilistlán (Sierra del Halo), Mezquitic (San Juan Peyotan y San Andres Cohamiata), Tequila (Volcán de Tequila), Mascota (Cerro del Molcajete y Lago de Juanacatlán), Autlán (Sierra de Manantlán), San Martín de Bolaños (San Miguel de la Sierra), Mazamitla (Sierra del Tigre), Cuquío (cerca del Rio Aguacaliente), Jocotepec ( Sierra del Tecuán), Tonila (Volcán de Fuego y nevado de Colima), Ciudad Guzmán, Ojuelos, Lagos de Moreno y sierra de Quila (McVaugh, 1987).

#### 2.4. Adaptación climática y ecología.

Las especies domesticadas se cultiva principalmente en zonas templadas-frías, aunque tiene una amplia adaptación climática con requerimientos térmicos que van de los 15 a 25°C. Temperaturas más altas y acompañadas de estrés hídrico pueden afectar el crecimiento, sobre todo durante la fase de floración y cuajado de vainas (López y Fuentes, 1986).

Es aparentemente indiferente al fotoperíodo, aunque se cultiva más en condiciones de días cortos. Requiere entre 350-800 mm de precipitación anual, siendo cultivado exclusivamente en zonas de secano, es sensible al exceso de humedad, y moderadamente susceptible a la sequía durante la floración y envainado. No tolera las heladas en la fase de formación del racimo y madurez, aunque algunos ecotipos (especies mediterráneas) tienen una mayor resistencia al frío. Prefiere suelos francos y franco-arenosos, con balance adecuado de nutrientes y buen drenaje, pH que oscila entre 5 y 7. En suelos ácidos, la fijación de nitrógeno por el *Rhizobium* es muy escasa (López y Fuentes, 1991).

## 2.5. Antecedentes sobre su utilización.

### 2.5.1. Toxicidad en alimentación animal.

La esparteína es considerada junto a la lupanina, como los alcaloides más tóxicos presentes en las semillas de lupino . La esparteína y lupanina son tóxicos para los vertebrados por ser agonistas de los receptores de acetilcolina, inhibidores de los canales de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , lo que bloquea la señal de transducción neuronal, también alteran la síntesis de proteínas (Wink y Roberts, 1998).

En bovinos y ovinos una **intoxicación por lupino** se produce por la acción directa de los alcaloides sobre el organismo y en relación con una dosis alta de alcaloides ingerida en un período corto, por acción directa de ellos sobre el sistema nervioso central. El cuadro clínico de la intoxicación se caracteriza por depresión respiratoria, acción hipotensora, inhibición de la transmisión neuromuscular y fibrilación cardíaca. En casos agudos se disminuye drásticamente el consumo de alimento. Especialmente en animales jóvenes hay una alteración metabólica, que reduce la eficiencia alimenticia (Merck, 1993).

La intoxicación aguda en bovinos se presenta cuando consume altas cantidades de plantas frescas en corto lapso, destacando dentro de la sintomatología la disnea, ptialismo, hiperestesia y convulsiones. Por otra parte, en terneros nacidos de madres que consumieron lupinos ricos en anagirina entre los 40 y 75 días de gestación, presentan una malformación congénita llamada "**enfermedad del ternero encorvado**" caracterizada por artrogrifosis, xifosis, escoliosis y paladar hendido, en distintas combinaciones (Davis, 1982; Keeler y Panter, 1989).

Así mismo, la **lupinosis** es una micotoxicosis que ocurre cuando el hongo *Phomopsis leptostromiformis* (syn. *P. rossiana*) se desarrolla en las partes aéreas y semillas de las variedades forrajeras de lupino dulce. La enfermedad ha provocado fuertes pérdidas a la industria ganadera de Australia, en donde la enfermedad se asocia al pastoreo del ganado -especialmente ovino- en forraje de lupino, desarrollándose el hongo en ambiente húmedo y cálido. En la forma aguda de la afección, los animales enfermos se apartan del rebaño y se los aprecia desorientados y letárgicos, con anorexia parcial o total, muriendo días después aunque haya cesado el consumo de forraje.

La forma crónica se caracteriza por anorexia parcial, progresivo desmedro orgánico, ictericia y a veces fotosensibilización. Las micotoxinas causales (*phomopsinas* A y B) son hepatotóxicas y las lesiones que producen son indistinguibles de las causadas en el hígado por los alcaloides pirrolizidínicos del senecio y otras plantas (Keeler, 1980).

No obstante, los herbívoros frecuentemente se confrontan con toxinas en su alimento y durante su evolución desarrollan los mecanismos para superar las defensas de las plantas (Harbone, 1993; Wink, 1993). Algunas toxinas son detoxificados ó degradadas enzimáticamente en el tracto gastrointestinal, principalmente después de su absorción como las del sistema microsomal mixto de función oxidativa incluyendo al citocromo P-450, enzima mayoritaria del sistema enzimático (Freeland y Janzen, 1974; Smith, 1992). Estas enzimas actúan en sustratos no específicos y se encuentran predominantemente en el hígado y riñones de los vertebrados, por lo tanto el hígado es el responsable principal de la detoxificación xenobiotica.

Algunos herbívoros mamíferos reducen la toxicidad de las plantas por la inactivación de metabolitos secundarios mediante la producción de proteínas salivales que ligan algunos taninos y esto permite que los animales se alimenten con plantas con alto contenido de taninos (Robbins y cols. 1987).

El tracto digestivo es por sí mismo otro sitio potencial de detoxificación en ruminantes y otros herbívoros, por la simbiosis con microorganismos ruminales quienes transforman los constituyentes del alimento en nutrientes para ganancia de peso, producción de leche, energía, etcétera (Carlson y Breeze, 1984; Dawson y cols. 1997; Weimer, 1998).

Algunas veces la actividad de degradación del alimento por la microbiota está relacionada con cambios en la población de microorganismos ruminales, que da como resultado una resistencia a componentes antinutricionales (Duncan y cols., 2000; Blythe y Craig, 1994; Dawson y cols., 1997; Newbold y cols. 1997; Odenyo y cols., 1997).

#### 2.5.2. Uso en la alimentación humana.

Para poder emplear la semilla en la alimentación humana el proceso mínimo de transformación del lupino es el desamargado (eliminación de alcaloides amargos). Tradicionalmente los campesinos de Sudamérica procedían a desamargar las semillas de lupino haciéndolos hervir por espacio de una hora aproximadamente y dejándolos en bolsas o sacos en la corriente de una acequia o el río, por más de una semana (Juárez; 1991).

Métodos modernos aceleran el proceso mediante la extracción simultánea de aceites y alcaloides con alcohol, sin embargo son más costosos que el proceso tradicional. La semilla de lupino para ser desamargada en fresco debe guardarse hasta por quince días cambiándole diariamente el agua. Además se le puede secar dejándola al sol unos 3-4 días (Juárez; 1991).

La semilla es un alimento lleno de proteína, grasa, hierro, calcio y fósforo. Se considera apropiado para alimentar niños en etapas de crecimiento, mujeres en gestación o lactancia. Al combinar la semilla con algunos cereales como la quinua o amaranto, es capaz de semejar las cualidades de la leche, la carne, el queso y el huevo (Juárez; 1991).

Se utiliza la semilla desamargada en la preparación de guisos, pepián, purés, salsas, ceviche serrano, sopas (sopa de tarwi), postres (mazamorra con naranjal) y refrescos (jugo de papaya con harina de tarwi). Industrialmente la harina de tarwi es empleada hasta en un 15% de la masa total en la panificación, sobre todo por la ventaja de mejorar considerablemente el valor protéico y calórico del producto (Juárez; 1991).

### 2.5.3. Uso agrícola y forestal.

Las especies del género *Lupinus* intervienen de diferentes formas en los sistemas de producción agropecuaria en diferentes partes del mundo, siendo algunas especies mejoradas utilizadas de manera muy diversa: producción de semilla o forraje, en rotación de cultivo, abono verde, conservación de suelos, praderas permanentes de aprovechamiento directo por el ganado y establecimiento de sistemas forestales (López y Fuentes, 1991).

Lo más destacado de la composición nutrimental de la semilla del lupino tanto de especies cultivadas como de silvestres nativas es su contenido de proteína cruda, que es de los más elevados dentro de las leguminosas y varía de 30 a 40% (Ruíz y Sotelo, 2001) (Cuadro 1). Por otro lado, el contenido de lípidos totales o extracto etéreo en las diferentes especies de la semilla se reportan valores de 5 ó 6%, pero las especies *L. albus* y *L. mutabilis* contienen de 11 a 19% respectivamente, por lo tanto son consideradas especies que potencialmente pueden emplearse como oleaginosas para la industria respectiva (Schoeneberger y cols., 1982).

Cuadro 1. Composición química de siete especies de *Lupinus* silvestre de México (g /100 g MS) de semilla.

	Cenizas	Lípidos	Fibra	Proteína*	CHOs
Especie de lupino					
<i>elegans</i>	4.20	5.79	12.91	45.41	31.69
<i>exaltatus</i>	3.59	8.50	14.61	40.50	32.80
<i>reflexus</i>	3.61	7.90	16.58	37.31	34.60
<i>rotundiflorus</i>	4.01	5.50	15.11	42.82	32.56
<i>simulans</i>	3.59	6.29	14.42	40.70	35.00
<i>splendens</i>	3.30	8.89	12.70	37.20	38.10
<i>madrensis</i>	3.51	6.80	15.40	41.50	32.80

(N x 6.25).

Fuente: Ruíz y Sotelo, 2001.

#### 2.5.4 Uso Medicinal.

El agua de cocción es ocasionalmente tomada por los agricultores como laxante y para el control de plagas en las plantas, también desprende costras, escamas y quita toda clase de granos (Gladstones, 1970; Gladstones, 1974). Para uso medicinal los alcaloides se emplean para controlar ectoparásitos y parásitos intestinales de los animales. Además dichas sustancias amargas se utilizan en baños calientes para curar el reumatismo (Gross, 1982).

Muzquiz (1988) refiere al lupino como planta medicinal empleada como antiinflamatorio del oído medio y también para la ciática, además, cuando es tomada con miel y vinagre evita la obstrucción de las vías hepáticas y la depresión, así como en afecciones cardíacas.

#### 2.6. Metabolitos secundarios.

Generalmente las plantas poseen elementos que no necesariamente están relacionados con el valor nutrimental, como los metabolitos. De acuerdo con Bourgaud y cols. (2001) el término metabolito secundario se refiere a aquellos compuestos que están presentes accidentalmente en las células vegetales y que no son esenciales en las funciones vitales de las plantas. La gran mayoría de estos metabolitos secundarios se originan de tres rutas biosintéticas: 1) acetil-coenzima A, b) ácido mevalónico y c) ácido shikimico.

Por su parte Harborne (1993) señaló que los metabolitos secundarios son generalmente clasificados de acuerdo a sus rutas metabólicas donde se producen y pertenecen a tres grandes familias de moléculas como son: compuestos fenólicos, alcaloides, terpenos/esteroides.

Aunque por algún tiempo se pensó que los metabolitos secundarios eran solo productos de desecho del metabolismo primario, actualmente gracias a los avances en las técnicas bioquímicas y en el conocimiento de la biología molecular ha sido claramente demostrado que dichos compuestos juegan un papel importante en la adaptación de las plantas a su ambiente, además mantienen interacciones complejas entre los organismos vivos del ecosistema (Bourgaud y cols., 2001).

## 2.7. Alcaloides.

Los alcaloides son compuestos cíclicos que contienen nitrógeno, cuya distribución es limitada en los organismos vivos, tradicionalmente estos compuestos han sido aislados de plantas superiores, sin embargo, se han encontrado en insectos, hongos, organismos marinos y plantas inferiores (De Lucas y St-Pierre, 2000).

Los alcaloides pueden acumularse durante el crecimiento en distintas partes del vegetal como; semillas, frutos, flores, hojas, tallos, raíces, rizomas y cortezas. Dichos compuestos le sirven a la planta como un medio de defensa química contra herbívoros ya que reduce su consumo, y en menor grado contra bacterias, hongos y virus (Zamora; 2005).

Los principales alcaloides que han sido encontrados en los géneros *Lupinus* son la lupanina, esparteina, lipinina, 13-OH-lupanina y angustifolina, aunque también se han encontrado alcaloides no quinolizidínicos como gramina y amodendrina (Wink y cols., 1987) (Cuadro 2).



Cuadro 2. Contenido de alcaloides quinolizidínicos en 7 especies de *Lupinus* silvestres de México (mg de alcaloides/g MS) de semilla.

	esparteina	lupanina	3-hidroxilupanina	13-hidroxilupanina
Especie de lupino				
<i>exaltatus</i>	0.03	5.83	1.53	nd
<i>elegans</i>	nd	0.03	3.73	nd
<i>splendens</i>	0.29	0.89	1.05	1.00
<i>reflexus</i>	26.63	2.91	0.16	0.08
<i>rotundiflorus</i>	0.11	11.5	4.19	nd
<i>simulans</i>	0.40	8.87	2.76	0.09
<i>madrensis</i>	0.02	10.63	2.08	0.03
Media ±ESM	3.70±2.16	4.68±0.99	1.81±0.32	0.25±0.11

Fuente: Ruíz y Sotelo, 2001.

### 2.7.1. Biosíntesis.

La síntesis de los compuestos quinolizidínicos se lleva a cabo principalmente en los cloroplastos de hojas y posteriormente son trasladados vía el floema a otras partes de la planta para su almacenamiento en vacuolas (Wink y Roberts, 1998).

Los alcaloides quinolizidínicos son resultado del metabolismo del aminoácido lisina mediante el proceso de descarboxilación, principalmente para formar la amina biogénica cadaverina como el primer producto precursor, dicha fase es mediada por la enzima lisina descarboxilasa y la 17 oxoesparteina (Figura 3).

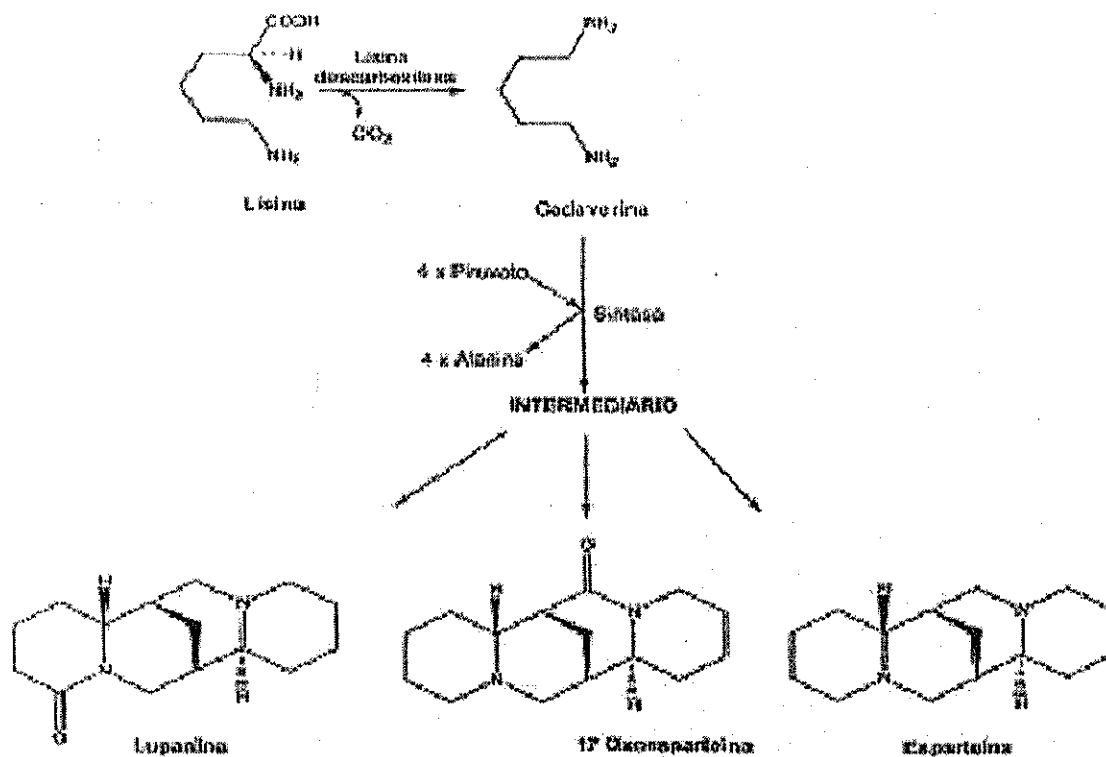


Figura 3. Ruta de biosíntesis de alcaloides quinolizidínicos.

### 2.7.2. Transporte y almacenamiento.

Los tejidos epidérmicos de tallos, pecíolos y frutos son ricos en alcaloides, los que son almacenados en concentraciones de 25 - 200 nM en las células de éste tejido y de 100 - 200  $\mu$ M en la semilla (Wink y Mende, 1987). Antes de la floración de la planta el mayor contenido de alcaloides se encontró en hojas, seguido de tallos y raíces, ya que el follaje en éste período de desarrollo es el órgano más susceptible a la herbivoría.

Por otro lado, durante la etapa de floración y fructificación de la planta de lupino los niveles de alcaloides se incrementan en los órganos relacionados con la reproducción (flores, frutos y semillas) para asegurar así la supervivencia de la especie ( Wink y Roberts, 1998; Zamora; 2005).

### 2.7.3. Toxicidad y mecanismos de acción de los alcaloides quinolizidínicos.

La acción de los compuestos secundarios o metabolitos en algunos vegetales tienen su acción mediante su efecto sobre mecanismos diversos en el organismo animal. El mecanismo de acción toxica de los alcaloides quinilizidínicos encontrados en la semilla de lupino se realiza a través de los siguientes procesos:

- Se unen a receptores acetilcolínicos – nicotínicos (específicamente lupanina).
- Se unen a receptores acetilcolínicos - muscarínicos (Específicamente la esparteina).
- Lupanina y esparteina inhiben los canales de transporte membranal basados en el sodio y potasio, responsables de la polaridad de la membrana celular.

(Wink, 1998; ).

También se ha señalado que los anteriores alcaloides pueden bloquear las señales de transducción en células nerviosas e interfieren en la síntesis de proteínas en el tejido animal (Wink y Roberts, 1998).

## 2.8. Cinética de degradación ruminal.

### 2.8.1. Interpretación y descripción de la cinética de degradación.

Los alimentos que consume el rumiante se acumulan inicialmente en el rumen al ser atrapados por la masa de materia que allí se encuentra presente, lo que permite que sean fraccionados por mecanismos físicos, como la rumia. Posteriormente a la reducción del tamaño de partícula los microorganismos del rumen se fijan al vegetal favoreciendo la degradación de sus componentes y después de un período de estancia pasan del rumen al omaso a través del orificio retículo-omasal (Orskov y Mc. Donald, 1979).

Generalmente se pretende predecir el comportamiento de dicho proceso a través del uso de métodos *in vitro* e *in situ*, los cuales han sido utilizados para determinar la velocidad a la que los microorganismos transforman el vegetal o también conocido como tasa de degradación, sobre todo para identificar aquellas porciones de proteína, materia seca, materia orgánica y fibra que son indigestibles (Orskov y Mc. Donald, 1979).

En la disponibilidad de los nutrientes (como por ejemplo la proteína) a nivel del complejo retículo-rumen puede dividirse al menos en tres fracciones o porciones que se definen como; degradadas rápidamente, degradada lentamente, y en aquella que no se degrada, también son conocidas como fracciones A, B, y C respectivamente según el autor que la reporte (Orskov y Mc. Donald, 1979).

Existen varios modelos matemáticos que permiten estimar de manera precisa estas fracciones (Mertens, 1987). La técnica de la bolsa de nylon (*in situ*) empleando animales canulados a nivel ruminal puede utilizarse para obtener los datos que servirán para estimar aquellas porciones del forraje o ingrediente que son degradables en el rumen y las que no lo son, así como la tasa de desaparición de los nutrimentos, como la proteína cruda (Mertens, 1987; Nocek, 1988; NRC 1985; Orskov y Mc. Donald, 1979).

Sin embargo, la tasa de degradación de la fracción que es degradada rápidamente no puede estimarse con la técnica *in situ*, debido a que el tiempo de incubación en los estados iniciales de la degradación no es suficiente para estimar esta tasa con exactitud (Mertens, 1987; Nocek, 1988).

La fracción que es potencialmente degradada a nivel del complejo retículo rumen, normalmente se ha descrito como una constante cinética de primer orden (Mertens, 1982, Mertens; 1980; Van Soest, 1991), partiendo de una primera suposición, que el contenido que se examinan son homogéneos y que el sustrato que queda será degradado como una función lineal de tiempo en el rumen (transformación logarítmica).

Los dos métodos más comunes para estimar la degradación del forraje son:

- 1) La porción soluble y la no soluble se determinan y se sustraen del nitrógeno residual del forraje, materia seca (**MS**), o fibra detergente ácido (**FDA**), ya sea por medio de un análisis de regresión o el método de "pelado de la curva". Este método puede llevarse a cabo solo si existe más de un componente lineal (Nocek, 1986).

- 2) El modelo no lineal es utilizado para describir la degradación de forraje (Dhanao, 1988) y se usa con o sin tiempo de retraso (Orskov, 1979) y se ajusta hasta que el cambio en la sumas de los cuadrados residuales, lleguen a un criterio de convergencia. La ventaja de este método es que todos los parámetros se calculan al mismo tiempo.

El grado en que la proteína y la fibra es degradada en el rumen depende de la actividad enzimática respectiva de los microorganismos del rumen, del acceso de la microbiota hacia estos, y de la tasa de pasaje del alimento (Broderick, 1982; Lindberg, 1985; NRC, 1985; Nocek, 1988).

#### 2.8.2. Procedimiento *in situ*.

En esta técnica se colocan bolsas de nylon en el rumen, las que contienen una muestra representativa con la que se determina la desaparición de materia orgánica (**MO**) y proteína cruda (**PC**) a diferentes intervalos de tiempo (Orskov, 1980). El nitrógeno que desaparece de las bolsas es equivalente a la PC que es degradada a nivel del retículo-rumen (Broderick, 1982; Lindberg, 1985; NRC, 1985; Nocek, 1988).

La técnica *in situ*, proporciona información confiable acerca de las estimaciones de la degradabilidad obtenidas con el método *in vitro* para varios tipos de alimento e ingredientes (Stern y Satter, 1982), sin embargo su popularidad ha estado sujeta a extensas críticas y evaluaciones. Existe un gran número de factores que afectan la estimación de la desaparición en el rumen cuando se utiliza la técnica *in situ*, por lo tanto, cuando ésta se utilice todos los factores que la influyen deberán tomarse en cuenta (Nocek, 1988).

### 2.8.3. Porosidad de la bolsa.

La selección de la porosidad de la bolsa se hará considerando el riesgo de perder partículas de la muestra, el grado de entrada de contenido del rumen, limitaciones en la entrada y salida del líquido del rumen, y el riesgo de seleccionar diferentes poblaciones microbianas. Las diferencias en la porosidad son especialmente notables después pasadas 12 horas de incubación en el rumen. Sólo parte de estas diferencias pueden ser atribuidas a las variaciones en la pérdida de partículas causada por la apertura de la bolsa (Nocek, 1988).

El impacto de la porosidad del tejido de la bolsa sobre la desaparición en rumen es difícil de estimar ya que depende del tamaño de partícula de la muestra, así como la naturaleza y tipo de alimento que se va a evaluar. Una porosidad de la bolsa de 40 a 60 micras parece ser un punto adecuado considerando el flujo microbiano y de líquido que permitirá la acción de la microbiota (Lindberg, 1985).

### 2.8.4. Tamaño de muestra.

Para decidir el tamaño de partícula se debe tomar en cuenta dos aspectos: a) una cantidad suficiente de muestra debe quedar para análisis después de los períodos de incubación, y b) la cantidad de la muestra no debe ser tan grande para que retrase el mezclado instantáneo de las partículas del alimento y el líquido ruminal (Lindberg, 1985). El rango en el tamaño que deberá ser utilizada en relación a la superficie de la bolsa, deberá ser de 10 a 20 mg/cm<sup>2</sup> para la mayoría de alimentos del tipo concentrado y forrajes (Nocek, 1988).

La cantidad exacta de muestra que debe ser introducida en la bolsa, para ser incubada en el rumen, así como el tamaño de la bolsa dependen del ingrediente en estudio y del tiempo total que permanecerán estos en el rumen, lo mismo dependerá del número de análisis químicos que se pretenden realizar en el residuo resultante de la acción de la microbiota. Nocek (1988) y Orskov y cols. (1980) sugieren que la cantidad de muestra en la bolsa depende también de la densidad de la misma. Generalmente son; 2 g de paja molida, 3 g de heno de buena calidad, 5 g de concentrados y 10 –15 g de forraje fresco.

#### 2.8.5. Tamaño de partícula de la muestra.

La preparación de la muestra para su posterior incubación tiene vital importancia, ya que hasta donde sea posible, el material deberá semejar al que aparece en el rumen como es consumido por el animal (Orskov, 1980). Naturalmente, las variaciones en la porosidad de la bolsa afectan la degradación de la muestra, por lo que es necesario estandarizar el procedimiento de molido, para poder llevar a cabo comparaciones entre experimentos.

Linderberg (1985) y Nocek (1988) sugieren que se muelan los suplementos proteicos para que pasen a través de una malla con poros de 2 mm antes de la incubación, mientras que los forrajes (> 60% de MS) deberán pasar una malla de 5 mm. El molido sirve también para uniformizar y reducir variaciones en el muestreo y en la medición de la tasa de digestión.



#### 2.8.6. Efecto de la ración.

El alimento tiene un efecto definitivo en la tasa de degradación del material que es incubado, por ejemplo, en animales alimentados con una ración alta en concentrado, la actividad de los microorganismos capaces de degradar la celulosa se reduce considerablemente (Orskov, 1980). Dado que la muestra puesta en las bolsas de nylon están suspendidas en el rumen en contacto directo con la población microbiana presente en el mismo, es probable que haya un efecto en la tasa y el grado de digestión de esa muestra. Por lo tanto, la ración de base deberá incluir un amplio rango de ingredientes, para de esta manera exista una población microbiana diversa (Nocek, 1988).

#### 2.8.7. Contaminación microbiana.

El problema más serio de la técnica *in situ* es el grado de contaminación microbiana producto de la colonización de los residuos incubados (Broderick, 1982; Lindberg, 1985; NRC, 1985; Nocek, 1988). Debido al íntimo contacto en que se encuentran las muestras con la microflora ruminal, la contaminación con constituyentes microbiales es un obstáculo irreversible, así como la fuente de variación asociada con la estimación real de la digestibilidad de los nutrientes del alimento determinada con la técnica *in situ* (Nocek, 1987).

En este contexto, cuando deban estimarse las porciones nitrogenadas, por lo menos los forrajes toscos y de baja calidad deberán corregirse para contaminación microbiana. Aunque las bolsas se laven adecuadamente, los residuos pueden contener cantidades importantes de material microbiano. El contenido total de nitrógeno en muestras de heno se incrementa gradualmente con el tiempo de incubación en el rumen, mientras que el contenido de nitrógeno ligado a la FDA (N-FDA) permanece aproximadamente constante (Linderberg, 1982).

En virtud de que el contenido de N-FDA permanece aproximadamente constante, el total de nitrógeno que no se degrada puede ser calculado, definiendo un punto final de degradación. Así que es necesario dar suficiente tiempo de incubación a las muestras, para detectar el punto final de la digestión (Nocek, 1986).

#### 2.8.8. Efecto del lavado.

El lavado de las bolsas después de la incubación en el rumen tiene como objetivos principales detener la actividad microbial, y eliminar todas las partículas adheridas al tejido de la bolsa, debido al movimiento del líquido ruminal (Linderberg, 1985).

El procedimiento estándar consiste en lavar las bolsas con agua de la llave, hasta que el agua salga clara de las bolsas, lo cual lleva aproximadamente 5 minutos por muestra (Kempton, 1980) Nocek (1988), concluye que es preferible arreglar el orden en que se introducen las bolsas en el rumen, de forma que todas las mismas puedan sacarse al mismo tiempo; esto permite que se laven en menos tiempo.

### 2.9. Digestibilidad ruminal.

#### 2.9.1. Digestión de carbohidratos.

Los forrajes constituyen la principal ingrediente en la alimentación de los rumiantes (ovinos, caprinos, bovinos, etc.), siendo las hojas y tallos las porciones de la planta que contienen paredes celulares constituidas por moléculas de celulosa y un material compactante integrado por hemicelulosa, pectina y lignina . El contenido de lignina aumenta con el envejecimiento de la planta y con temperaturas ambientales elevadas.

Ninguno de los anteriores componentes de la pared celular puede ser degradado por las enzimas que se producen en el tracto gastrointestinal de los mamíferos y, sin embargo, pueden sufrir una acción hidrolítica a partir de complejos sistemas enzimáticos de las "celulasas" microbianas que habitan el intestino grueso y ciego (García y col.; 1995).

El proceso de hidrólisis a que son sometidas las paredes celulares de la planta a nivel del rumen produce glucosa y azúcares que son captados hacia el interior de los microorganismos, dando lugar a pirúvato, en esta acción se libera trifosfato de adenosina (ATP) que constituye la mayor fuente de energía para el mantenimiento y crecimiento de la población microbiana (García y col.; 1995).

A partir de pirúvato y en condiciones de anaerobiosis, se forman los productos finales de la fermentación de los carbohidratos, fundamentalmente los ácidos grasos volátiles (AGV) de cadena corta: acético, propiónico y butírico, que serán absorbidos a través de las paredes del complejo retículo-rumen-omaso. Estos a pesar de ser los productos finales del metabolismo de los microorganismos, contienen todavía gran cantidad de energía para ser utilizada por el rumiante, integrándola en su metabolismo aerobio (García y cols., 1995).

#### 2.9.2. Digestión de proteínas.

Gran parte de la proteína procedente del alimento sufre procesos fermentativos en el rumen; por ello el rumiante depende casi exclusivamente de la biomasa de proteínas microbianas que abandona el rumen y pasa hacia porciones posteriores del aparato digestivo. Sólo una pequeña proporción de la proteína alimentaria escapa de la digestión microbiana (by-pass).

Por otro lado, los microorganismos dependen del amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) extracelular para la síntesis de proteína; en condiciones de escasa proteína en el alimento, los rumiantes son eficientes conservadores de nitrógeno, por el contrario, con altas cantidades de proteína se produce un exceso de  $\text{NH}_3$  en el retículo-rumen que será absorbido a través de su pared. A partir de este  $\text{NH}_3$  se forma en el hígado urea mediante el ciclo urea-ornitina y se produce una importante pérdida de la misma a través del riñón, este hecho supone el desaprovechamiento de la proteína alimentaria (García y cols. ; 1995).

### 2.9.3. Digestión de las grasas.

En el rumen los microorganismos producen la hidrólisis de los triglicéridos procedentes del alimento que consume el animal, generando glicerol y ácidos grasos. El glicerol, por fermentación microbiana, da lugar principalmente a la formación de ácido propiónico (gluconeogénico). Los ácidos grasos de tipo insaturado, debido al ambiente fuertemente reductor del retículo-rumen, se hidrogenan y dan lugar a ácidos grasos saturados, que serán posteriormente absorbidos. Por ello, aunque lípidos del alimento sean insaturados, tanto la grasa corporal como la de la leche en los rumiantes serán ricas en ácidos grasos saturados (García y cols.; 1995).

### 2.10. Nutrición y alimentación ovina.

Los ovinos y otros rumiantes tienen la capacidad de transformar materiales lignocelulósicos, que no pueden ser aprovechados directamente como alimento por el hombre (forraje, esquilmos y subproductos agroindustriales), transformándolos en productos para consumo humano (leche y carne). Esta habilidad se logra gracias a la actividad que desempeña la microbiota ruminal (bacterias, protozoarios y hongos). Por lo que los ovinos

juegan un papel importante en la transformación de alimentos para el hombre (Shimada y cols. 1986; INRA 1990; Mejía 1998).

Los microorganismos del rumen adquieren energía de la fermentación de azúcares y de esqueletos carbonados de otros compuestos orgánicos que obtienen del alimento. Los productos resultantes de ésta fermentación, son una mezcla de AGV (acético, propiónico y butírico, principalmente), que son absorbidos a través de las paredes del rumen, retículo y omaso, así como gases que son expulsados del rumen (García y cols., 1995).

La cantidad de AGV que son producidos y absorbidos, es proporcional a la cantidad de MO que es fermentada en el rumen por la microbiota, y por consiguiente se relaciona con la masa microbiana producida (Van Soest, 1982; INRA, 1990).

Los requerimientos de proteína para rumiantes, normalmente se llenan con dos fuentes: la proteína de origen microbiano generado a nivel del rumen que será disponible a nivel pos-ruminal y la proteína alimentaria que escapa a la acción de la microbiota ruminal y que es digerida en el intestino delgado, llamada proteína de sobrepaso (Van Soest, 1982; Villalobos y cols. 2000).

En el rumen, las enzimas de los microorganismos simbiosas degradan una parte de las proteínas en elementos más simples, produciendo sucesivamente péptidos, aminoácidos y  $\text{NH}_3$  como producto final. Los constituyentes no protéicos procedentes en el alimento son degradados rápidamente y casi en su totalidad en  $\text{NH}_3$ .

La digestión de las proteínas alimentaria que tiene lugar en el abomaso y en el intestino delgado es similar a la existente en los monogástricos, donde la proteína es hidrolizada por las enzimas abomasales (pepsina) y pancreáticas (tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidasa y aminopeptidasa), reduciéndola en péptidos, oligopéptidos y aminoácidos.

La absorción de los aminoácidos se realiza en el intestino delgado, y una fracción de proteína alimenticia y microbianas pasa a las heces (Shimada y cols. 1986, INRA 1990, Villalobos y cols. 2000).

#### 2.10.1. Sistemas de producción ovina en México.

La producción de carne de borrego bajo condiciones de pastoreo es un proceso lento y poco eficiente, bajo éste sistema los borregos logran llegar a su peso corporal de mercado (30 kg) entre 1 y 2 años de edad, presentando una alta mortalidad y bajos rendimientos. La situación actual del mercado de carne de borrego sugiere que la engorda de borrego se realice ya sea en praderas cultivadas con elevada producción de forraje y de excelente calidad nutritiva o bien, bajo condiciones de confinamiento, lo cual hoy en día representa una alternativa técnicamente factible y económicamente rentable. (Sánchez, 1997; De Lucas y cols., 2003).

Sin embargo, al realizar la revisión de literatura se encontró un vacío en la información referente a la evaluación de forraje del género *Lupinus*, sobre todo de aquellos de producción nativa como las especies *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus*, sobre todo para su posterior empleo como insumo alternativo en la alimentación de ovinos y caprinos.

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En Jalisco existen diversas leguminosas nativas cuyo forraje presenta un potencial susceptible de ser empleadas como fuente proteica en la alimentación de pequeños rumiantes. Como es el caso de los *Lupinus* silvestres que se encuentran ampliamente distribuidos en zonas por arriba de los 1500 msnm, sin embargo los factores anti-nutrimientales (alcaloides) pudieran afectar la salud del animal que la consume, es por ello que deben ser tratadas previo a su utilización.

El proceso de henificación al sol es un tratamiento que puede disminuir estos factores negativos y por otro lado conservar su valor nutritivo.

#### 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 henificado 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.



### 3. Objetivo general.

Por lo anteriormente expuesto y considerando que en México la información sobre la actividad nutrimental del género *Lupinus* en ovinos y caprinos es limitada se realizó este estudio cuyo objetivo general consistió en evaluar mediante la cinética de degradación, la tasa de desaparición de los nutrimentos y alcaloides quinolizidínicos presentes en *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus* en dos tiempos de corte (90 y 180 días).

#### 3.1. Objetivos específicos.

- 1.- Medir la tasa de desaparición de la FDA, FDN, PC y MS del forraje de *L. exaltatus* y *L. rotundiflorus* con 90 y 180 días de edad al corte.
- 2.- Cuantificar el contenido de alcaloides quinolizidínicos a las 0, 6, 12, 24, 48, 96 horas de exposición ruminal de las dos especies de *Lupinus* y de los dos tiempos de corte.
- 3.- Determinar la cinética de degradación en rumen (fracción degradable, fracción no degradable, fracción soluble y tasa de degradabilidad) de la PC, FDA, FDN y MS.

## 1.2. Hipótesis.

El proceso de henificación al sol del forraje del género *Lupinus*, disminuye la concentración de factores anti-nutricionales como los alcaloides, ya que algunos de ellos son hidrosolubles, e incrementa la concentración de proteína. Además, mediante el conocimiento de la cinética de la desaparición ruminal de éstos compuestos se pueden establecer las bases para su inclusión en la alimentación de ovinos y caprinos como forraje alternativo.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS.

#### 3.1.- Fase de campo.

##### 3.1.1. Localización y establecimiento de praderas.

El presente trabajo se realizó en las instalaciones de las áreas experimentales del Departamento de Producción Animal del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, ubicado en el kilómetro 15.5 carretera a Nogales, predio "Las Agujas", Nextipac, Zapopan, Jalisco.

La temperatura media anual el lugar de siembre es de 23.5°C, y tiene una precipitación anual promedio de 906.1 milímetros, con régimen de lluvia comprendido 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.

Se sembraron dos especies silvestres de *Lupinus* (*L. rotundiflorus* y *L. exaltatus*) las cuales fueron obtenidas en la Sierra de Tapalpa y de las faldas del nevado de Colima, respectivamente. Las semillas de las dos especies de *Lupinus* se sembraron en un terreno con una superficie de 12 x 30 m con la finalidad de obtener el material vegetal para posterior henificado.

El material de cada una de las especies de *Lupinus* fue cortado a la edad de 90 y 180 días, posteriormente se henificó extendiéndolo al sol. Muestras del forraje henificado se molió hasta alcanzar un tamaño de partícula de 1 mm empleando un molino marca Willey en el laboratorio de nutrición animal del Departamento de Producción Animal del CUCBA. Muestras representativas de cada uno de los materiales vegetales obtenidos se depositaron (2 g aprox.) en bolsas de nylon estandarizadas (1600 perforaciones/ cm<sup>2</sup>), las que fueron selladas con calor, posteriormente se determinó la concentración de MS en una estufa a 70°C durante 24 h, y por último se pesaron.

### 3.1.2. Canulación de borregos.

Se utilizaron cuatro borregos encastados de la raza Pelibuey de aproximadamente 35 kg de peso vivo, los cuales se fistularon quirúrgicamente en el quirófano de las áreas experimentales del Departamento de Producción Animal del CUCBA y posteriormente se canularon a nivel del rumen. Lo anterior obedeciendo los lineamientos establecidos en la NOM-062-ZOO-1999.

Los animales canulados se sometieron a un período de adaptación de 15 días post-operatorio con una ración al 25% de inclusión de forraje de *Lupinus* de las dos especies estudiadas lo cual se hizo de una forma paulatina.

### 3.1.3. Descripción de toma de muestras.

Tiempo 0 – Consiste en 14 bolsas, divididos de la siguiente manera: 3 bolsas con *L. exaltatus* de 90 días, 3 bolsas con *L. rotundiflorus* de 90 días, 3 bolsas con *L. exaltatus* de 180 días y 3 bolsas con *L. rotundiflorus* de 180 días, más 2 bolsas blanco sin nada. En éste tiempo no se depositaron las bolsas dentro del rumen, tan solo se lavaron en 5 recipientes diferentes con 5 litros de agua a temperatura ambiente durante 5 minutos. Los otros tiempos fueron manejados de la misma forma, solo que estos si se depositaron en el rumen y fueron retirados a las 6, 12, 24, 48 y 96 h.

Después de pasado el tiempo antes mencionado, las bolsas retiradas del rumen se depositaron en una estufa a 70°C, donde permanecieron durante 24 h, luego se pesaron y el valor se registró. El material seco se conservó en bolsas herméticas para el posterior análisis nutrimental en el laboratorio.

### 3.1.4. Fase de laboratorio.

Las actividades de análisis químico de los residuos de la incubación a nivel del rumen del ovino y de los ingredientes se realizó conjuntamente en los laboratorios de Nutrición Animal del Departamento de Producción Animal y el laboratorio de Biotecnología del Departamento de Botánica del CUCBA.

Material residual representativo que se encontraba contenido en las bolsas de todos los tratamientos fue empleado para la determinación de MS, PC, y fracciones de fibra (FDA y FDN) (AOAC, 1990), así como a la extracción de alcaloides según el método propuesto por Przybylak y cols. (2005).

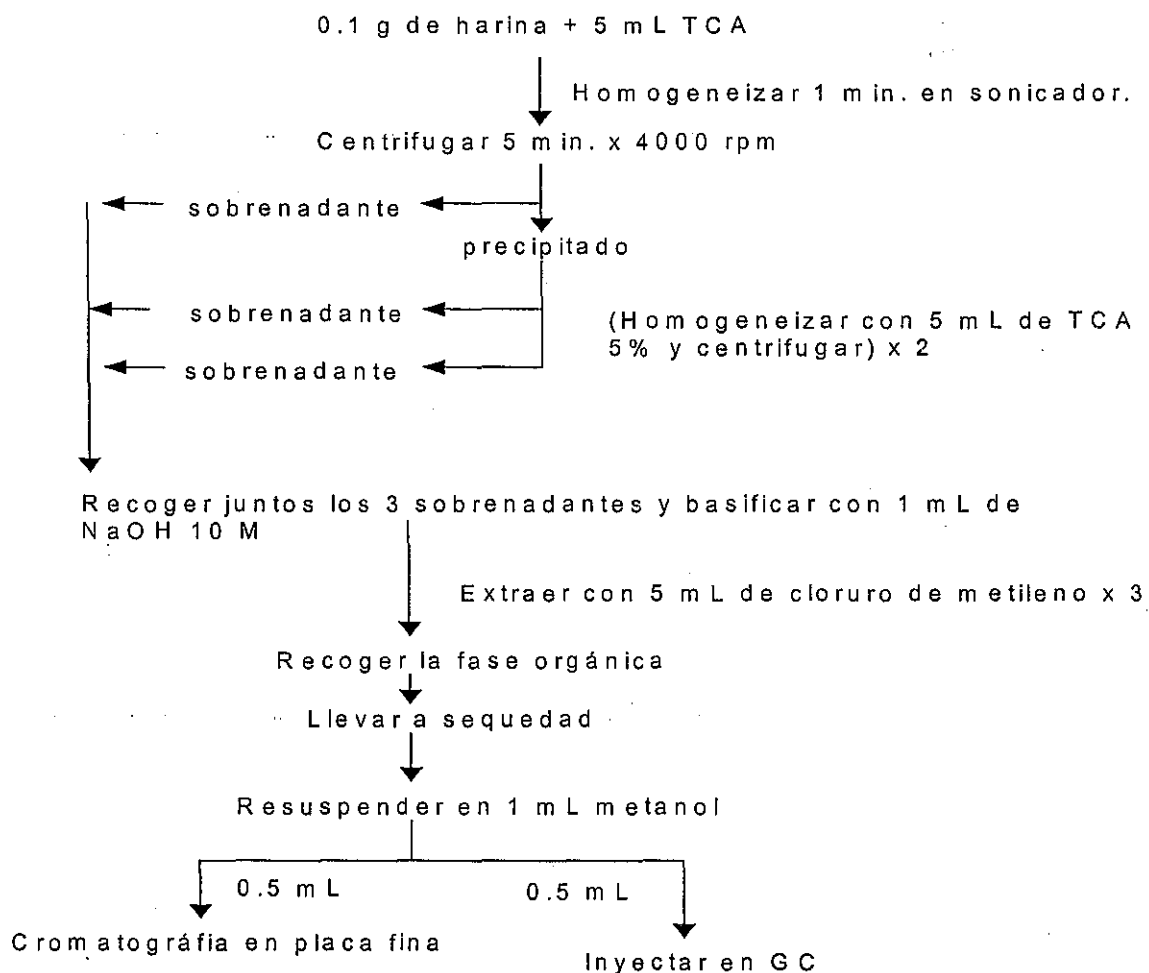


Figura 4. Esquema de extracción de alcaloides (Przybylak y cols., 2005).

Una vez que se obtuvieron los datos de análisis, se realizaron los cálculos necesarios para determinar la cinética de degradación. Las curvas de degradabilidad ruminal (cinética) de MS, PC, FDA y FDN de cada tratamiento en estudio se ajustaron al modelo no lineal propuesto por McDonald, el cual es el siguiente:

$$Y = a + b (1 - e^{-kd \cdot t})$$

Donde:

Y = Degradación en función del tiempo (t).

a = Intercepto de la curva de degradación al tiempo cero y representa la fracción soluble que se degrada rápidamente.

b = Fracción insoluble pero potencialmente degradable.

e = Base de logaritmos naturales.

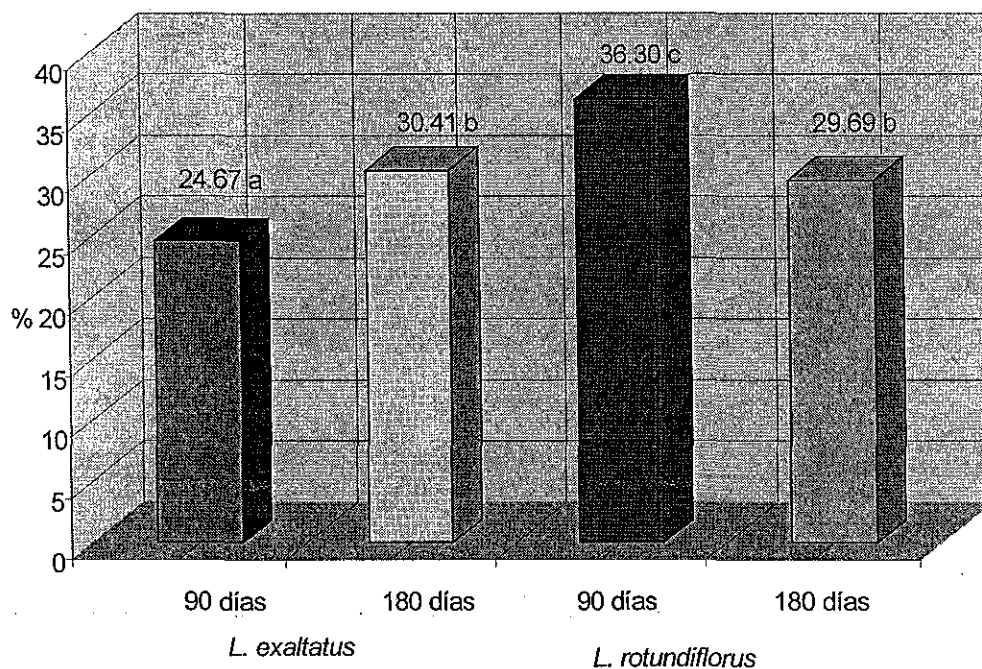
kd = Tasa constante de degradación (%/h).

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis utilizando el programa del paquete estadístico SAS para determinar el efecto de la especie de *Lupinus* sí como edad del mismo sobre la desaparición de cada uno de los nutrimentos. La diferencia estadística entre los tratamientos evaluados fue declarada con un alfa de 0.05. Cuando existió diferencia entre ellos se empleó el método de Duncan para separar los promedios.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En el presente estudio el porcentaje correspondiente a la fracción degradable a nivel ruminal de la materia seca (**MS**) del forraje de lupino, fue mayor para el *L. rotundiflorus* comparativamente con el *L. exaltatus* ( $P < 0.05$ ; 32.72 vs. 27.54%, respectivamente), probablemente debido a la mayor cantidad de follaje en éste. Pero cuando se consideró la edad al corte no se observaron diferencias en el parámetro antes mencionado siendo en promedio de 30.13% ( $P > 0.05$ ). Por otro lado el efecto de la interacción entre la especie de lupino y la edad sobre la porción degradable fue significativa ( $P < 0.05$ ; Gráfica 1).

Gráfica 1. Fracción degradable de la materia seca de dos edades de corte y dos especies de lupino.



a-c.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

Murillo y cols. (2003) reportan valores de degradabilidad ruminal total de la MS de un 55% cuando la alfalfa era henificada al sol, lo que resulto ser aproximadamente 20 puntos porcentuales por encima a lo que encontrado en el presente estudio, ya que se observó 32.72% para el *L. rotundiflorus* y un 27.54% para el *L. exaltatus*. Dicha diferencia en los datos de alfalfa con el lupino pudiera ser debida simplemente a que las primeras son especies mejoradas genéticamente para la producción de forraje y las que fueron evaluadas en el presente experimento de degradabilidad son especies silvestres de nuestra región, las que representan una fuente alternativa de nutrimentos para el productor ovino.

Por otro lado, Juárez y cols. (2001) reportan que el forraje de huizache (*Prosopis leavigliata*) presentó un 51.3% de fracción degradable de la materia seca y un 22.4% correspondiente a la porción soluble en ovinos de la raza Rambouillet. Lo observado por los autores es por encima de lo encontrado en el presente experimento probablemente se deba a que ellos emplearon solo el follaje y en éste estudio fue la planta completa incluyendo tallos.

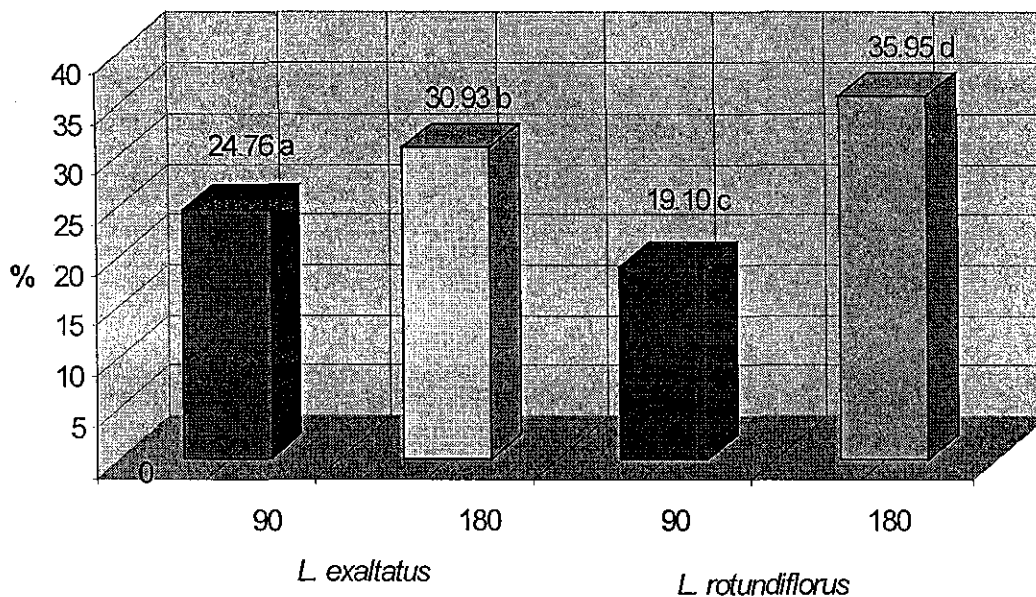
Por otro lado, la fracción no degradable de la MS del forraje de lupino promedió en lo general 27.8%, sin presentar una variación significativa por efecto de la especie vegetal empleada ( $P > 0.05$ ). Sin embargo dicho parámetro se vio incrementado a medida que se incrementaba la edad del forraje ( $P < 0.05$ ; 22.24 vs. 33.37% para 90 y 180 días de edad al corte).

Dicho aumento pudiera simplemente ser un reflejo metabólico del acumulo de paredes celulares por parte de la planta, en especial de sus carbohidratos estructurales como lo menciona Lyons y cols. (1996), quienes en su reporte de extensión reportan de manera general que la planta hace la redistribución de nutrimentos a medida que aumenta la edad al corte del forraje, pasando de ser follaje a tallos.



Por otro lado, la interacción entre la especie de lupino y la edad de los mismos en su efecto sobre la fracción no degradable resultó con significancia estadística ( $P < 0.05$ ; Gráfica 2). Lo cual apoya lo reportado por Lyons y cols. (1996) respecto a los cambios observados con la edad de la planta, donde se aumenta la concentración de compuestos estructurales con posiblemente una baja degradabilidad a nivel del tracto gastrointestinal de los animales, incluyendo a los rumiantes.

Gráfica 2. Fracción no degradable de la materia seca de dos edades de corte y dos especies de lupino.

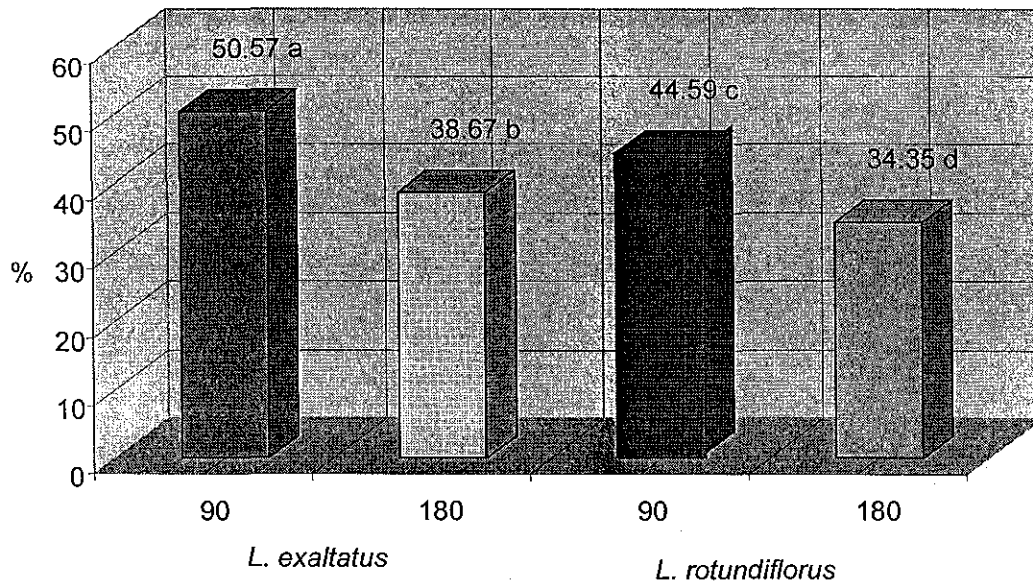


a-d.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

Tomando los valores reportados por Ortiz y cols. (2003) se estima que la fracción no degradable (45.5%) del heno de alfalfa es superior a lo que se reporta en el presente trabajo (22.0%) para los 90 días de corte y (33.5%) para los 180 días de corte en ambas especies.

En cuanto a la fracción soluble de la MS se encontró un efecto significativo del tipo forraje de lupino ( $P < 0.05$ ), siendo mayor en 5 unidades porcentuales en la especie *L. exaltatus*, comparado con la cantidad observada en el *L. rotundiflorus*. Además, la misma variable al ser evaluada a los 90 días de edad presentó 9 unidades porcentuales por encima de la encontrada con los 180 días ( $P < 0.05$ ). Dicho comportamiento pudiera reflejar la cantidad de compuestos con capacidad de diluirse en líquido del forraje joven.

Gráfica 3. Fracción soluble de la materia seca de dos edades y dos especies de lupino.

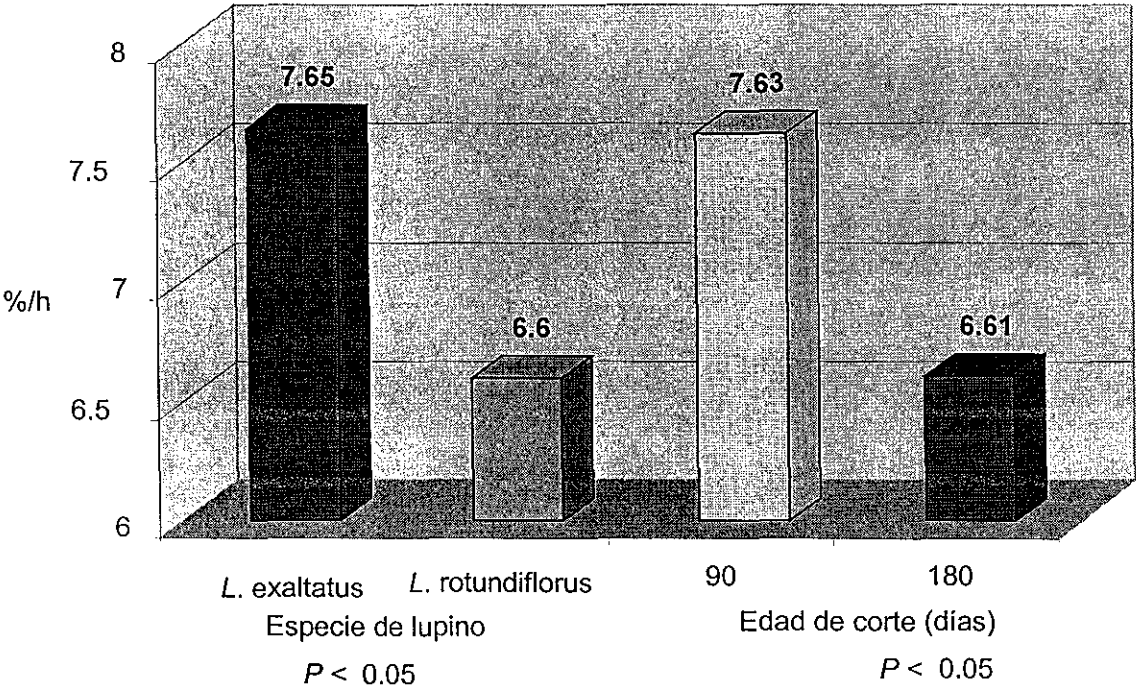


a-d.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

En cuanto a la tasa de degradación de la MS del forraje de lupino se encontró que fue mayor para *L. exaltatus* que para *L. rotundiflorus* ( $P < 0.05$ ; Gráfica 4) así mismo para el factor edad se encontró diferencia significativa, siendo mayor a los 90 días de corte.

Juárez y cols. (2001) reportan que el forraje de huizache (*Prosopis leavigliata*) mencionan que el mezquite (*Mimosa biusifera*) presentaba una tasa de degradación y la degradabilidad efectiva de la materia seca era más alta que la del huizache con un 16.5%/h y 60.5% respectivamente.

Gráfica 4. Tasa de desaparición de la materia seca del forraje de lupino.



Albarran y cols. (1997) reportan valores de digestibilidad *in situ* de la materia seca de la semilla y frutos de leguminosas arbustivas como la parota (*Enterolobium cyclocarpum*), mezquite (*Prosopis juliflora*) y la guaje (*Leucaena leucocephala*), de 60, 30 y 25%, respectivamente.

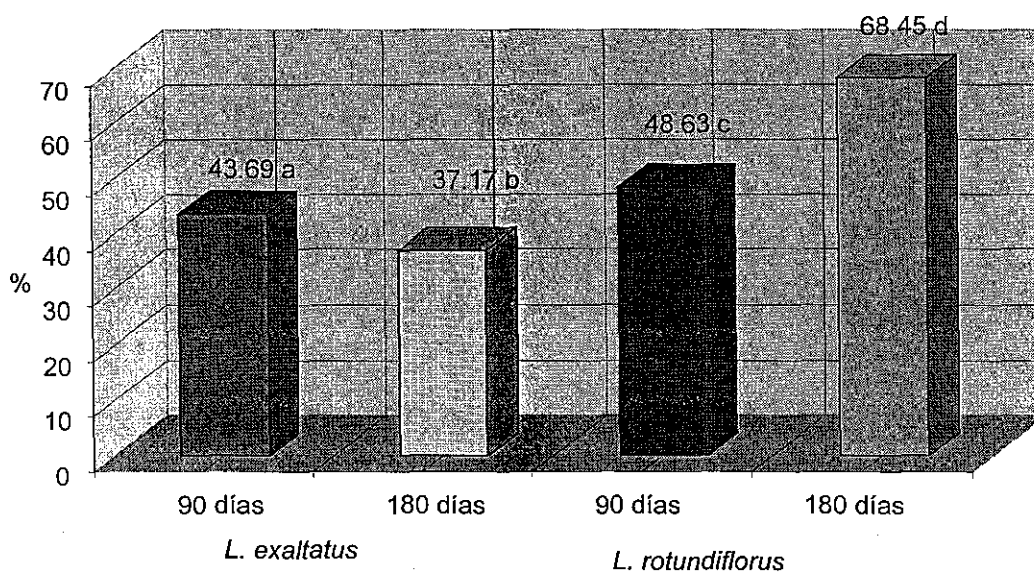
Por otro lado Ku-Vera y cols.(2005) reportan una tasa de degradabilidad para la materia seca de *B. alicastrum*, *G. ulmifolia*, *E. tinifolia* y *G. sepium* de 10.5, 5.1, 1.9 y 1.06% respectivamente: valores muy semejantes e incluso inferiores a los reportados en el presente trabajo.

Cuadro 3. Cinética de desaparición ruminal de la materia seca del forraje de lupino.

Especie	<u>L. exaltatus</u>		<u>L. rotundiflorus</u>	
	90	180	90	180
Fracción				
degradable, %	24.67	30.41	36.30	29.69
no degradable, %	24.76	30.93	19.10	35.95
soluble, %	50.57	38.67	44.59	34.35
Tasa de				
desaparición, kd/h	8.49	6.81	6.70	6.44

La fracción degradable a nivel ruminal de la proteína cruda fue mayor para el forraje de *L. rotundiflorus* que para *L. exaltatus* ( $P < 0.05$ ; Gráfica 5) al mismo tiempo que la edad de corte tuvo un efecto, siendo mayor cuando más adelantada en días ( $P < 0.05$ ). Lo anterior muestra el potencial del forraje de lupino como fuente de proteína. Además la interacción especie de lupino con la edad de corte mostró significancia sobre el parámetro estudiado ( $P < 0.05$ ; Cuadro 4).

Gráfica 5. Fracción degradable de proteína cruda de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.



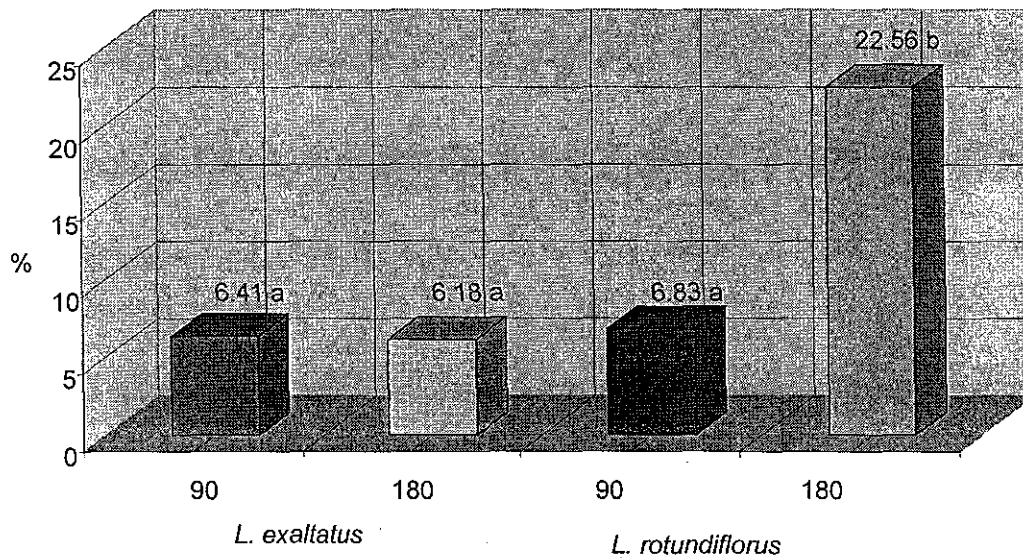
a-d.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

Por otro lado Albarran y cols. (1997) reportan una degradabilidad de proteína cruda para fruto y semilla el *E. cyclocarpum* de 45 - 55% y para el *P. juliflora* de 96%. También mencionan que los valores de digestibilidad de proteína del follaje es menor, con rangos generales de 18 a 25% para parota y de 42 a 43% para el mezquite, los cuales son muy semejantes a los del forraje de lupino.

Por otro lado Ku Vera y cols. (2005) reportan valores de degradabilidad de la proteína cruda contenida en *B. alicastrum*, *G. ulmifolia*, *E. tinifolia* y *G. sepium* de 95.19, 83.60, 45.50 y 94.50%, respectivamente. Los anteriores valores se ubican muy por arriba de la observada para el forraje del género *Lupinus*, en especial con las especies empleadas en el presente estudio.

Así mismo, el porcentual de la fracción no degradable de la proteína del forraje de lupino fue más elevado para la especie *L. rotundiflorus* que para la *L. exaltatus* ( $P < 0.05$ ); el factor también aumentó cuando la planta tenía 180 días de edad al corte ( $P < 0.05$ ; Gráfica 6). Lo cual refleja de cierta manera aquella fracción que pasará del complejo retículo-rumen hasta el abomaso e intestino delgado, donde las enzimas pudieran afectar su estructura y lógicamente el excedente de la misma será excretado en heces.

Gráfica 6. Fracción no degradable de proteína cruda de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.

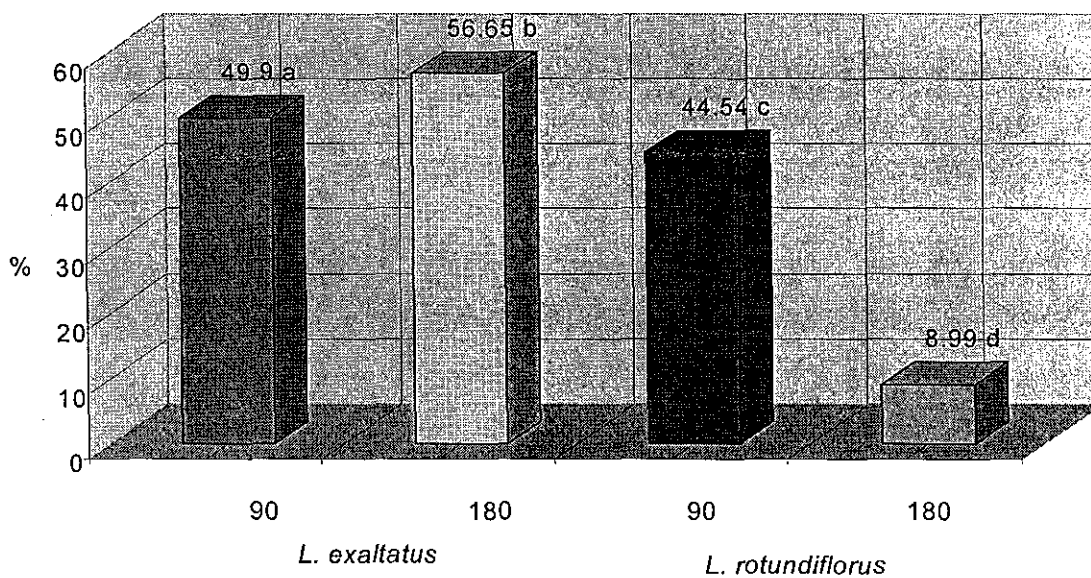


a-b.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

Ku Vera y cols. (2005) reportaron valores de proteína sobrepasante o no degradable en rumen para arbustos y arbustivas que variaba de 55 hasta 5%. Por otro lado, Albarran y cols. (1997) reportan para frutos y semillas de arbustos valores que oscilaban de 55-45% de fracción que sobrepasa del rumen y llega al abomaso del rumiante.

La fracción soluble de la proteína cruda del forraje presentó su mayor porcentaje con la especie *L. rotundiflorus* ( $P < 0.05$ ), observándose además que cuando la edad de corte fue de 90 el valor fue mayor al observado a los 180 días (Gráfica 7). También se encontró que la interacción especie del forraje y edad de corte afectaba el parámetro ( $P < 0.05$ ; Cuadro 5). La presente porción será empleada por la microbiota presente en el rumen, principalmente para la formación de compuestos nitrogenados que le sirvan al animal y a los microbios, principalmente bacterias.

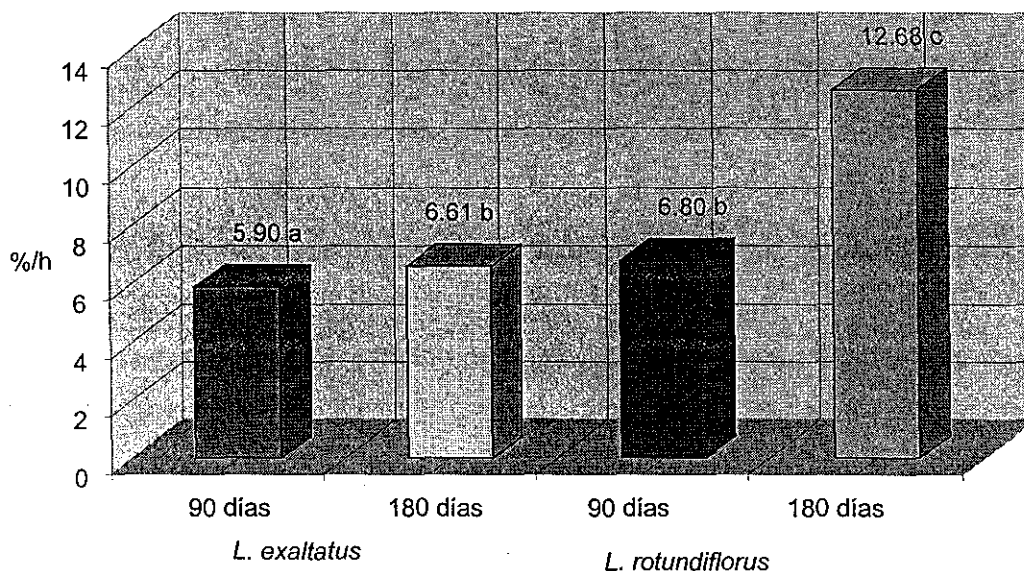
Gráfica 7. Fracción soluble de proteína cruda de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.



a-d.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

La tasa de desaparición (%/hora) a nivel ruminal de la proteína contenida en el forraje presentó valores mayores para la especie *L. rotundiflorus* en comparación con la *L. exaltatus* ( $P < 0.05$ ). Además, la respuesta de la tasa de desaparición a nivel ruminal varió con la edad de corte, siendo mayor a los 180 ( $P < 0.05$ ; Gráfica 8). Por otro lado, la interacción entre la especie y la edad de la planta afectó la tasa ( $P < 0.05$ ).

Gráfica 8. Tasa de degradación de la proteína cruda de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.



a-c.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

Empleando arbustos y arbustivas, Ku Vera y cols. (2005) reportaron valores de tasa de desaparición que oscilaban de 5-14%/h, los cuales son muy similares a los observados en el presente estudio con forraje de lupino, incluyendo las dos especies en esta aseveración.

Sin embargo, estudios comparativos similares no fueron encontrados en la literatura publicada sobre la cinética de degradación a nivel del rumen del ovino, por lo que las anteriores comparaciones solo tratan de encontrar semejanzas.

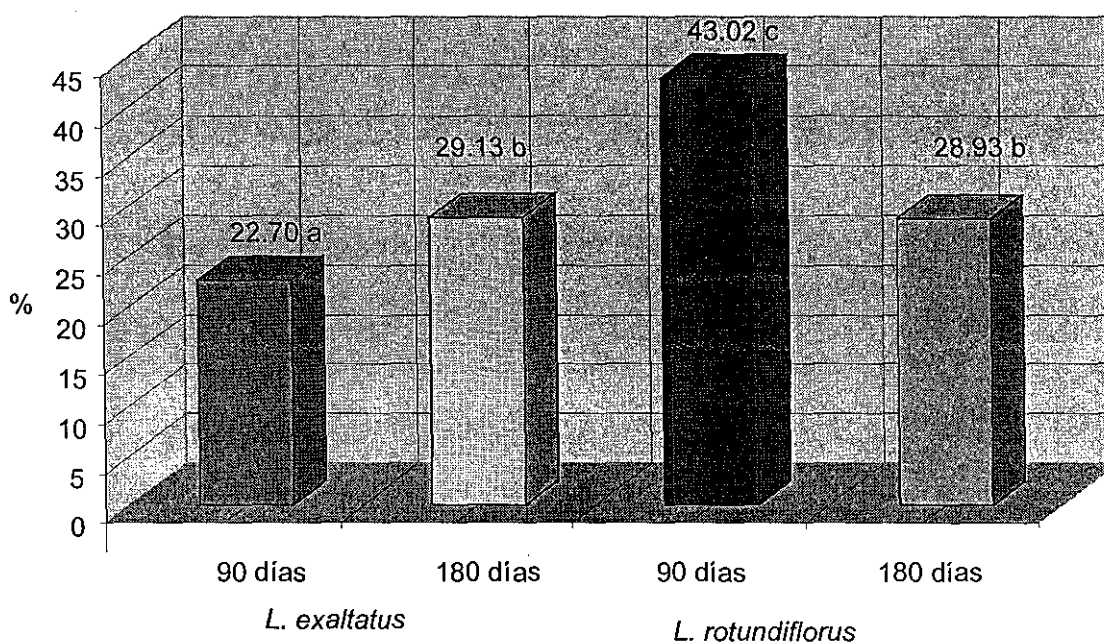


Cuadro 4. Cinética de desaparición ruminal de la proteína del forraje de lupino.

Espece	<u><i>L. exaltatus</i></u>		<u><i>L. rotundiflorus</i></u>	
Edad al corte, días	90	180	90	180
Fracción				
degradable, %	43.69	37.17	48.63	68.45
no degradable, %	6.41	6.18	6.83	22.56
soluble, %	49.90	56.65	44.54	8.99
Tasa de desaparición, kd/h	5.90	6.61	6.80	12.68

El porcentaje de la fracción degradable de la fibra detergente neutro (FDN) del forraje de lupino fue mayor ( $P < 0.05$ ) en la especie *L. rotundiflorus* comparado con la *L. exaltatus*. De igual manera la fracción fue mayor cuando el forraje se cortó a los 90 en comparación con el obtenido a los 180 días (Gráfica 9), y esto se comprueba con el efecto de la interacción de la especie y la edad de corte, en donde se aprecia un valor significativo en la especie *L. rotundiflorus* de 90 días de corte ( $P < 0.05$ ; Cuadro 5).

Gráfica 9. Fracción degradable de la FDN en dos edades de corte y dos especies de lupino.



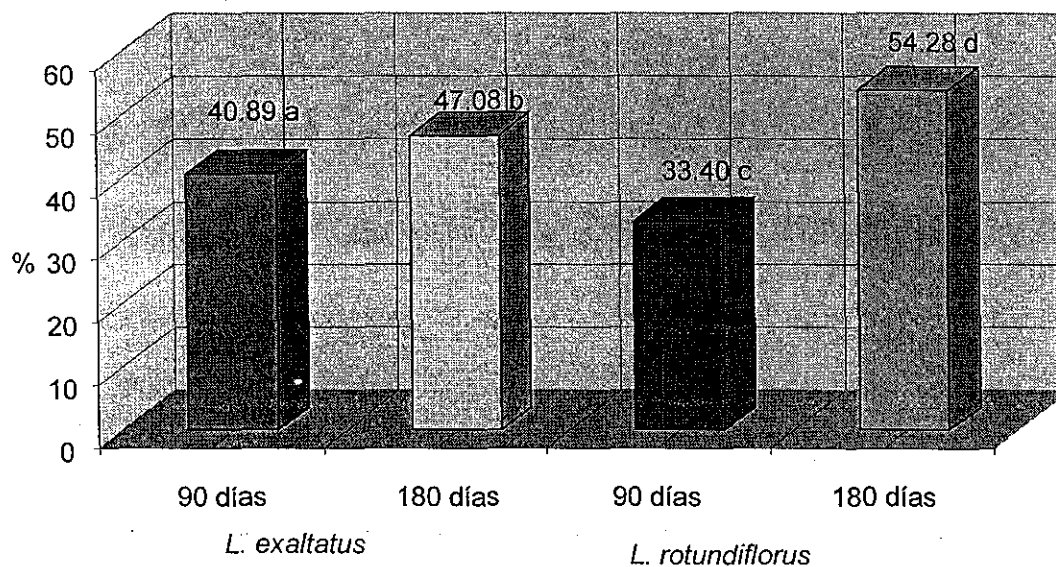
a-c.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

La gráfica anterior demuestra el potencial de utilización de los carbohidratos estructurales que contiene la especie *L. rotundiflorus*, la cual fue mayor que la observada en los otros tratamientos y por lo tanto refleja la energía potencialmente utilizable almacenada en esta porción.

Sin embargo, las referencias que hacen alusión a la fracción degradable de las paredes celulares de los arbustos y arbustivas son escasas y generalmente se refieren solo a la proteína y la materia orgánica.

La fracción no degradable de la FDN del forraje no presentó diferencia significativa entre las especies de lupino evaluadas ( $P < 0.05$ ) por efecto de la edad de corte, observándose el mayor porcentaje con el vegetal que tenía 180 días de edad (Gráfica 10). También se encontró que el efecto de la interacción edad de corte y especie de lupino, específicamente el *L. rotundiflorus* de 180 días fue diferente estadísticamente a los otros forrajes evaluados ( $P < 0.05$ ).

Gráfica 10. Fracción no degradable de FDN de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.

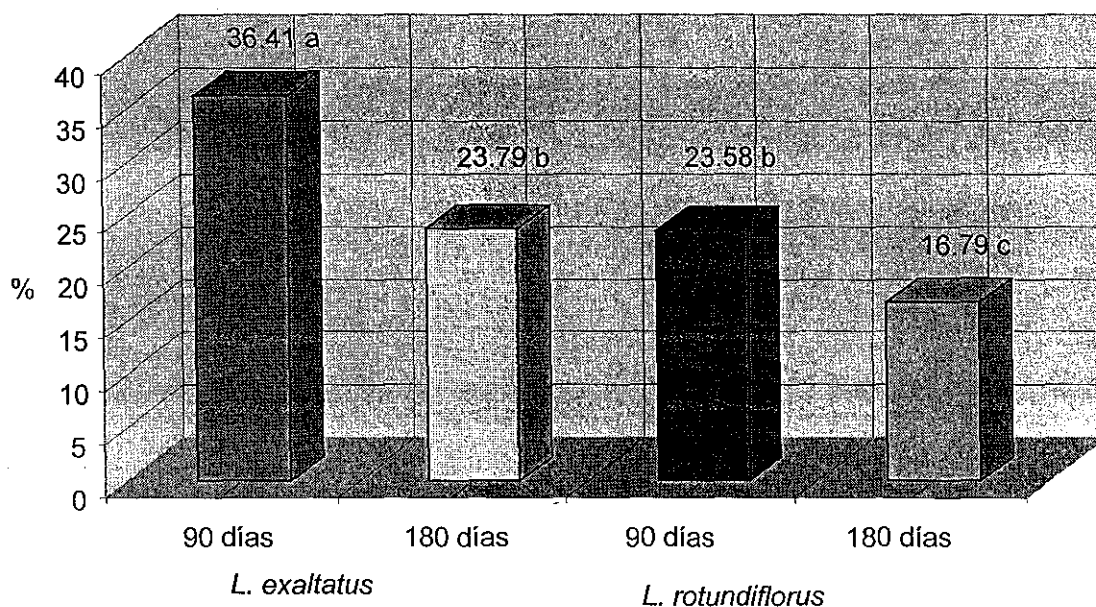


a-d.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

Esta fracción refleja simple y sencillamente aquella porción de la FDN que resiste la acción de la microbiota ruminal y que pasará a duodeno, permitiendo una ligera fermentación a nivel del intestino grueso y posterior excreción.

La fracción soluble a nivel ruminal de la FDN del forraje de lupino presentó valores mayores en el *L. exaltatus* por encima de los encontrados con el *L. rotundiflorus* ( $P < 0.05$ ; Gráfica 11). Por otro lado, se observó que cuando la edad del forraje se tomaba como tratamiento, el forraje con 90 días al corte presentaba 10 unidades porcentuales por encima del que tenía solo 180 días ( $P < 0.05$ ). Además la interacción edad de corte y especie de lupino presentó un efecto significativo sobre el mismo parámetro ( $P < 0.05$ ).

Gráfica 11. Fracción soluble de la FDN de dos especies de lupino en dos tiempos de corte..

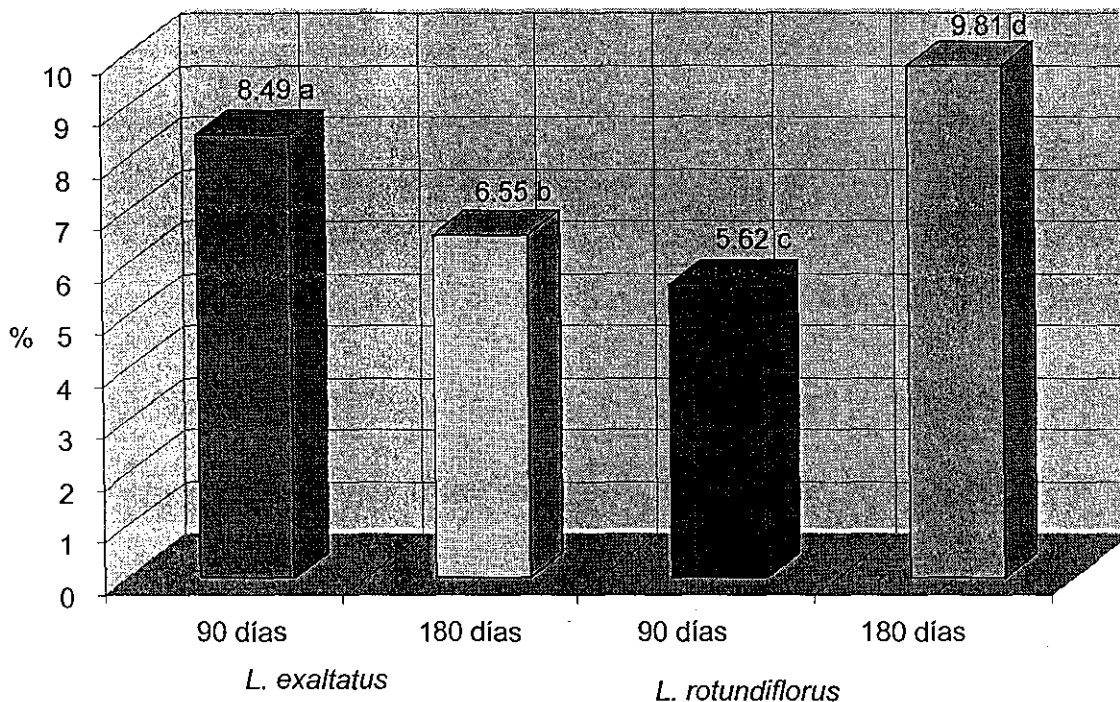


a-c.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

El parámetro representa las paredes celulares del forraje de lupino que servirán de sustrato para la formación de ácidos grasos volátiles por la microbiota dada su elevada cantidad de compuestos solubles en líquido a temperatura corporal como es el fluido ruminal, posiblemente incluyendo aquí a los compuestos lignocelulósicos potencialmente degradables a tasa elevada.

Por otro lado, la tasa de degradación de la FDN del forraje fue similar entre las dos especies de lupino evaluadas ( $P > 0.05$ ), pero en el forraje con una edad de 180 días la tasa de desaparición *in situ* fue más elevada comparado con el forraje que solo contaba con 90 días de edad al momento de su cosecha (Gráfica 12). La variable cambio por efecto de la interacción de la edad al corte y la especie de forraje que se evaluaba ( $P < 0.05$ ).

Gráfica 12. Tasa de degradación de FDN de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.



a-d.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

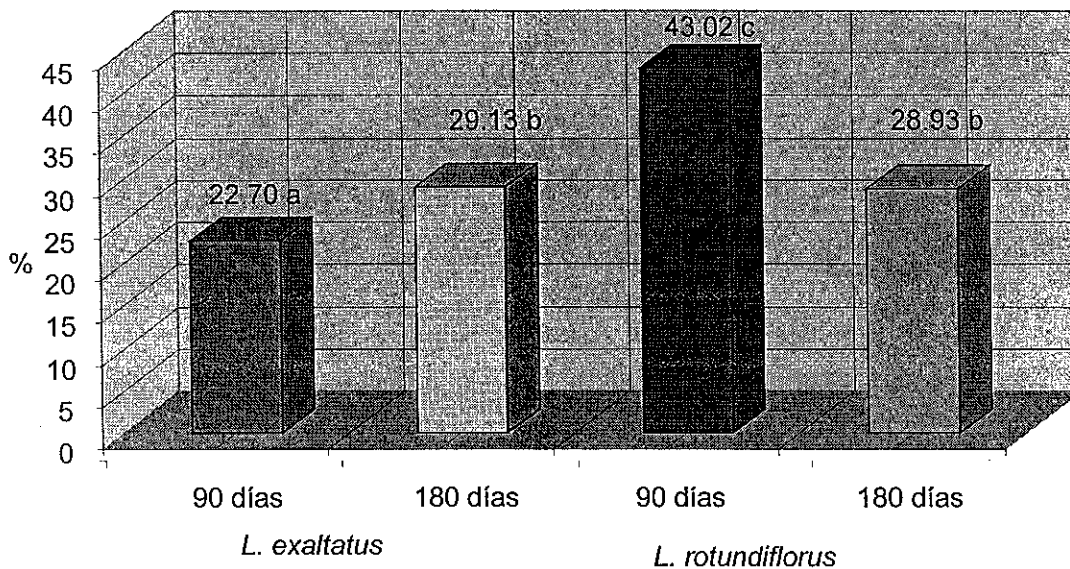
La porción refleja la velocidad a la cual es empleada la pared celular de la planta de lupino, observándose que el forraje de *L. rotundiflorus* fue degradado en menos tiempo posiblemente por su contenido en tejido vascularizado (fleoema y xilema) a esa edad fenológica. Además asociado con la porción que resiste la degradación se puede inferir que estimula la masticación.

Cuadro 5. Cinética de desaparición ruminal de la fibra neutro detergente del forraje de lupino.

Especie	<u>L. exaltatus</u>		<u>L. rotundiflorus</u>	
	90	180	90	180
Fracción				
degradable, %	22.70	29.13	43.02	28.93
no degradable, %	40.89	47.08	33.40	54.28
soluble, %	36.41	23.79	23.58	16.79
Tasa de				
desaparición, kd/h	8.49	6.55	5.62	9.81

La fracción de fibra detergente ácido (**FDA**) del forraje que se degradaba en el rumen fue mayor en el *L rotundiflorus* que en el *L exaltatus* ( $P < 0.05$ ; Gráfica 13), encontrándose un 10% más en el forraje que tenía 90 días de edad al momento de corte respecto al de 180 días ( $P < 0.05$ ). Encontrándose además efecto de la interacción edad de corte y especie de lupino sobre el parámetro ( $P < 0.05$ ; Cuadro 6).

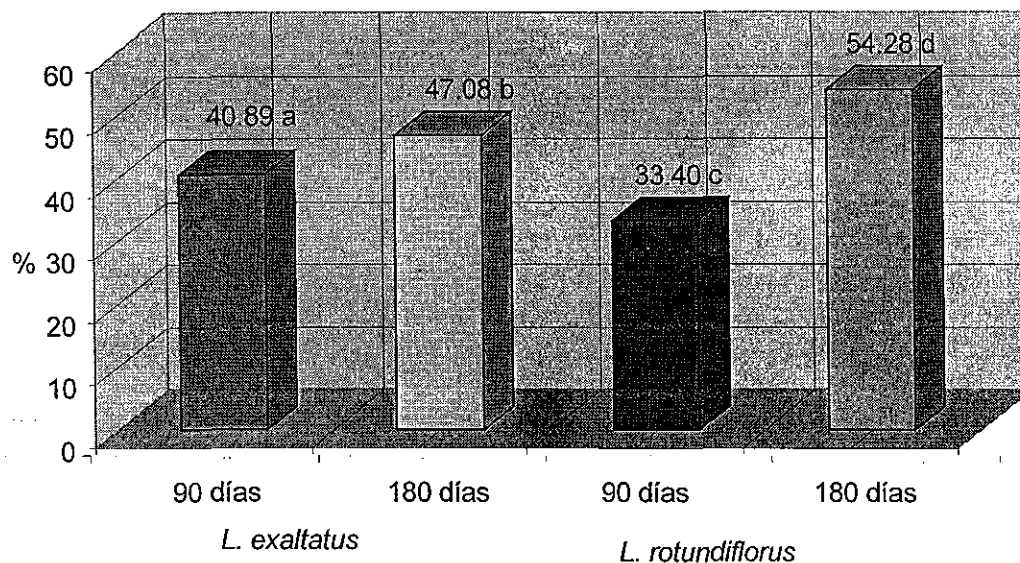
Gráfica 13. Fracción degradable de la FDA de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.



a-c.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

La fracción de FDA del forraje de lupino que no fue degradable fue similar entre especies ( $P < 0.05$ ; Gráfica 14), pero la edad al corte sí provocó diferencia estadística, siendo mayor a los 180 días ( $P < 0.05$ ). Además, la variable fue afectada por la interacción de los dos anteriores factores ( $P < 0.05$ ).

Gráfica 14. Fracción no degradable de la FDA de dos especies de lupino en dos tiempos de corte

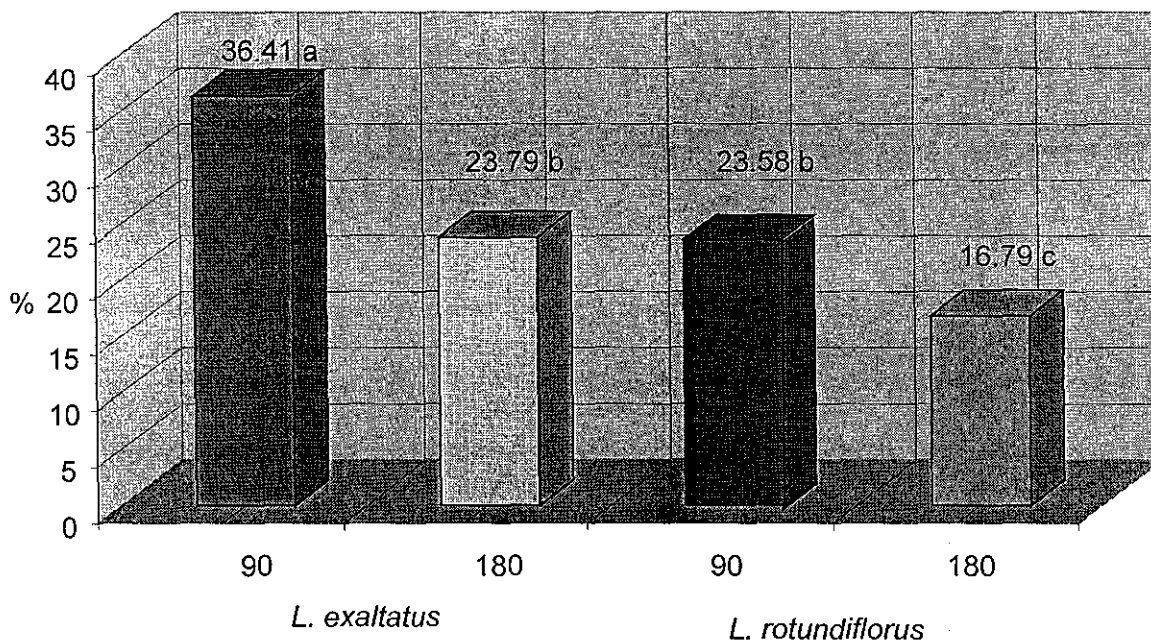


a-d.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

Por otro lado, se observó que la fracción soluble de la FDA presente en el forraje de lupino fue mayor en especie *L. exaltatus* en comparación con la *L. rotundiflorus* ( $P < 0.05$ ; Gráfica 15), además, la variable fue 10 unidades porcentuales mayor cuando el forraje tenía 90 días de edad al corte comparativamente con aquel que se cortó a los 180 ( $P < 0.05$ ). Lo anterior muestra la menor lignificación del vegetal al momento de ser cosechado, sobre todo en la combinación de la especie de lupino en combinación con la edad del mismo al corte. Observándose un diferencial del valor mayor al menor de 20 unidades porcentuales.



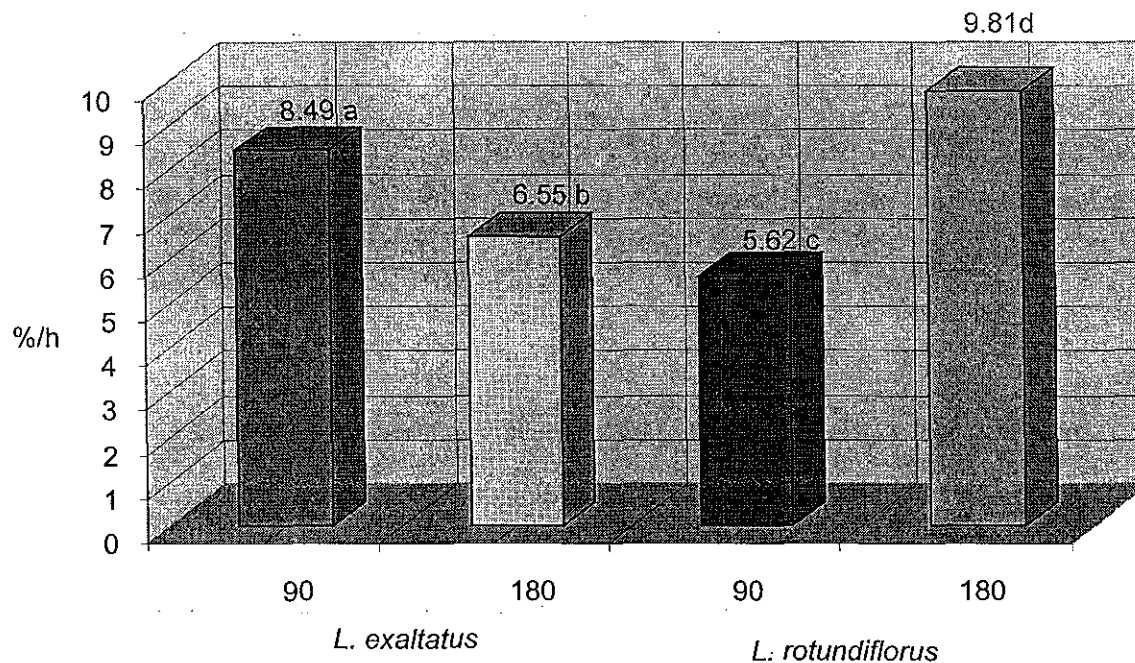
Gráfica 15. Fracción soluble de FDA de dos especies de lupino en dos tiempos de corte.



a-c.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

La tasa de degradación observada (%/h) en la fracción lignificada el forraje (FDA) de lupino fue mayor cuando se consideró el comparativo de la especie *L. exaltatus* respecto a la *L. rotundiflorus* ( $P < 0.05$ ; Gráfica 16). Cuando se consideró la edad del forraje, se encontró una ligera ventaja a los 180 respecto al forraje con 90 días ( $P < 0.05$ ). También varió con la interacción de los dos tratamientos anteriores ( $P < 0.05$ ).

Gráfica 16. Tasa de degradación de la FDA de dos especies de lupino en dos tiempos de corte



a-d.- Literales diferentes indica diferencia estadística ( $P < 0.05$ ).

Por otro lado, al analizar el contenido de alcaloides presente en el forraje y su variación en el tiempo de incubación a nivel del rumen no se encontró presencia de ellos en los residuos presentes en la bolsa retirada del rumen, es más, dichos compuestos estaban ausentes posterior a la inmersión inicial en el líquido del ruminal.

Lo anterior pone en evidencia la baja cantidad de alcaloides que sean insolubles en agua, teniendo su principal reservorio en la semilla. Pero la cantidad de semilla respecto a la porción vegetativa es menor al 10% de ésta y el impacto de los alcaloides es menos.

Los niveles de alcaloides que fueron encontrados mediante el análisis por cromatografía de los residuos presentes en las bolsas que se emplearon en la determinación de la cinética de desaparición a nivel ruminal de las dos especies de lupino en combinación con dos tiempos a los cuales fueron cosechados arrojaron los siguientes resultados: 10.58 mg de lupalina /g de muestra y 0.63 mg de 13 hidroxilupalina /g de muestra, no incubadas o lavadas.

Por otro lado se observó en el forraje en tiempo 0 que fue lavado con agua; 1.48 mg del alcaloide lupalina /g de muestra, sin encontrarse la presencia de 13 hidroxilupalina. Con el tiempo 6 horas de incubación a nivel ruminal se observaron valores de 0.52 mg de lupalina /g de muestra y completa ausencia de 13 hidroxilupalina.

Posteriormente, las muestras retiradas del rumen a las 24, 48 y 96 h no se encontraron niveles perceptibles por cromatografía de gases de ninguno de los dos alcaloides, esto muy probablemente debido a la solubilidad de los mismos al momento de lavar las bolsas después de ser retiradas del rumen como parte del procedimiento de la técnica de degradabilidad *in situ*. Lo anterior sugiere la necesidad de realización de pruebas para la segura afirmación y detección de los alcaloides residuales al no realizar el lavado de las bolsas posterior a su incubación en rumen.

Ninguna información publicada fue encontrada sobre el anterior fenómeno en rumiantes, por lo que se debe especular sobre la posibilidad que los dos alcaloides anteriores sean solubles en líquido con temperatura similar a la imperante en el medio ruminal, donde pudiera tener un efecto.

Cuadro 6. Cinética de desaparición ruminal de la fibra neutro ácido del forraje de lupino.

Especie	<u>L. exaltatus</u>		<u>L. rotundiflorus</u>	
	90	180	90	180
Fracción				
degradable, %	22.70	29.13	43.02	28.93
no degradable, %	40.89	47.08	33.40	54.28
soluble, %	36.41	23.79	23.58	16.79
Tasa de				
desaparición, kd/h	8.49	6.55	5.62	9.81

## CONCLUSIONES.

- Considerando los hallazgos observado en el presente experimento se concluye que la especie *L rotundiflorus* de 90 días al corte tiene más potencial como forraje para su uso en pequeños rumiantes que el *L exaltatus*.
- Los alcaloides presentes en el forraje de cualquiera de las dos especies de lupino no representan un factor de riesgo antinutricional para el pequeño rumiante ya que se desnaturaliza en agua.

### **RECOMENDACIÓN.**

Se recomienda evaluar el impacto que provoca el forraje de lupino sobre la presencia de alcaloides en el líquido ruminal de pequeños rumiantes.

## BIBLIOGRAFÍA

- Albarran, R.E.; Estrada, M.G.S. y Lopez; R.J.R. 1997. Digestibilidad ruminal de materia seca, materia orgánica y proteína cruda de diversos elementos de leguminosas arboreas sometidos a diferentes tratamientos. XXI congreso nacional de buiatría. Colima. Col. 9-12 Julio. p.276.
- AOAC. 1990. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 15<sup>th</sup> ed. Helrich, K. (Ed.). AOAC. Arlington, VA, Pág. 17, 18, 40-62, 69-83.
- Bermúdez, T.K., Robledo, Q.N., Martínez H. J., Andreas, T. y Wink M. 2000. Biodiversity of genus *Lupinus* in Mexico. Proc. 9<sup>th</sup> Int. Lupin Conference. Van Santen, E. Wink, M. Weissmann, S. y Römer, P. (eds). Klink/Mütitz, Alemania. Pág. 294-296.
- Blythe, L.L. y Craig A.M. 1994. Role of the liver in detoxification of poisonous plant. Vet. Hum. Toxicol. 36:564-566.
- Bourgard, F., Gravot, A., Milesi S. y Gontier E. 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. Plant Sci. 161: 839-851.
- Broderick, G.A. 1982. Estimation of protein degradation using *in situ* and *in vitro* methods. En: Owens FN editors. Protein requeriment for cattle. Proc international Symposium. Stillwater, Okla. Division of agriculture, Oklahoma State University. MP- 109:72
- Carlson, J.R. y Breeze R.G. 1984. Ruminal metabolism of plant toxins with emphasis on indolic compounds. J. Anim. Sci. 58:1040-1049.
- Cheeke, P.R. 1998. Natural toxicants in feeds, forages, and poisonous plants. Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ, USA.
- Davis, M.A. 1982. The occurrence of anagryne in a collection of western American lupines. J. Range Manage. 35:81-84.

- Dawson, K.A., Rasmussen A.A. y Allison M.J. 1997. Digestive disorders and nutritional toxicity. En: P.N. Hobson y C.S. Stewart (ed.). The Rumen Microbial Ecosystem. Chapman and Hall, London, UK. Pág. 633-660.
- De Lucas, V. y St. Pierre, B. 2000. The cell and developmental biology of alkaloids biosynthesis. Trends in Plant Sci. 5:225-233.
- De Lucas, T.J., Zarco Q. L.A., González P.E., Tórtora P.J., Villagodoy A. y Vazquez P.C. 2003. Crecimiento predestete de corderos en sistemas intensivos de pastoreo y manejo reproductivo en el altiplano central de México. Vet. Méx. 34:235-246.
- Dhanao, M.S. 1988. On the analysis of dacron bag data for low degradability feeds. Grass Forage Sci. 43:441.
- Duncan, A.J., Frutos P. y Young S.A. 2000. The effect of rumen adaptation to oxalic acid on selection of oxalic acid-rich plants by goats. Br. J. Nutr. 83:59-65.
- Freeland, W.J. y Janzen, D.H. 1974. Strategies in herbivory by mammals: The role of plant secondary compounds. Am. Nat. 108:269-289.
- García, S.A., Castejón M.F., de la Cruz Palomino L.F., González G.J., Murillo López de Silanes, M.D. Salido, R.G. 1995. Fisiología Veterinaria, Primera edición, Interamericana-McGraw-Hill. Pág. 612-617.
- Gladstones, J.S. 1970. Lupins as a crop plants. Field Crop Abst. 23:123-148.
- Gladstones, J.S. 1974. The Mediterranean white lupin. Dep. West Aust. Tech. Bull. No. 26:70-74.
- Gross, R. 1982. El cultivo y la utilización del Tarwi (*L. mutabilis sweet*). Pág. 1-38, 141- 197. Estudio FAO # 36: Producción y protección. Roma.



- Harbone, J.B. 1993. Introduction to ecological biochemistry. 4<sup>a</sup>. Edition. Academic Press, San Diego, Cal. USA.
- Hill, G.D. 1977. The composition and nutritive value of lupin seed. Nutr. Abstr. Rev. 47:511-519.
- Hondelmann, M. 1984. The lupin, ancient and modern crop plant. Theoretical Applied Genetic. 68:1-9.
- Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). 1990. Alimentación de bovinos, ovinos y caprinos. Ed. Mundiprensa, Madrid, España.
- Juárez, C.A. 1991. Detoxificación comparativa de tres especies de *Lupinus* silvestres y de *L. Mutabilis* cultivada en México. Tesis de maestría en alimentos. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. IPN
- Juárez R.A.S., Murillo O.M. y Carrillo M.A.; 2001. Degradabilidad "in-situ" de la materia seca de *Mimosina biusifera*, *Prosopis leavigilata*, *Quercus grisae*, *quercus eduardi* y *Opuntia spp* por ovinos en confinamiento. Memorias del XXV congreso nacional de buiatría. Veracruz, México 16-18 agosto. p. 147.
- Keeler, R.F. y Panter, K. 1989. Piperidine alkaloid composition and relation to crooked calf disease- inducing potential of *Lupinus formosus*. Teratology. 40:423-432.
- Keeler, F.R. 1980. The total alkaloid and anagyrine contents of some bitter and sweet selections of lupin species used as food. J. Environmental Pathology Tox. 3:333-340.
- Kempton, T.J. 1980. The use of nylon bags to characterize the potential degradability of feeds for ruminants. Trop. Anim. Prod. 5:107-112.
- Küss, E. y Wink, M. 1996. Molecular phylogeny and philogeography of the genus *Lupinus*. En: Proc. 7<sup>th</sup> International Lupin Conference. Neves, J.M. y Beirao da Costa, L. (eds). Evora, Portugal. Pág. 19-23.

- 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 sobre Agroforestería para la producción animal en latinoamérica. Consultado el 10 de enero 2006.
- Lindberg, J.E. y Varvikko T. 1982. The effects of bag pore size on the ruminal degradation of dry matter nitrogenous compounds and cell walls in nylon bags. *Swed. J. Agric. Res.* 12:163-168.
- Lindberg, J.E. 1985. Estimation of rumen degradability of feed protein with *in sacco* technique and various *in vitro* methods: A Review. *Acta Agric. Scand.* 25 (Suppl.):64.
- López, B.L. y Fuentes, M. 1986. Lupin crop as an alternative source of protein. *Adv. in Agronomy.* 40: 239-295.
- López, B.L. y Fuentes, M. 1991. El altramuz. Ministerio de agricultura, Pesca y Alimentación. Córdoba, España. Pág. 110.
- Lyons, R.K., R. Machen y T.D.A. Forbes. 1996. Why range forage quality changes. B-6036. Texas Agric. Extension Service. College Station.
- McAllan, A.B. y Smith R.H. 1983. Estimation of flows of organic matter and nitrogen components in postruminal digesta and effects of level of dietary intake and physical form of protein supplement on such estimates. *Br. J. Nutr.* 49:119.
- McVaugh, R. 1987. Flora Novogaliciana, V. *leguminosae*. A descriptive account of the vascular plants of western Mexico. The University of Michigan press. Ed. Ann Arbor. USA. Pag. 567-569.
- Mejía, S.A. 1998. Manual para la explotación de ovinos en México. Tesis de Licenciatura. Div. Cs. Veterinarias, Universidad de Guadalajara.

- Merck, 1993. El manual Merck de veterinaria. Merck & Co., Inc. Rahway, NJ, USA.
- Mertens, D.R. y Ely L.O. 1982. Relationship of rate and extent of digestion to forage utilization: A dynamic model evaluation. *J. Anim. Sci.* 54:895.
- Mertens, D.R. y Loften J.R. 1980. The effect of starch on forage fiber digestion kinetics *in vitro*. *J. Dairy Sci.* 63:1437.
- Mertens, D.R. 1987. Predicting intake and digestibility using mathematical models of ruminal function. *J. Dairy Sci.* 64:1548.
- Murillo, O.M.; Carrete, C.F.O. y Ruiz, B.O. 2003. Estimación del tiempo de retención y digestibilidad ruminal de cinco forrajes henificados a partir de las tasas de degradación y pasaje. *Sistemas de producción agropecuaria-Agrofaz* vol. 3 numero 2 p.331.
- Muzquiz, E.M. 1988. Factores antinutritivos y tóxicos que afectan a la utilización de las semillas del *Lupinus hispanicus* Boiss. y Reut. Para su uso alimentario. Tesis Doctorado. Universidad Complutense. Madrid, España.
- Muzquiz, E.M., Burbano, C., Gorospe, M.J. y Rodenas, I. 1989. A chemical study of *Lupinus hispanicus* seed toxic and antinutritional components. *J. Sci. Food Agri.* 47:197-204.
- Newbold, C.J., EL-hassan S.M., Wang J., Ortega M. E. y Wallace R.J. 1997. Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. *Br. J. Nutr.* 78:237-249.
- Nocek, J.E. y English J.E. 1986. *In situ* digestion kinetics: evaluation of rate determination procedures. *J. Dairy Sci.* 69:77.
- Nocek, J.E. y Grand A.L. 1987. Characterization of *in situ* nitrogen and fiber digestion and bacterial nitrogen contamination of hay crop forages

- preserved at different dry matter percentages. J. Anim. Sci. (Camb);64:552.
- Nocek, J.E. 1988. *In situ* and others methods to estimate ruminal protein and energy digestibility: A Review. J. Dairy Sci. 71:2051.
- NOM 062 ZOO 1999 Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- NRC. 1996 Rumen nitrogen usage. Washington, D.C. National Academy Press.
- NRC. 1985. Rumen nitrogen usage. National Academy Press. Washington, DC, USA.
- Odenyo, A.A., Osuji P. O., Karanfil O. y Adinew, K. 1997. Microbiological evaluation of *Acacia angustissima* as a protein supplement for sheep. Anim. Feed Sci. Technol. 65:99-112.
- Orskov E.R., Deb Hovell F.D. y Mould F. 1980. The use of the nylon bag technique for evaluation of feedstuffs. Trop. Anim. Prod. 5:195.
- Orskov, E.R. y McDonald I. 1979. The estimate of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighed according to rate of passage. J. Agric. Sci. (Camb). 92:499.
- Peterson J., Cochran R. y Klopffeststein T. 1996. Degradable and undegradable protein responses of cattle consuming forage-based diets. Proc. Grazing Livestock Nutr. Conf. Pág. 94-103.
- Planchuelo, A.M. 1996. Relationship between South American and European species of *Lupinus*. En: Advances in legumes of economic importance. Pickersgill, B. y Lock, J.M. (ed). Royal Botanic Gardens, Kew, UK. Pág. 109-116.

- Planchuelo, A.M. y Dunn, D. 1984. The simple leaved *Lupinus* of Argentina and relatives. *Annals Missouri Botanic Garden*. 71:92-104.
- Planchuelo-Ravelo, A.M. 1984. Taxonomic studies of *Lupinus* in South America. 3<sup>rd</sup>. International Lupin Conference. La Rochelle, Francia. Pág. 39-53.
- Przybylak, J.K., Ciesiolka D., Wysocka W., Garcia L.P.M., Ruiz L.M.A., Wysocki W. y K. Gulewicz. 2005. Alkaloid profiles of Mexican wild lupin and an effect of alkaloid preparation from *Lupinus exaltatus* seeds on growth and yield of paprika (*Capsicum annum* L.). *Ind. Crops Prod.* 21:1-7.
- Robbins, C.T., Hanley T.A., Haggerman H.E., Hjeljord, O., Baker D.L., Schwartz, C.C. y Mautz W.W. 1987. The role of phenolics in defending plants against ruminants: Reduction in protein availability due to tannins. *Ecology*. 89:98-107.
- Ruiz, M.A. y J. Sotelo. 2001. Chemical composition, nutritive value and toxicology evaluation of Mexican wild lupins. *J. Agric. Food Chem.* 49:5336-5339.
- Sánchez, R.C. 1997. Engorda de corderos en corral. Memorias del curso Estrategias de alimentación en ovinos. IX Congreso Nacional de producción ovina. Queretaro, Qro. 2-4 de junio. Pág. 77-96.
- Schoeneberger, H., Gross, R. Cremerand, H.D. y Elmadfa, I. 1982. Composition and protein quality of *Lupinus mutabilis*. *J. Nutr.* 112: 70-76.
- Shimada, A.S., Rodríguez, F.C. y Cuarón, J.A. 1986. Engorda de ganado bovino en corrales. Ed. Consultores en Producción Animal, S.C. México, D.F.
- Smith, G.S. 1992. Toxication and detoxification of plant compounds by ruminants: An overview. *J. Range Manag.* 45:25-30.

- Stern M.D. y Satter L.D. 1982. *In vivo* estimation of protein degradability in the rumen. En: Owens F.N. (ed). Protein requirement for cattle. Proc. International Symposium. Stillwater, Okla. Division of agriculture, Oklahoma State University. MP- 109.
- Van Soest, P.J., Sniffen C.J., Mertens D.R., Fox D.G., Robinson P.H. y Krishnamoorthy U. 1982. A net protein system for cattle: The rumen submodel for nitrogen. En: Protein requirement for cattle: symposium. Oklahoma State University Stillwater. MP-1099.
- Van Soest, P.J. 1991. Nutritional Ecology Ruminant. O. & B. Books. Inc. Oregon. United State of America.
- Villalobos, G. C., Gonzalez, V. E., y Ortega, S. J. A., 2000, Técnicas para estimar la degradación de proteína y materia seca en el rumen y su importancia en rumiantes en pastoreo. Técnicas Pecuarias Mexicanas. 38 (2) 119 – 134.
- Weakley D.C., Stern M.D. y Satter L.D. 1983. Factors affecting disappearance of feedstuffs from bags suspended in the rumen. J. Anim. Sci. 56:493.
- Weimer, P.J. 1998. Manipulating ruminal fermentation: A microbial ecological perspective. J. Anim. Sci. 76:3114-3122.
- Wink, M. 1993. Allelochemical properties or the raison d'être of alkaloids, pp. 171-213, in G. A.Cordell (ed.). The Alkaloids, Vol. 43. Academic Press, London, UK.
- Wink, M. y Mende, P. 1987. Uptake of lupanine by alkaloid-storing epidermal cells of *Lupinus polyphyllus*. Planta Medica. 53: 465-469.
- Wink, M. y Roberts, F.M. 1998. Compartmentation of alkaloid synthesis, transport and storage. En: Alkaloids: Biochemistry, ecology and medicinal

applications. Roberts F. M. y Wink, M. (eds). Plenum. Press. New York, London. Pág. 239-258.

Wink, M. y Waterman, P. 1999. Chemotaxonomy in relation to molecular phylogeny of plant. En: Biochemistry of plant secondary metabolism. Wink M. (ed.) Annual Plant Reviews, vol. 2. Sheffield Academic Press. Pág. 300-341.

Zamora, N.J.F. 2005. Alcaloides en *Lupinus exaltatus* Zucc. (*Fabaceae*) contenido, composición y actividad biológica. Tesis doctorado. Colegio de Postgraduados. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas, Campus Montecillo.