



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

POSTGRADO EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

CARACTERIZACIÓN DEL VALOR NUTRITIVO DE CINCO ESPECIES DE
LEGUMINOSAS DEL GÉNERO *Lupinus*

MARICELA PABLO PÉREZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS

H. CÁRDENAS, TABASCO

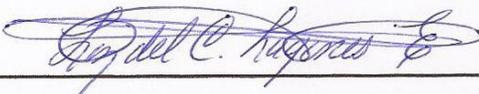
2013

La presente tesis, titulada: **Caracterización del valor nutritivo de cinco especies de leguminosas del género *Lupinus*** realizada por la alumna **Maricela Pablo Pérez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

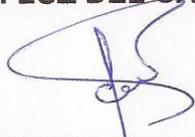
MAESTRA EN CIENCIAS

EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA:  _____

DRA. LUZ DEL CARMEN LAGUNES ESPINOZA

ASESOR:  _____

DR. EMILIO MANUEL ARANDA IBÁÑEZ

ASESOR:  _____

DR. JAVIER LÓPEZ UPTON

ASESOR:  _____

DR. JESÚS ALBERTO RAMOS JUÁREZ

H. CÁRDENAS, TABASCO A 11 DE ENERO DE 2013

CARACTERIZACIÓN DEL VALOR NUTRITIVO DE CINCO ESPECIES DE LEGUMINOSAS DEL GÉNERO *Lupinus*

Maricela Pablo Pérez, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2013

El objetivo del presente estudio fue conocer el potencial nutricional para la alimentación animal de cinco especies de *Lupinus* (*L. montanus*, *L. exaltatus*, *L. campestris*, *L. hintonii*, y *Lupinus* sp.). Plantas completas en floración (componente follaje) y fructificación (componentes: vainas y semillas) fueron recolectadas en la Región de Valles y Libres del Serdán, Puebla, durante julio y agosto de 2010, a una altitud entre 2486 y 3442 m. Los análisis realizados por componente fueron proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), cenizas (Ce), fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), alcaloides totales (Alc), polifenoles totales (Pt), taninos condensados (Tc), degradación *in situ* de MS, MO, PC, FDN y FDA, composición mineral de semillas y su morfometría. Los resultados muestran que existe variación entre especies para las variables evaluadas a nivel del follaje, de las vainas y de las semillas. Las semillas presentaron el mayor porcentaje de PC (32.5-43.5%); de EE (6.6-7.5%) y los menores de FDN (16.7-24.7%) y FDA (4.4-7.9%), comparado con el de hoja más tallos (FDN, de 38.2-44.1%; FDA de 21.7-30.1%; y PC de 19.1-25.5%). En vainas un menor contenido de PC (10.9-22.8%) y EE (0.1-0.4%), pero mayor FDN (53.7-68.4%) y FDA (30.3-47.1%). Los Alc en las semillas fueron de 2.4 a 5.4% (*L. hintonii* con el mayor contenido), los polifenoles totales de 221 a 554 mg 100g, y los taninos de 12.7 a 22.7 mg kg⁻¹ (*L. exaltatus* y *L. campestris* no presentaron taninos). En el hojas más tallos los Alc variaron de 1.12 a 3.38%, polifenoles totales de 557 a 813 mg 100g y taninos de 66.86 a 99.7 mg kg⁻¹. Las características físicas de las semillas de las especies en estudio, presentaron diversidad en su morfología (color, forma y proporción de testa). Contienen elevados niveles de P y de K y micronutrientes como Fe y Zn. La degradación *in situ* de la PC de la semilla fue alta en todas las especies (97-99.2%). En las hojas más tallos, la degradación *in situ* de la materia seca fue de 71.1 a 83%, la de la PC fue de 88.9 a 94.3%. Se concluye que de acuerdo a su composición química, digestibilidad y alcaloides las semillas, follaje y vainas de *Lupinus exaltatus* y *L. campestris* son promisorias para ser usadas en la alimentación de rumiantes. *L. montanus* por el alto contenido de proteína cruda en sus semillas.

Palabras claves: *Lupinus*, leguminosa, silvestre, valor nutritivo, composición química, degradación

CHARACTERIZATION OF NUTRITIONAL VALUE FOR FIVE LEGUME SPECIES OF THE GENUS *Lupinus*

Maricela Pablo Pérez, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2013

The aim of this study was to determine the nutritional value of five species of *Lupinus* (*L. montanus*, *L. exaltatus*, *L. campestris*, *L. hintonii*, and *Lupinus* sp.). During the stage of flowering (component foliage) and fructification (components: pods and seeds), whole plants were collected in the region of Valles y Libres del Serdán, Puebla, during July and August 2010, at an altitude between 2486 and 3442 m. Analyses performed by component were crude protein (CP), ether extract (EE), ash (Ce), neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), total alkaloids (Alc), total polyphenols (TP), condensed tannins (Tc), *in situ* degradation of DM, OM, CP, NDF and ADF, seed mineral composition and morphometry. The results show that there was variation among species for variables assessed in the foliage, pods and seeds. The seeds had the highest percentage of PC (32.5-43.5%), EE (6.6-7.5%) and lower NDF (16.7-24.7%) and FDA (4.4-7.9%), compared to the leaf with stems (FDN, of 38.2-44.1%; FDA of 21.7-30.1% and PC of 19.1-25.5%). In pods PC content (10.9-22.8%) and EE (from 0.1 to 0.4%) were lower, but NDF (53.7-68.4%) and FDA (30.3-47.1%) were higher. Total alkaloids in the seeds were from 2.4 to 5.4% (*L. hintonii* had the highest), total polyphenols 221-554 mg 100g, and condensed tannins from 12.7 to 22.7 mg kg⁻¹ (*L. exaltatus* and *L. campestris* showed not tannins). In stems with leaves Alc ranged from 1.12 to 3.38%, TP from 557-813 mg 100g and Tc from 66.86 to 99.7 mg kg⁻¹. Species under study showed diversity in morphology seed (color, shape and proportion of testa), high levels of P and K and micronutrients such as Fe and Zn. In seeds, *in situ* degradation of PC (DIPC) was high in all species (97-99.2%). In the stem leaves, the *in situ* degradation of dry matter was 71.1 to 83%, DIPC was 88.9 to 94.3%. We conclude that according to their chemical composition, digestibility and alkaloids, seeds, leaves and pods of *Lupinus exaltatus* and *L. campestris* are promising for use in ruminant feed and *L. montanus* by the high content of crude protein in their seeds.

Keywords: *Lupinus*, legumes, wild, nutritive value, chemical composition, degradation

DEDICATORIA

*A ti Dios, por la vida, dones y virtudes y por este éxito intelectual que tanto
anhelo.*

*A mis padres Sr. Francisco Pablo Sanchez y Sra. Miguelina Pérez
Cortés, que en tiempos duros y difíciles son fuertes como gigante para apoyarme y
sostenerme.*

*A mi amado esposo Sr. Franklin Serra Mingo, que a golpe de trabajo y
sacrificio me llevaste por la senda que traza mi futuro.*

A ti hijo/a, que eres la fuerza que impulsa a mi corazón, dedico este trabajo.

*A mis hermanos (a), Francisca, Irán, Carmita y Antonia, por el apoyo y
estar siempre conmigo y por protegerme durante toda mi vida.*

*A mis suegros Sr. Froylan Serra Alvarez y Sra. Romelia Mingo
Velasquez, por el apoyo y cariño que me brindan.*

*A todos los que integran la familia Pablo Pérez por el amor y por formar parte
de mí.*

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para realizar estudios de maestría y una estancia de investigación en el Departamento de Zootecnia de la Universidade Estadual de Maringá, Brasil.

Al Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, por la oportunidad de mi formación académica y el apoyo brindado.

A la Dra. Luz del Carmen Lagunes Espinoza, por la oportunidad de integrarme a su equipo de trabajo; además, por su comprensión y tiempo dedicado a mi formación académica e investigación, pero sobre todo por el ejemplo del gran sentido humano con el que se dirige a sus alumnos.

Al Dr. Javier López Upton, por la ayuda a coleccionar el material vegetal, y por las acertadas observaciones para la mejora de este trabajo.

Al Dr. Jesús Alberto Ramos Juárez, por su valiosa asesoría para el buen desarrollo de esta investigación.

Al Dr. Mario Manuel Aranda Ibañez, por el tiempo dedicado al presente trabajo y orientarme con su amplia experiencia académica.

A la Línea Prioritaria de Investigación 6 del Colegio de Postgraduados: Conservación y Mejoramiento de Recursos Genéticos, por el apoyo económico brindado para la realización del trabajo de investigación desarrollado.

Al Dr. Luis Vargas Villamil por el apoyo estadístico para calcular las tasas de degradación de los materiales estudiados.

Al Prof. Dr. José G. Herrera Haro, del CP. Campus Montecillo, por su disponibilidad y asesoría estadística de los datos del capítulo IV de esta tesis.

A la Dra. Nydia del Rivero Bautista, por su interés en mi formación académica, apoyo y amistad brindada.

MC. Francisco Meléndez Nava y familia, quienes desinteresadamente me apoyan con sus acertados consejos para la vida y por brindarme su sincera amistad.

A Marisol Hernandez Castellanos y Eber Enrique Méndez Valencia, que durante su estancia en el laboratorio de fisiología vegetal realizando servicio social, prácticas profesionales y estancia de investigación participaron activamente en el desarrollo de técnicas para este trabajo.

Sin ánimo de olvidar a nadie en particular, que de una u otra manera han compartido mi vida en estos últimos años, mi más sincero agradecimiento a su comprensión, estímulo y ayuda, ya que todos son parte de este éxito logrado.

CONTENIDO

INDICE DE CUADROS	IX
INDICE DE FIGURAS	X
ANEXOS	XIII
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Objetivo general	3
1.2.1. Objetivos específicos	3
1.3. Hipótesis	3
1.4. Estructura de la tesis	4
1.5. Literatura citada	4
CAPÍTULO II	7
REVISIÓN DE LITERATURA	7
2.1. Importancia del uso de leguminosas en alimentación	7
2.2. El género <i>Lupinus</i>	8
2.3. Producción y usos a nivel mundial	10
2.4. Composición nutrimental	12
2.4.1. Proteínas	12
2.4.2. Factores antinutricionales	13
2.4.2.1. Tratamientos físicos o biológicos para la reducción de compuestos antinutricionales	20
2.5. Componentes que determinan el valor nutritivo para alimentación animal	22
2.5.1. Los lupinos como ingredientes proteicos en alimentación animal	27
2.6. Conclusiones	28
2.7. Literatura citada	29
CAPÍTULO III	39
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PLANTA COMPLETA Y SEMILLAS EN CINCO ESPECIES DE <i>LUPINUS</i>	39
3.1. INTRODUCCIÓN	39
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	40
3.2.1. Sitios de recolecta	40
3.2.2. Material vegetal	41
3.2.3. Procesamiento de muestras	41
3.2.4. Análisis químico proximal	41
3.2.4.1. Materia seca (MS) y humedad	41
3.2.4.2. Proteína cruda (PC)	43

3.2.4.3. Grasa (extracto etéreo, EE)	44
3.2.4.4. Componentes de la Fibra	44
3.2.4.4.1. Fibra Detergente Neutro (FDN)	45
3.2.4.4.2. Fibra Detergente Ácido (FDA)	45
3.2.4.4.3. Lignina	46
3.2.4.5. Minerales (cenizas)	46
3.2.4.6. Determinación de factores antinutricionales	47
3.2.4.6.1. Alcaloides totales	47
3.2.4.6.2. Polifenoles totales	48
3.2.4.6.3. Taninos condensados	49
3.2.5. Análisis estadístico	51
3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
3.3.1. Composición química	51
3.3.1.1. Humedad y Materia seca (MS)	51
3.3.1.2. Proteína cruda (PC)	53
3.3.1.3. Grasa (Extracto etéreo, EE)	57
3.3.1.4. Fibra en detergente neutro (FDN)	59
3.3.1.5. Fibra detergente ácido (FDA)	62
3.3.1.6. Cenizas	65
3.3.1.7. Extracto libre de nitrógeno (ELN)	67
3.3.1.8. Lignina	69
3.3.2. Factores antinutricionales	71
3.3.2.1. Alcaloides totales	71
3.3.2.2. Compuestos fenólicos totales	74
3.3.2.3. Taninos condensados	75
3.4. CONCLUSIONES	78
3.5. LITERATURA CITADA	78
CAPITULO IV	87
DEDRADACIÓN <i>IN SITU</i> DE COMPONENTES NUTRICIONALES DE LA PLANTA ENTERA EN CINCO ESPECIES DE	87
4.1. INTRODUCCIÓN	87
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS	89
4.2.1. Degradación <i>in situ</i> de la Materia Seca (DIMS)	89
4.2.3. Degradación <i>in situ</i> de la materia orgánica (DIMO)	90
4.2.3. Degradación <i>in situ</i> de la proteína cruda (PC)	91
4.2.4. Degradación <i>in situ</i> de la fibra detergente neutro (DIFDN)	91
4.2.5. Degradación <i>in situ</i> de fibra detergente ácida (DIFDA)	92
4.2.6. Energía metabolizable (EM)	92
4.2.7. Tasa de degradación	93
4.2.8. Ajuste de los datos en base seca	93

4.3. Análisis estadístico	93
4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	94
4.4.1 Degradación <i>in situ</i> de la materia seca (DIMS).....	94
4.4.2. Degradación <i>in situ</i> de la proteína cruda (DIPC)	99
4.4.3. Degradación <i>in situ</i> de la materia orgánica (DIMO)	104
4.4.4. Degradación <i>in situ</i> de la fibra detergente neutro (DIFDN)	108
4.4.5. Degradación <i>in situ</i> de la fibra detergente ácido (DIFDA).....	113
4.5. CONCLUSIÓN	113
4.6. LITERATURA CITADA	116
CAPITULO V	122
MORFOMETRÍA Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE CUATRO ESPECIES DE <i>Lupinus</i>	122
5.1. INTRODUCCIÓN.....	122
5.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	123
5.2.1. Propiedades fisicoquímicas.....	124
5.2.2. Morfometría y peso de 100 semillas	124
5.2.3. Determinación del contenido de humedad	124
5.2.4. Determinación de pH.....	125
5.2.5. Cinética de imbibición	125
5.2.6. Calidad de semilla	125
5.2.7. Composición mineral.....	126
5.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	126
5.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	126
5.4.1. Caracterización de semillas de <i>Lupinus</i>	126
5.4.2. Cinética de imbibición	128
5.4.3. Calidad de semilla	130
5.4.4 Composición mineral.....	132
5.4.4.1. Macronutrientes	132
5.4.6. Micronutrientes.....	134
5.5. CONCLUSIÓN	136
5.6. LITERATURA CITADA	137
CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS	142
6. ANEXO	145

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Datos generales de las especies de lupino localizadas en la región de los valles del Serdán y Libres de Puebla.....	12
Cuadro 2. Distribución porcentual de fracciones proteicas en varias leguminosas.....	15
Cuadro 3. Composición proximal de distintos ingredientes de origen vegetal (% en base seca).	16
Cuadro 4. Principales factores antinutricionales de lupino comparado con otras materias primas proteicas vegetales.	17
Cuadro 5. Uso histórico del lupino dulce (<i>L. angustifolius</i>) producido en el Oeste australiano.	28
Cuadro 6. Composición química del follaje y de la semilla de cinco especies de <i>Lupinus</i> cosechadas a floración.	52
Cuadro 7. Relación hoja: tallo de las especies de <i>Lupinus</i> sp. en estudio.....	70
Cuadro 8. Concentración de Taninos condensados (g kg^{-1}) libre (TCL) unidos a la proteína (TCP), a la fibra (TCF) y totales (TCT) en <i>Lupinus</i> spp., calculados con la ecuación $y=0.0014x-0.0069$ utilizando como estándar catequina.	77
Cuadro 9. Ubicación geográfica de los sitios de recolecta de cinco especies de <i>Lupinus</i> en la Región de los Valles de Libres y Serdán, Puebla, México.....	89
Cuadro 10. Degradación ruminal de la materia seca (DIMS) por componente: semillas, vainas y hoja más tallo, de cinco especies de <i>Lupinus</i> y de pasta de soya.	95
Cuadro 11. Degradación ruminal de la proteína cruda (DIPC) por componente: semillas, vainas y hoja más tallo, de cinco especies de <i>Lupinus</i> y pasta de soya.	100
Cuadro 12. Degradación ruminal de la materia orgánica (DIMO) de especies de <i>Lupinus</i> y pasta de soya.	105
Cuadro 14. Degradación ruminal de la fibra detergente neutro (DIFDN) de cinco especies de <i>Lupinus</i>	110
Cuadro 16. Características físicas de las semillas de cinco especies de <i>Lupinus</i>	127

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución del género <i>Lupinus</i> a nivel mundial (Clements <i>et al.</i> , 2005)...	11
Figura 2. a. <i>Lupinus montanus</i> H.B.K. Foto: Luz del C. Lagunes Espinoza. b <i>Lupinus campestris</i> Cham. & Schtdl. Foto: Maricela Pablo Pérez. c <i>Lupinus exaltatus</i> Zucc. Foto: Maricela Pablo Pérez. d <i>Lupinus</i> sp Foto: Maricela Pablo Pérez. e <i>Lupinus hintonii</i> C.P. Smith. Foto: Luz del C. Lagunes Espinoza.	14
Figura 3. Producción de <i>Lupinus</i> spp., en el año 2010. Elaboración personal con datos de Lampart-Szczapa (2001).	15
Figura 4. Relación entre la digestibilidad del forraje, la cantidad de forraje que los rumiantes pueden comer y la cantidad de forraje necesaria para llenar los requerimientos con base en el porcentaje de su peso vivo (PV).	25
Figura 5. Efecto de la cantidad de suplemento de energía o proteína en el consumo de forrajes de baja calidad.	26
Figura 6. Localización de los sitios de recolecta de <i>Lupinus</i> spp. en la Región de los Valles de Libres y Serdán, Puebla.	42
Figura 7. Contenido de proteína cruda (%) en semillas de diferentes especies de <i>Lupinus</i> y en pasta de soya (<i>Glycine max</i>).	53
Figura 8. Contenido de proteína cruda (%) de hojas más tallos de cinco especies de <i>Lupinus</i> en etapa de floración.	55
Figura 9. Contenido de proteína cruda (%) de vainas maduras de cinco especies de <i>Lupinus</i>	56
Figura 10. Contenido de grasa (EE, %) de semillas de cinco especies de <i>Lupinus</i>	57
Figura 11. Contenido de grasa (EE, %) de hojas más tallos de cinco especies de <i>Lupinus</i>	58
Figura 12. Contenido de grasa (EE, %) en vainas maduras de <i>Lupinus</i> spp.	59
Figura 13. Contenido de FDN (%) de semillas de <i>Lupinus</i> spp.	60
Figura 14. Contenido de FDN (%) de hojas más tallos de <i>Lupinus</i> spp.	61
Figura 15. Contenido de FDN (%) de vainas maduras de <i>Lupinus</i> spp.	62
Figura 16. Contenido de FDA (%) de semillas de <i>Lupinus</i> spp.	63
Figura 17. Contenido de FDA (%) de hojas mas tallos de <i>Lupinus</i> spp.	63
Figura 18. Contenido de FDA (%) de vainas maduras de <i>Lupinus</i> spp.	64
Figura 19. Contenido de Cenizas (%) en semillas de cinco especies de <i>Lupinus</i>	65
Figura 20. Contenido de Cenizas (%) en hojas más tallos de cinco especies de <i>Lupinus</i>	66
Figura 21. Contenido de Cenizas (%) en vainas maduras de cinco especies de <i>Lupinus</i>	67
Figura 22. Contenido de ELN (%) en semillas de <i>Lupinus</i> spp.	67
Figura 23. Contenido de ELN (%) en hojas mas tallos de cinco especies de <i>Lupinus</i>	68

Figura 24. Contenido de ELN (%) en vainas maduras de cinco especies de <i>Lupinus</i>	69
Figura 25. Contenido de lignina (%) en hojas más tallos de cinco especies de <i>Lupinus</i>	70
Figura 26. Contenido de lignina (%) en vainas maduras de cinco especies de <i>Lupinus</i>	71
Figura 27. Contenido de alcaloides totales (%) en semillas de cuatro especies de <i>Lupinus</i>	72
Figura 28. Contenido de alcaloides totales (%) en hojas más tallos de <i>Lupinus</i> spp.	73
Figura 29. Contenido de alcaloides totales (%) en vainas maduras de cuatro especies de <i>Lupinus</i>	74
Figura 30. Contenido de polifenoles totales (g kg ⁻¹) en semillas de cuatro especies de <i>Lupinus</i>	75
Figura 31. Contenido de polifenoles totales (g kg ⁻¹) en hojas más tallos de cuatro especies de <i>Lupinus</i>	76
Figura 32. Contenido de polifenoles totales (g kg ⁻¹) en vainas maduras de <i>Lupinus</i> spp.....	76
Figura 33. Curva de cinética de la degradación ruminal de la materia seca (DIMS) de semillas de <i>Lupinus</i> y de pasta de soya.....	96
Figura 34. Curva de cinética de la degradación ruminal de la materia seca de vainas de cinco especies de <i>Lupinus</i>	97
Figura 35. Curva de cinética de la degradación ruminal de la materia seca de hojas más tallos de cinco especies de <i>Lupinus</i>	98
Figura 36. Curva de cinética de la degradación ruminal de la proteína cruda de semillas de cuatro especies de <i>Lupinus</i> y pasta de soya (<i>Glycine max</i>).....	101
Figura 37. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la proteína cruda de vainas de <i>Lupinus</i>	102
Figura 38. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la proteína cruda de hojas más tallos de <i>Lupinus</i>	103
Figura 39. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la materia orgánica de semillas de cuatro especies <i>Lupinus</i> y de pasta de soya.....	106
Figura 40. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la materia orgánica de vainas de cinco especies de <i>Lupinus</i>	106
Figura 41. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la materia orgánica de hojas más tallos de cinco especies de <i>Lupinus</i>	108
Figura 42. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la fibra detergente neutro de vaina de <i>Lupinus</i>	111
Figura 43. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la fibra detergente neutro de hojas más tallos de <i>Lupinus</i>	111
Figura 44. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la fibra detergente ácido de vainas de <i>Lupinus</i>	115
Figura 45. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la fibra detergente ácido de hojas mas tallos de <i>Lupinus</i>	115
Figura. 46. Semillas de especies de <i>Lupinus</i> mexicanas. a) <i>L. campestris</i> , b) <i>L. exaltatus</i> , c) <i>L. hintonii</i> , d) <i>L. montanus</i> , e) <i>Lupinus</i> sp.....	127

Figura 47. Peso fresco de cotiledón, embrión y testa de semillas de cuatro especies de <i>Lupinus</i>	129
Figura 48. Cinética de absorción de agua de semillas de cuatro especies de <i>Lupinus</i>	130
Figura 49. Germinación de semillas de <i>Lupinus</i> sin y con tratamiento de escarificación. se= sin escarificación.....	131
Figura 50. Contenido de nitrógeno en semillas de cuatro especies de <i>Lupinus</i> ...	133
Figura 51. Contenido de P, K, Ca y Mg de semillas de <i>Lupinus</i>	133
Figura 52. Contenido de Fe y Zn en semillas de cuatro especie de <i>Lupinus</i>	135
Figura 53. Contenido de Cobre (Cu) y Magnesio (Mg) en semillas de cuatroespecies de <i>Lupinus</i>	135
Figura 54. Contenido de Azufre en semillas de cuatro especies de <i>lupinus</i>	136

ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianza para la degradación de la materia seca (DIMS), proteína cruda (DIPC) y materia orgánica (DIMO) de semillas de cuatro especies de <i>Lupinus</i> y la Pasta de soya (<i>Glycine max</i>).....	145
Anexo 2. Análisis de varianza para la degradación de la materia seca (DIMS), proteína cruda (DIPC), materia orgánica (DIMO), fibra detergente neutro (DFDN) y fibra detergente ácida (DFDA) de vainas de cinco especies de <i>Lupinus</i>	145
Anexo 3. Análisis de varianza para la degradación de la materia seca (DIMS), proteína cruda (DIPC), materia orgánica (DIMO), fibra detergente neutro (DFDN) y fibra detergente ácida (DFDA) de hoja más tallos de cinco especies de <i>Lupinus</i>	145

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Planteamiento del problema

Dentro de la familia Fabaceae, el estudio de especies del género *Lupinus* se ha incrementado debido a que sus semillas tienen un alto contenido de proteínas (30–49% dependiendo de la especie), pero también de alcaloides quinolizídínicos (1.5–2.5%) (Sujak *et al.*, 2006). Estos últimos les confieren un sabor amargo y su presencia es mayor en las especies silvestres, que son consideradas tóxicas (Keeler, 1989). Crecen en suelos ácidos y son tolerantes al frío (Gladstone, 1998). Especies de éste género (*L. albus* L, *L. angustifolius* L, *L. luteus* L y *L. mutabilis* Sweet) han sido domesticadas, mejoradas y disminuido su contenido de alcaloides en las semillas, en Australia, Europa (Polonia, Alemania, Francia) y Sudamérica (Chile y Ecuador) para su uso en la alimentación humana y animal (FAO Statistics Division, 2010). Estas variedades se les conoce como “variedades dulces” por su bajo nivel de alcaloides, sin embargo, son más susceptibles al ataque de plagas y herbívoros (López-Bellido y Fuentes, 1986).

En México, la mayor diversidad de especies silvestres de *Lupinus* se encuentra en la Sierra Madre Occidental y el Eje Neovolcánico Transversal (Ruiz-López *et al.*, 2000). Diversos estudios indican que el contenido y calidad de la proteína de especies mexicanas de *Lupinus*, como la de *L. campestris*, es adecuada para su utilización en la alimentación humana (Rodríguez-Ambríz *et al.*, 2005), y las características nutricionales que presenta *L. exaltatus*, recolectada en el Nevado de Colima, la hacen adecuada para la alimentación animal (Ruiz y Sotelo, 2001; Ruíz-López *et al.*, 2006).

En zonas templadas y tropicales, uno de los principales factores limitantes en la alimentación animal es el contenido de proteína y las leguminosas herbáceas son un suplemento importante por la cantidad que presentan. Aunque se ha observado que su valor nutritivo disminuye por la presencia de factores antinutricionales, entre ellos la alta concentración de taninos condensados (Barahona *et al.*, 1997, 2003); de inhibidores de proteasas, lectinas, alcaloides y saponinas. La presencia

de todos o algunos de estos metabolitos en las leguminosas puede reducir o incrementar el consumo y aprovechamiento del alimento por los animales; a altas concentraciones algunos pueden ser tóxicos; pero incluso pueden también producir efectos benéficos al ambiente al disminuir la emisión de metano (Broderick *et al.*, 1995; Huisman y Tolman, 2001; Patra y Saxena, 2011). En algunos casos, las semillas de estas leguminosas presentan una alta proporción de α -galactósidos, fracción de los carbohidratos, que puede ocasionar fermentación excesiva, flatulencia o diarrea como se ha observado en los cerdos (Mul y Perry, 1994).

Por los altos niveles de proteína y bajos en factores antinutricionales, las semillas de la soya han sido utilizadas por muchas décadas como la fuente principal de proteínas en dietas de animales (Gueguen y Cerlett, 1994). Sin embargo, el cultivo de soya no se adapta a todas las condiciones climáticas, lo que hace que los precios de la soya se incrementen y en consecuencia los alimentos balanceados donde se incluye (Trostle, 2008). Adicionalmente, el sistema de producción orgánica no acepta el uso de productos de semillas oleaginosas, cuando estos han sido sometidos a procesos de adición de solventes (p. e. hexano), o el uso de ingredientes alimenticios genéticamente modificados (p. e. soya) (IFOAM, 2006; Jezierny *et al.*, 2010).

Por lo anterior se considera necesario la búsqueda de fuentes alternativas de proteína, que incluya la bioprospección en especies silvestres de nuestro país, con el objetivo de evaluar su potencial para uso en dietas para animales y que, además, ayuden a una producción animal sustentable. Los objetivos de la presente investigación son:

1.2. Objetivo general

Conocer el potencial nutricional para la alimentación animal de cinco especies de *Lupinus*: *L. montanus*, *L. exaltatus*, *L. campestris*, *L. hintonii*, y *Lupinus* sp., leguminosas silvestres presentes en el estado de Puebla.

1.2.1. Objetivos específicos

- a) Determinar la composición química de la planta completa y de las semillas en cinco especies de *Lupinus*: proteína cruda, extracto etéreo, fibra detergente neutro, fibra detergente ácida y cenizas.
- b) Cuantificar el contenido de polifenoles totales, alcaloides totales y taninos condensados en planta completa y en semillas de cinco especies de *Lupinus*.
- c) Determinar la degradación de la materia seca, de la materia orgánica, de la proteína cruda, de la fibra detergente neutro, de la fibra detergente ácida, y la energía metabolizable de semillas y planta completa de cinco especies de *Lupinus*.
- d) Conocer las características morfométricas y la composición mineral de las semillas de cuatro especies de lupino en estudio.

1.3. Hipótesis

Al menos una de las especies de *Lupinus* estudiadas presenta en semillas, vainas o follaje (hojas más tallo), un contenido elevado de proteína, alta digestibilidad *in situ* y bajos contenidos de FDN, FDA y lignina, lo que indicaría un buen valor nutricional para ser usada en la alimentación de los rumiantes.

I.4. Estructura de la tesis

Esta tesis está organizada en cinco capítulos. El CAPÍTULO I comprende la introducción general, se describen los objetivos e hipótesis generales que guiarán los métodos y resultados del presente trabajo. En el CAPÍTULO II se presenta la revisión de literatura donde se abordan las características del género *Lupinus*, la producción a nivel mundial, su contenido nutrimental, y su uso en alimentación animal. En el CAPÍTULO III se presenta el estudio sobre la caracterización química del follaje y semillas de cinco especies silvestres de *Lupinus* de la Región de los Valles de Libres y Serdán del estado de Puebla, haciendo énfasis en aquellas características que son importantes para la nutrición animal. En el CAPÍTULO IV se presentan los resultados obtenidos de la degradación *in situ* de los componentes nutricionales de las especies en estudio. El CAPÍTULO V muestra las características morfométricas de las semillas de las especies así como su composición mineral. Por último se esbozan las conclusiones generales y las recomendaciones derivadas de las mismas.

1.5. Literatura citada

Broderick, G.A. 1995. Desirable characteristics of forage legumes for improving protein utilization in ruminants. *Journal of Animal Science* 73: 2760-2773.

Barahona, R., C.E. Lascano, R. Cochran, J. Morill and E.C. Titgemeyer. 1977. Intake, digestion and nitrogen utilization by sheep fed tropical legumes with contrasting tannin concentration and astringency. *Journal of Animal Science* 75: 1633-1640.

Barahona, R., E. Lascano C., N. Narvaez, N. Owen, P. Morris and K. Theodorou M. 2003. *In vitro* degradability of mature and immature leaves of tropical forage legumes differing in condensed tannin and non-starch polysaccharide content and composition. *Journal of Science Food and Agriculture* 83: 1256-1266.

FAO Statistics Division. 2010. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Revisado 23 de abril de 2010.

Gladstone, J.S. 1998. Distribution, origin, taxonomy, history and importance. *In: Lupins as crop plants: biology, production and utilization*. J.S. Gladstone, C. A. Atkins y J. Hamblin (Eds.) CAB International, Oxon, UK. 1-37.

Gueguen, J. and P. Cerletti. 1994. Proteins of some legume seeds: soybean, pea, fababean and lupin. *In: B.J.F. Hudson (Ed.) New and Developing Sources of Food Proteins*. Chapman and Hall. Londres, RU. 145-183.

Huisman, J. and G.H. Tolman. 2001. Antinutritional factors in the plant proteins of diets for non-ruminants. *In: P.C Garnsworthy and J. Wiseman (Eds.). Recent Developments in Pig Nutrition 3*. Nottingham University Press, Nottingham, UK. 261–322.

IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements). 2006. The IFOAM norms for organic production and processing. Version 2005. Germany. ISBN 3-934055-58-3.

Jezierny, D., R. Mosenthin, and E. Bauer. 2010. The use of grain legumes as a protein source in pig nutrition: a review. *Animal Feed Science and Technology* 157: 111-128.

Keeler, R. F. 1989. Quinolizidine alkaloids in range and grain lupin. *In: P.R. Cheeke (Ed.) Toxicants of Plant Origin*. CRC. Boca Raton, FL, USA. 134-159.

López-Bellido, L. and M. Fuentes. 1986. Lupin crop as an alternative source of protein. *Advances in Agronomy* 40: 239-295.

Mul, A. J. and F. G. Perry. 1994. The role of oligosaccharides play in animal nutrition. *Feed Manufactures Conference, University of Nottingham, Loughborough, Leics. April 1997. 3-5.*

Patra, A. K. and J. Saxena. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91: 24–37.

Ruiz, M. A., and A. Sotelo. 2001. Chemical composition, nutritive value, and toxicology evaluation of Mexican wild lupins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 49: 5336-5339.

Ruiz-López, M.A., P. García-López M., H. Castañeda-Vazquez, J. Zamora N., P. Garzón de la Mora, J. Bañuelos-Pineda, C. Burbano, M. Pedrosa M., C. Cuadrado and M. Muzquiz. 2000. Chemical composition and antinutrient content of three *Lupinus* species from Jalisco, Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis* 13(3): 193-199.

Ruiz-López, M.A., R. Rodríguez M. y S. Navarro P. 2006. Evaluación químico-nutricional *Lupinus exaltatus* Zucc, del nevado de Colima, México, como fuente potencial de forraje. *Interciencia* 31(10): 758-761.

Sujak, A., A. Kotlarz and W. Strobel. 2006. Compositional and nutritional evaluation of several lupin seeds. *Food Chemistry* 98: 711–719.

Trostle, R. 2008. Global Agricultural Supply and Demand: Factors Contributing to the Recent Increase in Food Commodity Prices. WRS-0801. Economic Research Service. USDA, Washington, DC, pp. 119-129.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Importancia del uso de leguminosas en alimentación

Las leguminosas juegan un papel importante en la alimentación humana (Taranathan y Mahadevamma, 2003; Fernández-Orozco *et al.*, 2009). La familia *Fabaceae* comprende alrededor de 750 géneros y aproximadamente 19,400 especies (Stevens, 2009). No obstante menos del 20% de éstas se aprovechan como fuente de alimento para el consumo humano o animal. La mayoría de las leguminosas explotadas a gran escala lo son por sus semillas, fuente importante de carbohidratos, fibra, aceite y proteínas. El contenido de ésta última es de 17% a 49%, contenido superior a lo encontrado en los cereales (7-13%) y parecido al de la carne (18-25%) (De Almeida *et al.*, 2006). Debido a su composición, las semillas de leguminosas son consideradas como elementos básicos de la dieta en ciertas regiones del mundo, tal es el caso del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) en México y Centroamérica; el frijol lima (*P. lunatus* L.) en Sudamérica; la lenteja (*Lens culinaris* M.), el chícharo (*Pisum sativum* L.) y el garbanzo (*Cicer arietium* L.) en Medio Oriente, África y en la India; el haba (*Vicia faba* L.) alrededor del Mediterráneo; la soya (*Glycine max* L. Merrill) en el Lejano Oriente (Fraile *et al.*, 2007); y el lupino (*Lupinus* spp.) en la región mediterránea y África, América del Norte, América del Sur y Este de Asia (Cristofolini, 1989; Käss y Wink, 1997).

Las leguminosas son utilizadas como materias primas altamente proteicas en las dieta de los animales tanto de manera natural como en ensilados y raciones. El uso de leguminosas de grano en alimentación animal responde a su contenido y calidad de la proteína, expresados como concentración de nitrógeno y digestibilidad de la proteína, respectivamente. Sin embargo, la proteína de las leguminosas es generalmente rápidamente degradada en amonio y aminoácidos en el rumen. Esta degradación contribuye al crecimiento de microorganismos pero puede perderse como amonio cuando la energía en la dieta no es suficiente (Julier

et al., 2003). Una degradación excesiva de proteína en el rumen es un factor nutricional limitante en leguminosas forrajeras de clima templado (Broderick, 1995). Lo mejor para el animal es que una gran proporción de proteínas lleguen al intestino delgado donde serán degradadas en aminoácidos y absorbidos. Las proteínas que escapan la degradación del rumen son llamadas proteínas de escape en el sistema americano (Pichard y van Soest, 1977) y PDI (proteína digestible en el intestino) en el sistema Francés (Verité *et al.*, 1987).

En general, las semillas de las leguminosas, desde un punto de vista muy amplio, se pueden dividir en dos tipos: las de zonas templadas y las de zonas tropicales. Las leguminosas de zonas templadas como: alfalfa (*Medicago sativa* L.), lupino (*Lupinus* L.), chícharo (*Pisum sativum*), trébol (*Trifolium pratense* L.), cacahuate (*Arachis hypogea* L.), Garbanzo (*Cicer arietinum*) se usan para complementar la dietas de animales de bovinos, ovinos, equinos, aves y peces (Graham y Vance, 2003). Las leguminosas de zonas tropicales: soya (*Glicine max*), guaje (*Leucaena leucocephala*), cocohite (*Gliricidia sepium* L.), morera (*Morus alba* L.), centrosema (*Acutifolium pubescens*), cacahuatillo (*Arachis pintoi* Krap & Greg), tulipan (*Hibiscus rosa-sinensis* L.), se utilizan en asociación y como banco de proteína para mejorar la calidad de la alimentación para bovinos y equinos (D'Mello, 1995).

2.2. El género *Lupinus*

Lupinus es un género complejo, que pertenece al orden Fabales, la Familia *Fabaceae* y tribu *Genistae*, ampliamente extendido a nivel mundial. Presenta una rica diversidad de especies que se dividen en dos grandes grupos: 12 especies del Mediterráneo en el norte y el este de África en el "Viejo Mundo", y las especies de América del Norte y del Sur en el "Nuevo Mundo". Éste último grupo comprende el mayor número de especies de *Lupinus* (Gladstone, 1998). No existe un número exacto de taxa¹ de éste género, Clements *et al.* (2005) mencionan al menos 600, aunque Planchuelo (1999) indica alrededor de 1700 especies.

¹Taxa: En biología un **taxón** (del griego *τάξις*, transliterado como *taxís*, "ordenamiento") es un grupo de organismos emparentados, que en una clasificación dada han sido agrupados, asignándole al grupo un

Su domesticación ocurrió casi paralelamente en la región del mediterráneo y en la región andina. No obstante, en comparación con los otros cultivos alimentarios, el género *Lupinus* sólo recientemente ha sido objeto de mejoramiento genético. Los lupinos silvestres se distribuyen en un amplio rango de zonas climáticas (Figura 1), desde las regiones subárticas en Alaska, los climas mediterráneo y semidesértico, regiones altas y montañosas del este de África, México y los Andes, las montañas rocosas y la región de clima templado-cálido del sureste de los Estados Unidos, y las regiones subtropicales del este de América del Sur (Gladstone, 1998).

Las especies que han alcanzado el estatus de los cultivos modernos como leguminosas de grano con alto valor proteico son *L. angustifolius* L, *L. albus* L, y *L. luteus* L. en Australia, Europa y norte de África. *Lupinus cosentinii* Guss, también ha sido domesticado, aunque no se utiliza ampliamente.

De las especies del Nuevo Mundo solo *L. mutabilis* ha sido domesticado, aun cuando no se ha utilizado en gran escala como cultivo comercial. Cada una de esas especies posee una alta adaptabilidad a diferentes rangos climáticos y atributos de calidad de semilla, que hacen del género *Lupinus* un recurso valioso para su cultivo, producción y uso en industrias emergentes de alimentos sea para uso humano o animal (Clements *et al.*, 2005).

Los lupinos son plantas angiospermas cuya característica distintiva es su fruto llamado legumbre; es decir, vainas que se abren longitudinalmente en dos valvas, a lo largo de dos suturas; por lo que reciben el nombre de leguminosas. Son herbáceas leñosas, de ciclo anual, bianual o perenne, con flores multicolores y vainas (Duranti *et al.*, 2008). Entre los nombres regionales como se le conoce a las especies que conforman éste género se tienen: altramuz, tremoco o termis en Europa, tarwi en América del Sur, y mazorquilla, alfalfilla, flor de San Juan y flor de San Pedro en México.

nombre en latín, una descripción, y un "tipo", de forma que el taxón de una especie es un espécimen o ejemplar concreto. Cada descripción formal de un taxón es asociada al nombre del autor o autores que la realizan, los cuales se hacen figurar detrás del nombre. En latín el plural de taxón es **taxa**, y es como suele usarse en inglés, pero en español el plural adecuado es **taxones**. La ciencia que define a los taxones se llama taxonomía.

En nuestro país, se han descrito numerosas especies, con una mayor concentración en el lado del Pacífico y el eje Neovolcánico transversal. En particular, por ejemplo en el estado de Jalisco se han localizado 15 especies, entre ellas, *L. exaltatus* Zucc., *L. reflexus* Rose, y *L. mexicanus* Cerv. ex Lag. (Ruíz-López *et al.*, 2000), *L. rotundiflorus* M.E. Jones, *L. elegans* L., *L. simulans* Rose y *L. madrensis* Seem (Ruíz y Sotelo, 2001). En el estado de Morelos, *L. campestris* fue recolectado por Jiménez-Martínez *et al.* (2001) y Rodríguez-Ambríz *et al.* (2005). Bermúdez-Torres *et al.* (2009) reportan la presencia de *L. montanus* H.B.K, *L. stipulatus* J. Agardh. y *L. aschenbornii* Schauer en las montañas del Popocatepetl-Iztaccihuatl. Villavicencio y Pérez (1998), indican la existencia de quince especies del género *Lupinus* en el estado de Hidalgo. A pesar de la gran biodiversidad de especies de *Lupinus* en México, no se cuenta con estudios tendientes a la domesticación de las especies presentes para su utilización como fuente de alimento (Ruíz-López *et al.*, 2006).

En el Cuadro 1 se describen las características de cinco especies de *Lupinus* que se encuentran en la Región de Libres y Serdán del estado de Puebla de acuerdo a Dunn (1979), complementadas con información de Lagunes-Espinoza *et al.* (2008). En la Figura 2 se muestra el fenotipo de cada una de ellas.

2.3. Producción y usos a nivel mundial

En la actualidad, las especies cultivadas en diversas regiones del mundo son *L. albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus* y *L. mutabilis* (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2006). La FAO estima que durante el 2008 se obtuvieron 39,140 toneladas de semilla de *Lupinus*, siendo Australia, Polonia, Alemania y Chile los países con mayor producción (Figura 3) (FAO Statistics Division, 2010). Las especies cultivadas se destinan principalmente para alimentación animal y humana.

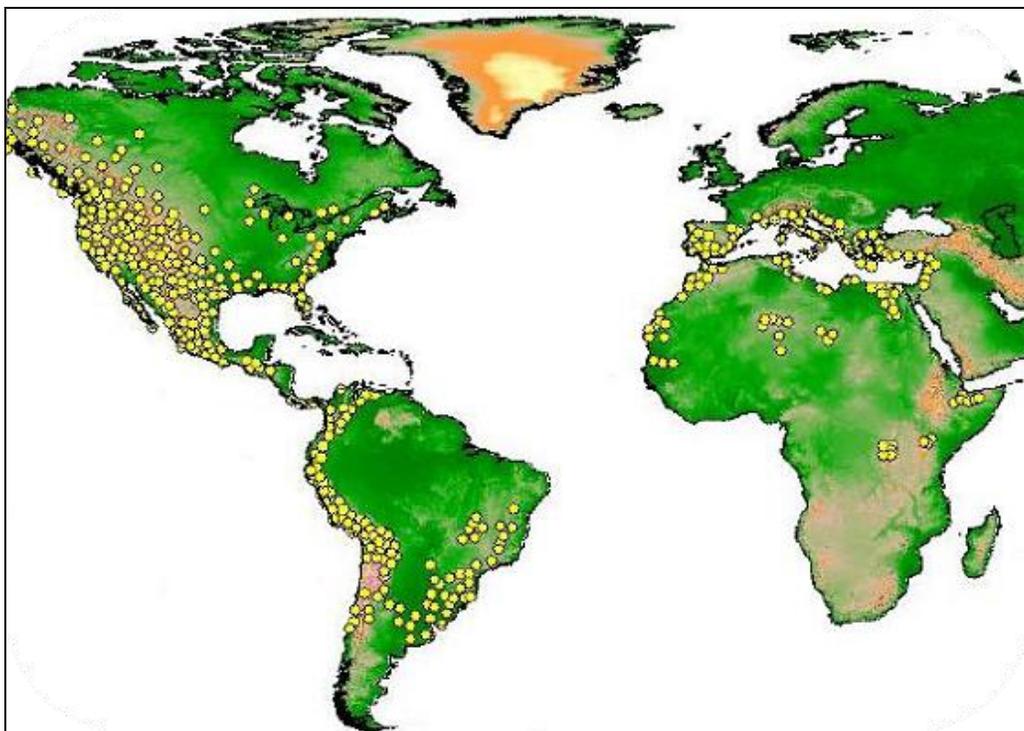


Figura 2. Distribución del género *Lupinus* a nivel mundial (Clements *et al.*, 2005).

Las “variedades dulces” de *Lupinus*, por su bajo nivel de alcaloides, se han utilizado para elaborar diversos alimentos. Sus proteínas se emplean como ingredientes tecno-funcionales en la industria alimentaria (Lampart-Szczapa, 2001). Otra alternativa empleada es la utilización de especies de lupinos amargos tras aplicar procesos tecnológicos de extracción de alcaloides para su disminución en las semillas y el aprovechamiento de los compuestos como subproducto útiles en la agricultura y farmacología (Stobiecki *et al.*, 1992). Se han empleado también, como ingrediente para panificación y repostería (Sipsa, 2008), en formulaciones alimentarias para la salud (Hodgson y Ping, 2008), como complemento o sustitución en dietas para bovinos (Bayourthe *et al.*, 1998; Vincenti *et al.*, 2009), ovinos (Pearse *et al.*, 1994), cerdos (Mariscal-Landín *et al.*, 2002), aves (Palander *et al.*, 2006) y otros monogástricos (Volek y Marounek *et al.*, 2009), donde han dado buenos resultados, en términos técnicos y económicos, lo que también ocurre en peces (Refstie *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2007). En Chile, se utiliza el *Lupinus* como un alimento de gran potencial en la industria salmonera

(ODEPA, 2003). Especies de lupino como *L. elegans*, han sido utilizadas en la restauración de bosques de coníferas, porque crea un microambiente apropiado para su establecimiento al aumentar las concentraciones de nitrógeno del suelo (Blanco y Lindig 2005; Burton *et al.*, 2005).

2.4. Composición nutrimental

Las semillas de *Lupinus* muestran elevadas concentraciones de proteínas comparadas con otras fuentes vegetales, presentan de 4-15% de lípidos que incluye 50-60% de ácido oleico, 16-23% ácido linoleico (Boschin *et al.*, 2008).

Además son una fuente potencial de fibra para la producción de alimentos dietéticos (Sujak *et al.*, 2006), tienen niveles bajos de almidón, inhibidores de tripsina y otros compuestos con efecto antinutricional (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2006a).

2.4.1. Proteínas

Uno de los principales componentes en semillas de *Lupinus* es el contenido de proteínas (30-49%) (Glencross *et al.*, 2002; Khattab *et al.*, 2009) mayor a otras leguminosas como chícharo (*Pisum sativum*, 21.6%), haba (*Vicia faba*, 25%), frijol (*Phaseolus limensis* L., 19.1%), y semejante al de la semilla de soya (*Glycine max*, 46.8%) (Lampart-Szczapa, 2001).

Las propiedades químicas y tecno-funcionalidad de las proteínas en las leguminosas es determinada por la presencia de globulinas y albúminas (Lampart-Szczapa, 2001; Duranti *et al.*, 2008). Las albúminas son un grupo heterogéneo en las especies vegetales. Presentan de diez a 20 fracciones con diferentes pesos moleculares, forman complejos con carbohidratos y ácidos nucleicos; son más ricas que las globulinas en aminoácidos esenciales especialmente metionina (Lampart-Szczapa, 2001). Las globulinas son proteínas solubles en soluciones salinas y se localizan en el cotiledón.

Entre las propiedades físico-químicas importantes de estas proteínas están el tamaño, el contenido de aminoácidos y de azúcares. En el Cuadro 2 se muestra el porcentaje de cada uno de estas proteínas en diferentes leguminosas incluyendo a *Lupinus*, y en el Cuadro 3 la composición proximal de semillas de diferentes especies de *Lupinus*.

2.4.2. Factores antinutricionales

Siendo las leguminosas las segundas en orden de importancia después de los cereales debido a su consumo, la presencia de diversos factores antinutricionales limitan su valor biológico y aceptación como alimento (Fraile *et al.*, 2007; Aguilera *et al.*, 2009); estos compuestos se localizan principalmente en hojas, vainas y semillas. Los factores antinutricionales (FANS) pueden clasificarse en dos grupos: lábiles y estables al calor. Los lábiles consisten en inhibidores de proteasas, lectinas, goitrógenos (compuestos que interfieren con la función tiroidea y en casos extremos puede causar el crecimiento de la tiroides, lo que se denomina cuello bocio) y antivitaminas. Este grupo de compuestos no poseen importancia nutricional en leguminosas adecuadamente procesadas. Los FANS estables al calor incluyen: saponinas, estrógenos, cianógenos, fitatos, alcaloides y oligosacáridos. En el Cuadro 4 se muestran los contenidos de algunos de éstos FANS en diferentes leguminosas. Las saponinas de *Lupinus* tienen poco efecto sobre el organismo, mientras que los estrógenos naturales son eliminados por extracción con hexano y agua-etanol. El bajo nivel de compuestos cianogénicos en los productos de proteína de soya o *Lupinus* no tiene importancia nutricional o metabólica. Los alcaloides quinolizidínicos (AQ) son compuestos naturales del género *Lupinus*, basados en un anillo bicíclico de quinolizidina, que es la estructura más simple y representativa de este grupo, localizados principalmente en la testa; algunos AQ son: la lupanina (alcaloide tetracíclico, encontrado en mayor grado), esparteína, multiflorina y amodendrina. Los alcaloides son responsables del sabor amargo y baja palatabilidad en semillas de *Lupinus*; su concentración depende de la especie, suelo, región y temporada de recolecta (Erdemoglu *et al.*, 2007; Zamora-Natera *et al.*, 2008).

Cuadro 1. Datos generales de las especies de lupino localizadas en la región de los valles del Serdán y Libres de Puebla.

Característica	<i>L. montanus</i>	<i>L. campestris</i>	<i>L. exaltatus</i>	<i>Lupinus sp.</i>	<i>Lupinus sp.</i>
Ciclo de vida	Perennes a anuales o bianuales	Anual, bienal o perenne	Anual, bienal o perenne	Perenne, a veces anual o bienal	Perenne
Altitud (msnm)	2500-4100	2700-3100	2600-3700	2800-4200	3080
Tamaño (cm)	100-200	15-60	100-200	15-60	40-100
Tallos	Huecos, anchos de 4 a 5 mm	Médula sólida, densa y finamente canescentes (con pelos de color (blanco-grisáceo), erecto, ramificado en la parte superior.	Huecos. Ramificados, finos y densamente hispídulos ¹ . Grosor de las ramas de 3 a 3.5 mm de diámetro, con vellosidades finas.	Huecos de 2 a 6 mm de diámetro, con entrenudos cortos. Las hojas se superponen formando follaje denso hasta la inflorescencia.	Médula sólida, ramificados en la parte superior, ramas pocas desarrolladas, con pubescencia hispídula extendida a subaplicada. Planta con aspecto de vara.
Peciolos (cm)	6-20	4 a 8 de largo, esparcidamente canescentes.	2.5-5	2-7	Más cortos que los folíolos, 1.4 a 2.4 cm de largo
Estípulas (mm)	3-10 cm (unidas en la base), envolventes, ápice agudo	5 a 12 mm de largo, moradas	8-12 subulado-setáceas, de 8 a 10 mm de largo unidas de 2 a 3 mm en la base.	6-30 mm de largo	1.2-2.3 cm de largo

foliolos (número)	10-16	6 a 8, elípticos a elíptico-blanceolados	5-8. verde intenso haz, pálido en envés	7 a 9 foliolos, linear-elíptico a oblanceolados, glabros, grabados o esparcidamente pilosos en el haz, esparcidamente pilosos o estrigosos en el envés.	11-15, linear-elíptica, acumidados, con pubescencia estrigosa aplicada en el envés, subglabros en el haz
Largo (cm)	5.5-14	Más grandes 4.5-8	4.5-8.5		5.7-9.1
Ancho (mm)	0.6-3.0	9-15	1.0-2.7		0.8-1.3
Pedicelos (mm)			3 mm de largo en la floración, de 5 mm de largo en fruto	3-7	10 a 12 mm de largo. Ascendente, hispídulos
Inflorescencia	Racimo de 8-30 cm de largo, verticilado o esparcido	Racimos densos, las yemas jóvenes formando un cono compacto	Racimos de 10 a 15 cm de largo, densamente verticilados	Racimos densos, de 6 a 20 cm de largo, flores esparcidas dispuestas en espiral	Racimos subverticilados, distantes 10 a 25 mm
Flores	verticiladas, moradas, flores más grandes que otras especies			Esparcidas, dispuestas en espiral, subverticilladas o verticiladas	
Frutos (Vainas)	4-5 cm de largo, ancho 9-10 mm	4-5 cm de largo, ancho 8-9 mm	4-4.5 cm de largo, ancho 8-9 mm	2-3 cm de largo, ancho 5-7 mm	6-8 cm de largo, ancho 1.5-1.7 mm
Semillas/vaina	6-8. Color de las semillas maduras moteadas a negra	7-9, densamente canescentes	6-9	3-6	6-8

(Dunn, 1979; Lagunes-Espinoza *et al.*, 2008).Hispídulos: ligeramente hispido. Híspido: órgano cubierto de pelos muy tiesos y muy ásperos al tacto, casi punzantes



Figura 3. **a.** *Lupinus montanus* H.B.K. Foto: Luz del C. Lagunes Espinoza. **b** *Lupinus campestris* Cham. & Schtdl. Foto: Maricela Pablo Pérez. **c** *Lupinus exaltatus* Zucc. Foto: Maricela Pablo Pérez. **d** *Lupinus* sp Foto: Maricela Pablo Pérez. **e** *Lupinus hintonii* C.P. Smith. Foto: Luz del C. Lagunes Espinoza.

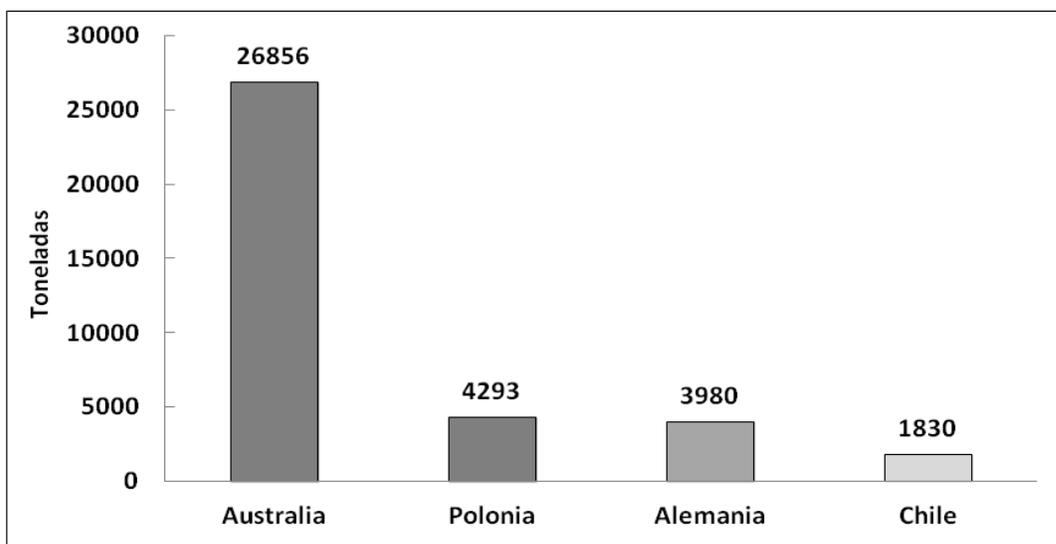


Figura 4. Producción de *Lupinus* spp., en el año 2010. Elaboración personal con datos de Lampart-Szczapa (2001).

Cuadro 2. Distribución porcentual de fracciones proteicas en varias leguminosas.

Leguminosa	Fracción proteica	
	Albúminas	Globulinas
Chícharo (<i>Pisum sativum</i>)	21.3	56.7
Haba (<i>Vicia faba</i>)	20.0	60.0
Lupino blanco (<i>Lupinus albus</i>)	12.8	79.2
Soya (<i>Glycine max</i>)	10.0	90.0

Los valores son el porcentaje del total de proteína (Lampart-Szczapa, 2001)

Además tienen diversos efectos biológicos como efectos neurológicos y teratogenicidad. Se metabolizan en el hígado, donde interviene el citocromo P-450. Los efectos metabólicos del alcaloide son primariamente la inhibición neural, produciendo agudos signos de toxicidad como convulsiones y parálisis respiratoria. Se supone que el gusto desagradable es mediado parcialmente a

través de efectos neurológicos (Cheeke y Kelly, 1989). Debido a la solubilidad en agua de estos compuestos y a su localización en la semilla, es posible su eliminación a través del descascarillado o durante el tratamiento hidrotérmico-alcalino de las semillas (Jiménez-Martínez *et al.*, 2003), no causando efectos tóxicos acumulativos en animales y humanos.

Cuadro 3. Composición proximal de distintos ingredientes de origen vegetal (% en base seca).

Especie	Producto	Materia Seca	Proteína Cruda	Lípidos	Cenizas	Carbohidratos
<i>L. angustifolius</i>	Semilla	89.2	36.5	4.8	3.2	55.4
<i>L. luteus</i>	Semilla	93.7	49.6	5.5	3.8	41.0
Lupino blanco	Semilla	92.2	45.5	13.7	3.5	40.5
Soya	Semilla	90.9	42.1	19.3	5.4	28.2
Soya	Pasta	89.0	50.3	1.2	8.8	39.7
Canola	Harina	88.9	43.2	3.0	7.4	46.4

Fuente: Glencross *et al.* (2003); Dixon y Hosking (1992).

Otros compuestos antinutricionales importantes del género son los oligosacáridos pertenecientes a la familia de la rafinosa, también llamados α -galactósidos, contienen de una a tres unidades de galactosa unidas a la sacarosa por el enlace α -1,6, el cual no es hidrolizado en el tracto gastrointestinal, debido a la ausencia de la enzima α -galactosidasa.

Estos azúcares son fermentados por la microflora del colón y causan algunas molestias como la producción de gases (H₂, CO₂ y pequeñas cantidades de CH₄), dolores abdominales y diarrea. Sin embargo, en estudios recientes se ha demostrado que el consumo de estos compuestos reduce el riesgo de padecer cáncer de colon (Aguilera *et al.*, 2009).

Los α -galactósidos son estables al calor y no son removidos por procesos térmicos. Aguilera *et al.* (2009) reportaron que a través del lavado, cocción y deshidratación se reducen los niveles de oligosacáridos. Para la eliminación de estos factores se han utilizado tratamientos acuosos, extracción en alcohol, cocido, germinación, fermentación y tratamientos enzimáticos. Por sus bajos contenidos destacan los géneros *Lupinus* (50 g/Kg MS) (Glencross *et al.*, 2003) y *Phaseolus* así como las especies *Vigna unguiculata*, *Pisum sativum*, *Lens culinaris*, *Glycine max* y *Arachis hypogaea* L. (Saini, 1989).

Cuadro 4. Principales factores antinutricionales de lupino comparado con otras materias primas proteicas vegetales.

Factores antinutricionales	Lupino	Soya	Canola	Chícharo
Alcaloides, mg Kg ⁻¹ MS	200	10	n.d	n.d
Glucosinolatos, mol Kg ⁻¹ MS	n.d	n.d	9000	n.d
Lecitina (diluciones)	n.d	n.d	n.d	4
Oligosacáridos, g Kg ⁻¹ MS	50	60	30	35
Fitasas, g Kg ⁻¹ MS	5	15	40	5
Inhibidores Proteásicos, g Kg ⁻¹ MS	0.2	3.1	n.d	2.9
Saponinas, g Kg ⁻¹ MS	537	5000	n.d	n.d
Taninos Totales g Kg ⁻¹ MS	741	n.d	1.8	3.7

n. d: no disponible. Fuente: Glencross *et al.* (2002).

Las fitasas son sales del ácido fítico derivado de un ácido fosfórico proveniente de mio-inositol, con la habilidad de formar quelatos con iones de minerales esenciales tales como Ca, Mg y ciertos elementos traza. Forman complejos solubles resistentes a la acción del tracto intestinal, disminuyendo la disponibilidad de esos elementos minerales en no-rumiantes (D'Mello, 1995). Liener (1989) al referirse a los fitatos, reporta su presencia en semillas de leguminosas en un rango del 1 al 5% del peso seco. Ante la presencia de Ca, reducen la biodisponibilidad del Zn,

debido a la conformación de complejos Zn-Ca-fitato. Aunque su mayor efecto es la disminución de la biodisponibilidad de minerales, los fitatos también interactúan con residuos básicos de proteínas, participando en la inhibición de enzimas digestivas como la pepsina, pancreatina y α -amilasa; posiblemente por la quelación de iones Ca de tales enzimas (esenciales para la actividad de tripsina y α -amilasa) o por una interacción con los sustratos de las mismas (Liener, 1989).

Los inhibidores de las proteasas son proteínas con actividad específica antitripsínica y antiqumotripsínica (Griffiths, 1984). Aunque existe una gran variabilidad entre los distintos cultivares, el efecto general de estos inhibidores de las proteasas es el de reducir la digestibilidad de las proteínas e incrementar las secreciones digestivas del páncreas. Estos efectos se producen mediante la formación de un complejo estable (enzima-inhibidor) que transita a lo largo del tracto digestivo sin ser atacado, aumentando las pérdidas de material endógeno y causando la hipertrofia del páncreas (Leterme y Beckers, 1989).

Entre las diferentes semillas de leguminosas de grano utilizadas en alimentación animal, los inhibidores de las proteasas se encuentran principalmente en los frijoles y los chícharos y una proporción baja en los altramuces ($0.2 \text{ g Kg}^{-1} \text{ MS}$) (Glencross *et al.*, 2003).

Las saponinas contienen α -glicona triterpénica, se ha reportado su existencia en aproximadamente 100 familias vegetales, de las cuales relativamente pocas son utilizadas como alimento o ingrediente alimenticio (Price *et al.*, 1987). Generalmente se caracterizan por su gusto amargo, la formación de espuma en soluciones acuosas, su habilidad para hemolizar glóbulos rojos y su capacidad para ligarse al colesterol; no todas estas características son compartidas por todos los tipos de saponinas (Birk y Peri, 1980, Price y Fenwick, 1987). Se reporta que afectan el comportamiento y metabolismo del animal a través de hemólisis de eritrocitos, reducción de colesterol sanguíneo y hepático, depresión de la tasa de crecimiento, inhibición de la actividad del músculo liso, inhibición enzimática y reducción en la absorción de nutrientes (Cheeke, 1971). El abundante lavado en

agua es un procedimiento que permite disminuir su efecto, aunque con éste se pierden elementos nutritivos (Kumar y D'Mello, 1995).

Las consecuencias de un consumo prologado de saponinas es aún desconocido. Recientemente, se ha demostrado que estos compuestos pueden causar daño a las células de las mucosas intestinal por alteración de la permeabilidad de la membrana celular, interfiriendo con el transporte activo y por ende con la absorción de nutrientes (Gee *et al.*, 1989), efecto que es dependiente de la estructura particular de cada molécula de saponina. Pueden también causar fallos respiratorios y coma si acceden al torrente sanguíneo; e inhibición de enzimas metabólicas y digestivas como proteasas, amilasas o lipasas (Cheeke, 1976; Birk y Peri, 1980; Price *et al.*, 1987; Thomson, 1993).

Los fenoles o polifenoles son metabolitos secundarios y constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras, propiedades químicas y actividad biológica. Se encuentran presentes en todas las plantas, y por lo tanto mucho de ellos en las dietas animales, pero su concentración varía según el tipo de alimento (Bravo, 1998; Uceró *et al.*, 2007). Químicamente pueden ser definidos como sustancias que poseen un anillo aromático, al cual se le une uno o más grupos de hidroxilo, incluyendo sus derivados funcionales. Los principales polifenoles en las leguminosas y cereales, son los flavonoides y los taninos. Su principal característica, importante para la salud, es que la mayoría demuestran una gran actividad antioxidante *in vitro*. Hay más de 800 estructuras polifenólicas, y están varían desde moléculas simples (los ácidos fenólicos con un átomo de carbono) a compuestos muy polimerizados (taninos) (Uceró *et al.*, 2007). Los compuestos fenólicos en plantas son biosintetizados en diferentes rutas, y por ello, constituyen un grupo heterogéneo desde un punto de vista metabólico. Existen dos rutas básicas implicadas: la vía del ácido siquímico es la responsable de la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos en plantas. La vía del ácido malónico, aunque es una fuente importante de fenoles en bacterias y hongos, es poco empleada en las plantas superiores (Taiz y Zeiger, 2006). Estos compuestos son esenciales para el crecimiento de las plantas, confiriendo resistencia contra

predadores e insectos patógenos (Butler, 1992). Contribuyen en la pigmentación de las plantas comestibles, funcionan como antibióticos, pesticidas naturales, sustancias señalizadores para establecer simbiosis con el rizobium, agentes protectores contra la luz ultravioleta, y como material estructural para brindar estabilidad a las plantas (Butler, 1992).

La presencia de taninos en leguminosas es un mecanismo de defensa contra patógenos y herbívoros, pudiendo afectar negativamente el consumo de alimento, la digestibilidad y la eficiencia en la producción animal; esto dependerá del tipo de tanino ingerido, así como la tolerancia de los animales (Núñez-Hernández *et al.*, 1991; Romero y Bakker, 2000). Sin embargo, Kamalak *et al.* (2004) indicaron que bajos niveles taninos condensados totales (1.42 %) y de taninos condensados solubles (0.83 %) en arbustivas no afectan directamente el consumo animal. López *et al.* (2004) mencionan que concentraciones mayores de 60 g kg^{-1} de taninos condensados libres afectan el metabolismo de los microorganismos del rumen y provocan intoxicación en bovinos; pero la capacidad de adaptación con concentraciones específicas de taninos condensados libres, en determinado periodo de consumo, propicia mejor utilización de la proteína por el animal (Li *et al.*, 2003).

Cabe destacar que la aplicación de procesos como la cocción, germinación, fermentación y remojo de las semillas, reduce los factores antinutricionales e incrementan el potencial de leguminosas como alimento humano y nutritivo.

2.4.2.1. Tratamientos físicos o biológicos para la reducción de compuestos antinutricionales

Los métodos tradicionales de procesamiento de semillas de leguminosas, son altamente eficientes en la reducción de factores antinutricionales y mejoran la calidad organoléptica, por ejemplo: el lavado es parte integral de varios tratamientos (cocción, enlatado, germinación y fermentación). Consiste en la hidratación de las semillas, usualmente hasta alcanzar su peso máximo, el resultado depende del género, especie, variedad, duración del proceso,

temperatura, pH, salinidad del medio de lavado y de la condiciones de almacenamiento antes del proceso. En esta etapa se reducen los niveles de azúcares, α -galactósidos, minerales, ácido fítico e inhibidores enzimáticos (Prodanov *et al.*, 2004).

La cocción es probablemente el tratamiento más antiguo para hacer comestibles las leguminosas. En general, la cocción produce la desnaturalización de las proteínas y su difusión en la fase líquida, inactivan los factores antinutricionales sensibles al calor, disminuyen el ácido fítico y los contenidos de α -galactósidos (Prodanov *et al.*, 2004; Khattab *et al.*, 2009). Mejora la composición de aminoácidos y la digestibilidad de las proteínas (Khattab *et al.*, 2009).

El descascarillado de leguminosas incrementa las características y aceptabilidad del producto final, reduce los compuestos antinutricionales y los tiempos de cocción (Taranathan y Mahadevamma, 2003; Sreerama *et al.*, 2009).

A través del procesamiento de leguminosas se obtienen productos como: harina, sémola, salvado, concentrado y aislado (De Luna-Jiménez, 2007). Estos procesos determinan la adaptabilidad de las leguminosas en diversas aplicaciones alimenticias, así como las características funcionales y nutricionales del producto final (Prodanov *et al.*, 2004; Khattab y Nyachoti., 2009; Taranathan y Mahadevamma, 2003).

La germinación es un tratamiento sencillo y económico que permite eliminar o inactivar ciertos factores antinutricionales y aumentar la digestibilidad de la proteína y almidones en leguminosas (Múzquiz *et al.*, 2006; Sangronis *et al.*, 2006) incrementando sus propiedades como alimento funcional (Martin-Cabrejas *et al.*, 2007; Aguilera *et al.*, 2011). Durante la germinación se producen diferentes cambios en la distribución de metabolitos secundarios, se movilizan proteínas almacenadas en los cuerpos proteicos de los cotiledones y se producen modificaciones en la composición de aminoácidos solubles (Zyla *et al.*, 2004; Urbano y Dávila., 2005). El tiempo y las condiciones de germinación, como la luz y la temperatura, son factores determinantes en el desarrollo del olor, color de las semillas germinadas y en el contenido de humedad (Blázquez, 1999; Díaz *et al.*,

2004). A su vez, la humedad determina cambios físicos y químicos, como la composición de los carbohidratos solubles, cantidad de fitatos, de alcaloides y niveles de vitamina C. Estos cambios modifican el valor nutritivo y, por consiguiente, el carácter funcional de las leguminosas (Vidal-Valverde *et al.*, 1998; Khatoon y Prakash, 2006; Benítez *et al.*, 2011).

El mejoramiento genético de plantas como método biológico es una alternativa para reducir el contenido de alcaloides en las especies con alto contenido. Actualmente existen varios métodos y técnicas de mejoramiento genético de los cultivos (selección, polinización cruzada, cultivo *in vitro*, pedigrí, mutagénesis, o selección asistida por marcadores moleculares) en las especies con autofecundación, en las variedades de polinización cruzada y en plantas de propagación asexual. Con la implementación de éstos, se busca mejorar la producción y calidad de los cultivos y sus productos. Algunos de ellos se han utilizado para el mejoramiento de las especies de *Lupinus* silvestre de la región del mediterráneo para mitigar las limitantes que presenta el cultivo. Las especies del género *Lupinus* presentan una forma de reproducción de polinización alógama (polinización cruzada) ó autógama, dependiendo de la especie. Los primeros cultivares de *Lupinus* en Alemania fueron reproducido identificando plantas mutantes con bajo contenido de alcaloides. Mutantes naturales fueron utilizados después para mejorar algunas características implicadas en el rendimiento de grano. Para los *Lupinus*, el método de mutagénesis artificial es prometedor, porque ayudaría considerablemente a incrementar la variación.

2.5. Componentes que determinan el valor nutritivo para alimentación animal

Las principales fuentes de alimentación de los animales son los forrajes verdes, forrajes conservados y semillas. El valor nutritivo de un alimento es la capacidad que tiene para cubrir las necesidades alimenticias de los animales. Es función de su concentración en principios nutritivos, particularmente en energía y proteína (Gaggiotti, 2000).

Los constituyentes de los alimentos son el agua y la materia seca. La materia seca incluye compuestos orgánicos (carbohidratos, compuestos nitrogenados, lípidos y vitaminas) e inorgánicos (minerales) y fibra compuesta por celulosa, hemicelulosa y lignina.

El valor nutritivo de los alimentos está determinado por la concentración de nutrientes, la digestibilidad de esos nutrientes y la naturaleza de los productos finales de la digestión. En términos de calidad se establece que para optimizar la producción de los rumiantes a partir de forrajes, es necesario mejorar la digestibilidad y el consumo, maximizar la eficiencia del crecimiento microbial y ajustar los nutrientes lo más estrechamente posible a las cantidades y balances requeridos para la función productiva (Gaggiotti, 2000).

La disponibilidad de los nutrientes de un alimento está determinada por su composición química (concentración de nutrientes disponibles y no disponibles y estructuras orgánicas e inhibidores a los que están ligados, que pueden limitar su biodisponibilidad). Las fuentes nitrogenadas o proteínas pueden tener varios orígenes, uno de ellos es el proveniente de los alimentos, los cuales podríamos dividirlos en dos grupos (Gaggiotti, 2000): a) proteína verdadera, son aquellos compuestos nitrogenados que son mayoritariamente de origen aminoacídico, y estos pueden ser de origen vegetal (pasta de soya, canola, semilla de girasol, semilla de algodón, heno de alfalfa, pasto) o animal (harina de pescado, harina de ave), y b) nitrógeno no proteico o amoniacal (la urea, el sulfato de amonio, etc.), que en estricto sentido no son proteínas sino que potencialmente se pueden transformar en ellas (proteína microbiana) por los microorganismos que viven en la panza. Aunque la proporción de proteína que es degradada a amoniaco (proteína degradable en el rumen, PDR) es variable, se puede asumir que en la mayoría de los forrajes (alfalfa, praderas, ensilados y rastrojos), un 80 % de su proteína es degradada en el rumen, lo que supone que para cubrir las necesidades de amoniaco para el crecimiento microbiano el aporte mínimo de proteína es

aproximadamente un 9 % de proteína cruda (PC) con 2 Mcal Energía Metabolizable (EM)/kg de materia seca (MS).

La concentración energética de un alimento depende de muchos factores antinutricionales que se presentan en los materiales vegetales tales como: celulosa, hemicelulosa, lignina y taninos, entre otros y que pueden estimarse en laboratorio, bajo la siguiente nomenclatura: Fibra detergente neutro: FDN, es una medida del total de fibra contenida en el forraje. Está compuesta por la celulosa, hemicelulosa y lignina. Forrajes con altos contenidos de fibra llenan más rápido el rumen, afectando la capacidad de consumo y necesitando mayor cantidad de ración como suplemento. Fibra detergente ácido: FDA, es un indicador del contenido de celulosa, lignina y pectina de la fracción de fibra de los forrajes. Lignina: Es un componente de la fibra que no tiene valor energético para el animal, incluso restringe la digestibilidad de otros componentes de la fibra. El contenido de lignina en los ensilados de maíz es bajo, oscilando entre el 2 y el 4%. Un bajo contenido de lignina es deseable.

La digestibilidad es uno de los factores más importantes para evaluar la calidad nutritiva de las raciones que consumen los animales domésticos, porque indica el grado en que los nutrientes de los ingredientes van a ser aprovechados directamente por el animal. Una buena digestibilidad de la dieta resultará en una mayor productividad por parte del animal. Existen diferentes maneras de determinar la digestibilidad de los nutrientes, tales como las pruebas de digestibilidad *in vivo* (método de colección total o parcial de heces), digestibilidad *in situ* y digestibilidad *in vitro*.

Digestibilidad *in vitro* de la materia seca: es una medida aparente de la digestibilidad de la materia seca. Se determina en laboratorio, y permite estimar de manera bastante precisa la digestibilidad real. Digestibilidad de la pared celular o digestibilidad *in vitro* de la FDN: Es una medida de la digestibilidad ruminal de la FDN. Digestibilidad *in situ* de la materia seca: es otra medida aparente de la digestibilidad de la materia seca. Se determina colocando la muestra de forraje dentro de una bolsa especial que se introduce dentro del rumen de una vaca u

oveja. Digestibilidad *in vivo*: Es una manera de determinar la digestibilidad de la materia seca utilizando animales. La digestibilidad es determinada por la diferencia entre el total de materia seca consumida menos la cantidad de materia excretada en forma de heces, incluyendo algún tipo de marcador. Estos marcadores se adicionan en la dieta y se recogen en las heces (Thonney *et al.*, 1985).

Conforme aumenta la calidad del forraje, la cantidad necesaria para cubrir los requerimientos nutritivos se reduce (Figura 4). Aunque los requerimientos nutricionales son una guía útil, los animales no paran de comer hasta llenar los requerimientos para cierto nivel de desarrollo. En general, conforme aumenta la calidad, el consumo también se incrementa.

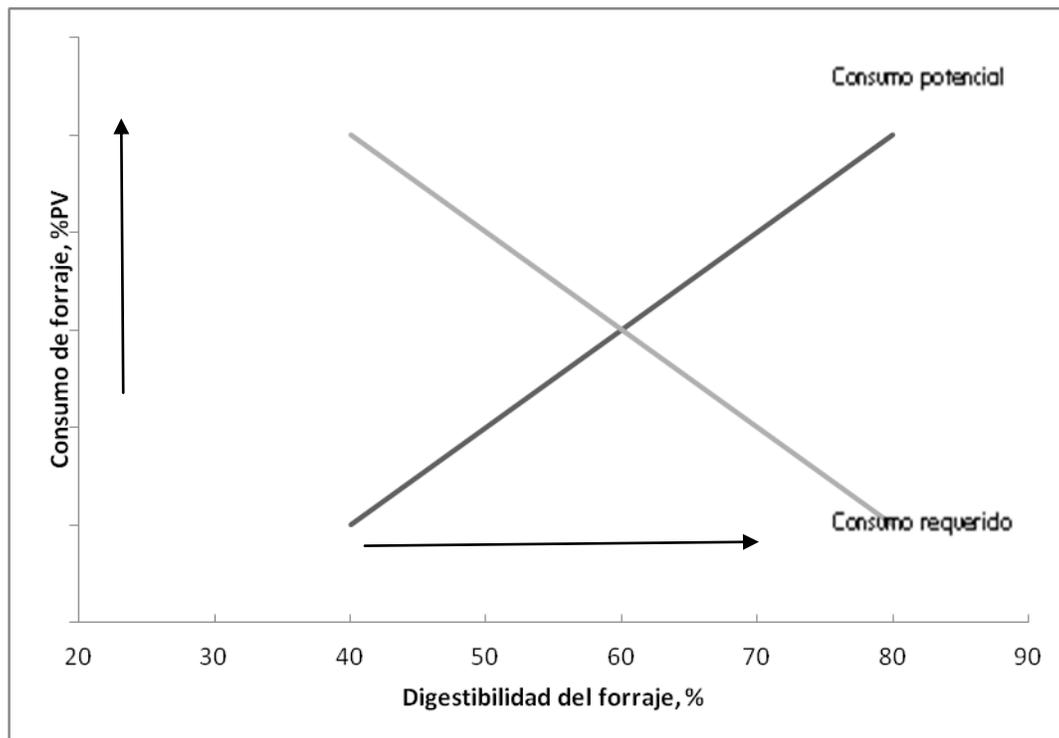


Figura 5. Relación entre la digestibilidad del forraje, la cantidad de forraje que los rumiantes pueden comer y la cantidad de forraje necesaria para llenar los requerimientos con base en el porcentaje de su peso vivo (PV).

Niveles de proteína cruda del forraje menores del 6-8% generalmente reducen el consumo. Esta reducción parece estar asociada al decremento de la actividad microbiana del rumen, lo que reduce la digestibilidad y aumenta el tiempo que el forraje permanece en el rumen. Con dietas bajas en proteína, la suplementación proteica aumenta el consumo hasta el punto en que la cantidad de suplemento empieza a sustituir el consumo de forraje (Figura 5) <http://fmvz.uat.edu.mx/Ganaderia%5CMANEJO%20DE%20PASTIZALES%5C15862284-E100S.pdf>.

Cuando se suplementan alimentos altos en energía (especialmente altos en almidón), en cantidades arriba del 0.25 - 0.50 del peso vivo y el forraje es bajo en proteína, normalmente se reduce el consumo (Figura 5).

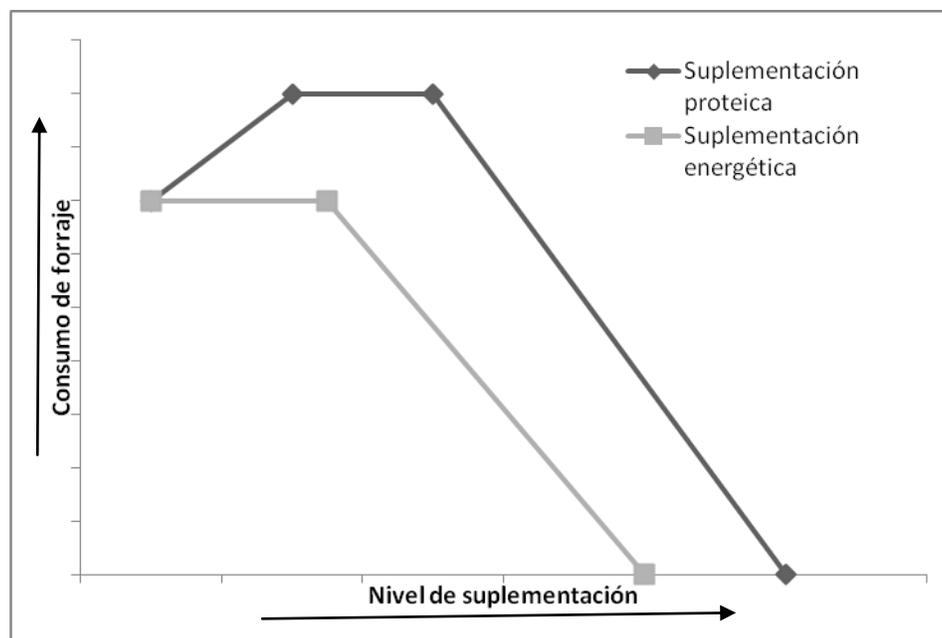


Figura 6. Efecto de la cantidad de suplemento de energía o proteína en el consumo de forrajes de baja calidad.

Conforme se adiciona proteína a la dieta, el consumo de forraje aumenta hasta alcanzar un nivel estable, para luego declinar. Al agregar suplemento energético, el consumo de forraje no cambia por un período corto de tiempo y luego empieza a reducirse.

Suplementos altos en energía se degradan rápidamente, liberando grandes cantidades de ácidos grasos volátiles, los cuales bajan el pH del rumen. Los microorganismos del rumen encargados de la digestión de la fibra trabajan adecuadamente con un pH entre 6.7 y 7.1. Cuando el pH baja, la fermentación de fibra se reduce, lo que provoca una disminución en el consumo.

2.5.1. Los lupinos como ingredientes proteicos en alimentación animal

El grano de lupino actualmente se procesa para la remoción de alcaloides, estabilizar lípidos y producir aislados proteicos para su incorporación en alimentos procesados.

Las especies de lupino usadas en alimentación humana y animal son aun predominantemente *Lupinus albus*, *L. angustifolius* y *L. luteus*, pero se ha incrementado la información nutricional de *L. mutabilis*, la mayor especie anual de Sudamérica que presenta semillas grandes.

Los trabajos publicados confirman que una vez que los alcaloides se remueven de la semillas, la proteína de la mayoría de las especies de lupino es altamente digestible y cuando se suplementa con metionina, la calidad de su proteína es similar a la de la soya.

El aceite de *L. albus* y *L. mutabilis* presenta también una alta calidad nutricional (Hill, 2006). El grano de los lupinos australianos bajos en alcaloides es ampliamente aceptado como suplemento para rumiantes ya que ellos presentan alta energía disponible (fracción de carbohidratos), proteína y tienen ventajas en manejo, almacenaje y alimentación. También son usados para la alimentación de ovinos, cerdos y en la nutrición de aves principalmente el grano descascarillado (Cuadro 5), por su calidad y bajo contenido de compuestos antinutricionales (Pettersson, 2000).

Cuadro 5. Uso histórico del lupino dulce (*L. angustifolius*) producido en el Oeste australiano.

Mercado	Porción de lupino	Parámetro importante	Componente de lupino
Rumiantes	60%	Energía	Semilla completa
Cerdos	25%	Energía y proteína	Semilla sin testa
Aves	10%	Energía y proteína	Semilla sin testa
Peces	5%	Proteína	Semilla sin testa
Humanos	Pequeñas cantidades	Proteína y fibra dietética	Semilla sin testa

Fuente: Sipsa (2008).

Los granos de lupino sin testa son usados para alimentación de monogástricos (cerdos y aves) y recientemente en acuicultura (Smith, 2005; Glencross *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2012).

2.6. Conclusiones

El lupino, como otras leguminosas de grano presenta un alto contenido proteico, por lo que ha sido consumido en países europeos y de la región andina desde tiempos antiguos. Los principales compuestos antinutricionales que presenta son los alcaloides quinolizidínicos. El mejoramiento genético ha permitido la obtención de variedades “dulces” en la región del mediterráneo (*L. albus*, *L. luteus*), en Australia (*L. angustifolius*) y en la región andina (*L. mutabilis*), donde son usada en alimentación animal y humana.

En México, las especies silvestres de lupino son abundantes y muy pocas han sido estudiadas para conocer su potencial nutricional. No han sido domesticadas. Crecen en ambientes donde otras leguminosas de grano no podrían adaptarse, como suelos ácidos y de baja fertilidad. Actualmente el consumo de proteína per cápita se ha incrementado. Esta proviene principalmente de proteína animal. Para la producción de la misma se requiere proteína vegetal cuya fuente principal actual es la soya. La alta demanda de ésta encarece los suplementos para el ganado. Por lo que cada vez es más necesario la búsqueda de otras fuentes de proteína

vegetal que puedan ser utilizadas en dietas animales o como concentrados proteicos en la industria alimenticia.

El estudio de las especies de lupino en México permitirá ampliar el conocimiento sobre las características y composición de estas especies silvestres y valorar su incorporación como una nueva opción de alimentación humana y animal, además con el conocimiento de esta leguminosa y dada la diversidad de especies presentes a mediano y largo plazo se podría establecer un programa de mejoramiento genético.

2.7. Literatura citada

Aguilera, Y., A. Martín-Cabrejas M., V. Benitez., V. Moll'S E., J. López-Andréu F., and R.M. Esteban. 2009. Change in carbohydrate fraction during dehydration process of common legumes. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 678-683.

Aguilera, Y., V. Benitez, F. Diaz M., y A. Martín-Cabrejas M. 2011. Mejora de la fracción de carbohidratos probióticos en leguminosas temporales germinadas. VII Congreso Internacional de Nutrición, Alimentación y Dietética. CD ROM. Madrid, España.

Bayourthe, C., R. Moncoulon and F. Enjalbert. 1998. Effect of extruded lupin seeds as a protein source on lactational performance of dairy cows. *Animal Feed Science Technology* 72: 121–131.

Benítez, V., Y. Aguilera, T. Jiménez, S. Calvo, M. F. Díaz and M. A. Martín-Cabrejas. 2011. Utilization of processed legume flours as potential source of bioactive carbohydrates. IV Congreso Internacional “Salud y Calidad de Vida”. CDROM. Holguín, Cuba.

Bermúdez-Torres, K., J. Martínez-Herrera and R. Brito-Figueroa. 2009. Activity of quinolizidine alkaloids from three Mexican *Lupinus* against the lepidopteran crop pest *Spodoptera frugiperda*. *Biocontrol* 54:459–466.

Birk, Y., and I. Peri. 1980. Saponins. *In: Toxic Constituents of Plant Foodstuffs*. 2nd Ed. Academic Press. New York, Volumen 1: pp. 161-182.

Blanco-García, A., and R. Lindig-Cisneros. 2005 Incorporating restoration in sustainable forestry management: Using pine bark mulch to improve native species establishment on tephra deposits. *Restoration Ecology* 13: 703-709.

- Blazquez, I. 1999. Contenido de vitamina B1 y vitamina B2 en guisantes y lentejas. Efecto de los procesos de germinación y extracción alcohólico. Tesis de Licenciatura en Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid. 75 p.
- Boschin, G., A. D'Agostina, P. Annicchiarico, and A. Amoldi. 2008. Effect of genotype and environment on fatty acid composition of *Lupinus albus* L. seeds. *Food Chemistry* 108: 600-606.
- Bravo, L. 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56(11): 317-33.
- Broderick, G.A. 1995. Desirable characteristics of forage legumes for improving protein utilization in ruminants. *Journal of Animal Science* 73: 2760-2713.
- Burton, R.A., N. Farrokhi, A. Bacic, and G. B. Fincher. 2005. Plant cell wall biosynthesis: real progress in the identification of participating genes. *221(3): 309-312*.
- Butler, I.G. 1992. Protein-polyphenol interactions: nutritional aspects. *In: Proc. 16th Journées Internationales Groupe Polyphenols. Part II, 11-18. Int. Conf. Groupe polyphenols. 13-16 Jul 1992. Lisbonne, Portugal.*
- ChEEKE, P.R. 1971. *NUTRITIONAL AND PHYSIOLOGICAL IMPLICATION OF SAPONINS. A REVIEW. CANADIAN JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE 51: 621-623.*
- Cheeke, P.R. 1976. Nutritional and physiological properties of saponins. *Nutrition Reports International* 13(3): 315-324.
- Cheeke, P.R. and J.D. Kelly. 1989. Metabolism, toxicity and nutritional implications of quinolizidine (lupin) alkaloids. *In: J. Huisman, T.F.B. van der Poel and I. E. Liener (Eds). Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds. Proceedings of the 1st International Workshop on Antinutritional Factors (ANF) in Legume Seeds, November 23-25, 1988. Pudoc, Wageningen, Netherlands. 189-210.*
- Clements, J.C., B.J. Buirchel, H. Yang, P.M.C. Smith, M.W. Sweetingham and C.G. Smith. 2005. Lupin. *In: R.J. Singh y P.P. Jauhar (Eds.). Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement Grain Legumes. Volume I. CRC Press, LLC. Boca Raton, Florida, USA. 341-353.*
- Cristofolini, G. 1989. A serological contribution to the systematics of the genus *Lupinus* (Fabaceae). *Plant Systematics and Evolution* 166: 265-278.

- D'Mello, J.P.F. 1995. Anti-nutricional substances in legumes seeds. *In: Tropical Legumes in Animal Nutrition*. J.P.F. D'Mello and C. Devendra (Eds). CAB International. U.K. 135-165.
- De Almeida, C.G.E., K. S. Queiroz-Monici K., S.M. Machado P. and A. Acosta de Oliveira. 2006. Chemical composition. Dietary fibre and resistant starch contents of raw cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food Chemistry* 94: 327-330.
- De Luna-Jiménez, A. 2007. Composición y procesamiento de la soya para consumo humano. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes* 15(037): 35-44.
- Díaz, M.F., C. Padilla y D. Cino. 2004. ¿Cómo producir forrajes de leguminosas temporales? *Revista ACPA* 1:49-51.
- Dunn, D.B. 1979. *Lupinus*. *In: J. Rzedowski y G. C. de Rzedowski (Eds). Flora fanerogámica del Valle de México. Volumen 1. Compañía Editorial Continental, S.A. México, D.F. 326–338.*
- Duranti, M., A. Consonni, C. Magni, F. Sessa and A. Scarafoni. 2008. The major proteins of lupin seed: Characterization and molecular properties for use as functional and nutraceutical ingredients. *Trends in Food and Technology*. 19(12): 624-633.
- Erdemoglu, N., S. Ozkan and F. Tosum. 2007. Alkaloid profile and antimicrobial activity of *Lupinus angustifolius* L. alkaloid extract. *Phytochemistry Reviews* 6: 197-201.
- FAO Statistics Division. 2010. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Revisado 23 de abril de 2010.
- Fernandez-Orozco, R., J. Frias, H. Zieliński, R. Muñoz, M. Piskula and H. Kozłowska. 2009. Evaluation of bioprocesses to improve the antioxidant properties of chickpeas. *LWT-Food Science and Technology* 42: 885-892.
- Fraile, M.E., D. García-Suárez y A. Martínez-Bernal. 2007. Nutritivas y apetecibles: conozca de leguminosas comestibles. Parte I. Hojas, vainas y semillas. *Contactos* 66: 27-35.
- Gaggiotti, M. 2000. Alimentos según su valor nutritivo. XXI Curso internacional de lechería para profesionales de America Latina, México. IMTA. 23-29.
- Gee, N.S., S. Howell, G. Ryan and C.I. Ragan. 1989. A monoclonal antibody to bovine brain inositol monophosphatase. Immunoaffinity purification of the brain and

kidney enzymes and evidence for their structural identity. *Biochemistry Journal* 264: 793–798.

Gladstone, J.S. 1998. Distribution, origin, taxonomy, history and importance. *In*: J.S. Gladstone, C.A. Atkins and J. Hamblin (Eds). Book *Lupins as Crop Plants: Biology, Production and Utilization* 1-37.

Glencross, B., J. Curnow, W. Hawkins and M. Felsing. 2002. Evaluation of yellow lupin, *Lupinus luteus*, meal as an alternative protein resource in diets for sea cage reared rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the World Aquaculture Society* 33 (3): 287-296.

Glencross, B., J. Curnow, W. Hawkins, G. Kissil, and D. Petterson. 2003. Evaluation of the feed value of a transgenic strain of the narrow leaf lupin (*Lupinus angustifolius*) in the diet of the marine fish, *Pagrus auratus*. *Aquaculture Nutrition* 9: 197-206.

Glencross, B., W. Hawkins, D. Evans, N. Rutherford, K. Dods, R. Maas, P. McCafferty and S. Sipsas. 2006. Evaluation of the nutritional value of prototype lupin protein concentrates when fed to rainbow trout (ONCORHYNCHUS MYKISS). *Aquaculture* 251(1): 66–77.

Graham, P.H. and C.P. Vance. 2003. Legumes: Importance and constraints to greater use. *Plant Physiology* 131: 872–877.

Griffiths, D. W. 1984. An assessment of the potential for improving the nutritive value of field beans *Lupinus* – a progress report. *In*: Hebblethwaite P.D., Darwkins T. C. K., Lockwood G. (Eds). *Lupinus albus: Agronomy, Physiology and Breeding*, The Netherlands. 217-278.

Hill, G.D. 2006. The utilization of lupins in animal nutrition. *In*: E. Santen van and G.D. Hill, (Eds). México, where old and new world lupins meet. Proc. of the 11th International Lupin Conference, 4-9 May 2005, Guadalajara, Jalisco, Mexico, 288-305.

Hodgson, J. and Y. Ping. 2008. Potential for benefit of lupino on obesity and cardiovascular disease risk in humans. *In*: J.A. Palta, and J.B. Berger (Eds). Proc. of the 12th International Lupin Conference. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand. 466-469.

Jiménez-Martínez, C., H. Hernández-Sánchez and G. Dávila-Ortiz. 2003. Production of a yogurth-like product from *Lupinus campestris* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83: 515-522.

Jiménez-Martínez, C., H. Hernández Sánchez, G. Álvarez Manilla, N. Robledo Quintos, J. Martínez Herrera and G. Dávila Ortiz. 2001. Effect of aqueous and

alkaline thermal treatment on chemical composition and oligosaccharides, alkaloids and tannin content of *Lupinus campestris* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81: 1-8.

Julier, B., F. Guines, J.C. Emile and C. Huyghe. 2003. Variation in protein digestibility in dried forage legumes. *Animal Research* 52: 401-412.

Kamalak, A., J.M. Pereira Filho, O. Canbolat, Y. Gurbuz, O. Ozay and C.O. 2004. Chemical composition and its relationship to IN VITRO dry matter digestibility of several tannin-containing trees and shrub leaves. *LIVESTOCK RESEARCH FOR RURAL DEVELOPMENT* 16(4):203-208.

Käss, E. and M. Wink. 1997. Molecular phylogeny and phylogeographic of *Lupinus (Leguminosae)* inferred by nucleotide sequences of rbcL gene and ITS 1 + 2 rDNA. *Plant Systematics and Evolution* 208: 139-167.

Khatoon, N. and J. Prakash. 2006. Nutrient retention in microwave cooked germinated legumes. *Food Chemistry* 97: 115-121.

Khattab, R.Y. and C. Nyachoti. 2009. Nutritional quality of legume seeds as effected by some physical treatments, Part 1: Protein quality evaluation. *LWT-Food Science and Tecnology* 42: 1107-1112.

Kumar, R. and J.P.F. D'Mello. 1995. Anti-nutritional factors in forage legumes. *In: Tropical Legumes in Animal Nutrition*. J.P.F. D'Mello and C. Devendra (Eds). CAB International. U.K. 95-133.

Lagunes-Espinoza LC., E. García-López, A. Delgado-Alvarado, J. López-Upton y J. Jasso-Mata. 2008. Diversidad del género *Lupinus* spp. en la región de los valles de serdán y libres del estado de Puebla. XXII Congreso Nacional y II Internacional de Fitogenética. Universidad Autónoma de Chapingo. 21-26 septiembre. Chapingo, México. Trabajo no. 393.

Lampart-Szczapa, E. 2001. Structure-Functional Properties of Food Proteins. (Z.E. Si Korskin, Ed.) CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. 271 p.

Leterme, P. and Y. Beckers. 1989. Utilisation du pois protéagineux dans l'alimentation des porcs. *Revue bibliographique*. 1. Composition chimique et répercussions nutritionnelles. *Revue de l'Agriculture = Landbouwtijdschrift*, 42: 469-480.

Liener, I.E. 1989. Antinutritional factors in legume seeds: state of the art. *In: Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds*. Proc. of the 1st International Workshop on Antinutritional Factors (ANF) in Legume Seeds, November 1988, Wageningen, The Netherlands, 23-25.

- López, J., I. Tejada, C. Vásquez, J. de D. Garza and A. Shimada. 2004. Condensed tannins in humid tropical fodder crops and their *in vitro* biological activity: Part 1. *Journal of the Science Food and Agriculture* 84: 291–294.
- Li, H., Z. Wang and Y. Liu. 2003. Review in the studies on tannins activity of cancer prevention and anticancer. *Zhong-Yao-Cai*, 26(6): 444-448.
- Mariscal-Landín G., Y. Lebreton and B. Sève. 2002. Apparent and standardised true ileal digestibility of protein and amino acids from faba bean, lupin and pea, provided as whole seeds, dehulled or extruded in pig diets. *Animal Feed Science and Technology* 97:183-198.
- Martin-Cabrejas, M.A., M.F. Diaz, Y. Aguilera, V. Benitez, E. Molla, and R.M. Esteban. 2007. Influence of germination on the soluble carbohydrates and dietary fibre fractions in non-conventional legumes. *Food Chemistry* 107: 1045-1052.
- Martínez-Villaluenga C., J. Frias and C. Vidal-Valverde. 2006a. Functional lupin seeds (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) after extraction of α -galactosides. *Food Chemistry* 98: 291–299.
- Martínez-Villaluenga, C., J. Frias, C. Vidal-Valverde and M. Duranti. 2006b. Effects of oligosaccharide removing procedure on the protein profiles of lupin seeds. *European Food Research and Technology*. 223: 691-696.
- Muzquíz, M., A. Vareia, E. Guillamon, C. Goyoaga, C. Cuadrado y C. Burbano. 2006. Factores no-nutritivos en fuentes proteicas de origen vegetal. Su implicación en nutrición y salud. *Brazilian Journal of Food technology* III: 87-98.
- Núñez-Hernández, G., J.L. Holechek, D. Arthun, A. Tembo, J.D. Wallace, M.L. Galyean, M. Cárdenas and R. Valdez. 1992. Evaluation of fecal indicators for assessing energy and nitrogen status of cattle and goats. *Journal of Range Management* 45: 143-147.
- ODEPA, 2003. Oficina de estudios y políticas agrarias, Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. www.odepa.cl.
- Palander, S., P. Laurinen, S. Perttil, J. Valaja and K. Partanen. 2006. Protein and amino acid digestibility and metabolizable energy value of pea (*Pisum sativum*), faba bean (*Vicia faba*) and lupin (*Lupinus angustifolius*) seeds for turkeys of different age. *Animal Feed Science and Technology* 127: 89–100.
- Patra A, K. y J. Saxena. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of Science Food and Agriculture*. 91: 24–37.

- Pearse, G.H.B., N.P. McMeniman y I.A. Gardner. 1994. Influence of body condition on ovulatory response to lupin (*Lupinus angustifolius*) supplementation of sheep. *Small Ruminants Research* 13: 27-32.
- Petterson, D.S. 2000. The use of lupins in feeding systems –review. *Asian-Aust. Journal of Animal Science* 13: 861-862.
- Planchuelo, A.M. 1999. Biodiversity of lupins in South America. *In*: D.C. Hill(Ed). *Towards the 21st century*. Proc. 8th Int. Lupin Conf., 11-16 mayo 1996. Asilomar, California, 394-400.
- Pichard, G., and P. J. Van Soest. 1977. Protein solubility of ruminant feeds. *In*: Proc. of Cornell Nutrition Conference. Ithaca, New York. 91-98.
- Price, K.R., I.T. Johnson and G.R. Fenwick. 1987. The chemistry and biological significance of saponins in foods and feeding stuff's. *Critical Review in Food Science Nutrition* 26(1): 27-135.
- Prodanov, M., I. Sierra and C. Vidal-Valverde. 2004. Influence of soaking and cookig on the thiamin, rivoflavin and niacin contents of legumes. *Food Chemistry* 84: 271-277.
- Refstie, S., B. Glencross, T. Landsverk, M. Sørensen, E. Lilleeng, W. Hawkins, A. Krogdahl. 2006. Digestive function and intestinal integrity in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed kernel meals and protein concentrates made from yellow or narrow-leaved lupins. *Aquaculture* 261:1382–1395.
- Rodríguez–Ambriz, S.L., A.L. Martínez–Ayala, F. Millán y G. Dávila–Ortiz. 2005. Composition and functional properties of *Lupinus campestris* protein isolates. *Plant Foods for Human Nutrition* 60: 99–107.
- Romero, C. and J. Bakker. 2000. Effects of acetaldehyde in model wine solutions. *International Journal of Food Science and Technology*. 35: 129-140.
- Ruíz, M.A., and A. Sotelo. 2001. Chemical composition nutritive value, and toxicology evaluation of Mexican wild lupins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 49: 5336-5339.
- Ruíz-López, M. A., P.M. García-López, H. Castañeda-Vazquez, J. Zamora N., P. Garzón de la Mora, J. Bañuelos Pineda, C. Burbano, M.M. Pedrosa, C. Cuadrado, and M. Muzquiz. 2000. Chemical composition and antinutrient content of three *Lupinus* species from Jalisco, Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis* 13(3): 193-199.

- Ruíz-López, M.A., M.R. Rodríguez y S. Navarro P. 2006. Evaluación químico-nutricional de *Lupinus exaltatus* Zucc., del Nevado de Colima, México, como fuente potencial de forraje. *Interciencia* 31(10): 758–761.
- Saini, H.S. 1989. Legume seed oligosaccharides. *In*: J. Huisman, T.F.B. van Der Poel and I.E. Liener (Eds.). *Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds*. Proc. of the 1st International Workshop on Antinutritional Factors (ANF) in Legume Seeds. November 23-25, 1988. Pudoc, Wageningen, Netherlands. 329-341.
- Sangronis, E., P. Teixeira y M. Otero. 2006. Manaca, batata y ñame: posibles sustitutos del trigo en alimentos para dos etnias del Amazonas Venezolano. *ALAN* 56 (1): 77-82.
- Sipsa, S. 2008. Lupin products-concepts and reality. *In*: J.A. Palta and J.B. Berger (eds). *Lupins for Health and Wealth*. Proc. of the 12th International Lupin Conference, 14-18 Sept. 2008, Fremantle, Western Australia. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand, 420-424.
- Smith D.M., S.J. Tabrett, S.J. Irvin, J. Wakeling, B.D. Glencross and D. Harris. 2007. Response of the black tiger shrimp, *Penaeus monodon* to feed containing the lupin alkaloid, gramine. *Aquaculture* 272: 556–563.
- Smith, D. 2005. Adapting lupins for use in prawn diets – Benefits and constraints. *In*: *Seeding a Future for Grains in Aquaculture Feeds*. B.D. Glencross (Ed.). Department of Fisheries, North Beach, WA, Australia. 34 p.
- Sreerama Y. N., V. B. Sashikala and V. M. Pratapa. 2009. Effect of enzyme pre-dehulling treatments on dehulling and cooking properties of legumes. *Journal of Food Engineering* 92(4): 389-395.
- Stevens, P.F. 2009. Angiosperm Phylogeny Website. Version 9. The International Plants Names Index. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Stobiecki, M., M. Markiewicz, Z. Michalski and K. Gulewicks. 1992. New concept of the bitter lupin seeds utilization. 1st Conf. Eur. sur les Proteagineux. Angers, France.
- Sujak, A., A. Kotlarz. and W. Strobel. 2006. Compositional and nutritional evaluation of several lupin seeds. *Food Chemistry* 98: 711–719.
- Taiz, L., y E. Zeiger. 2006. *Plant Physiology*. 2^a ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 764 p.
- Taranathan, R. N. and S. Madevamma. 2003. Grain legumes –a boom to human nutrition. *Trends in Foods Science and Technology* 14: 507-518.

- Thomson, W.T. 1993. Agricultural Chemicals Book II Herbicides. Thomson Publications Fresno, CA. 310 p.
- Thonney, M.L., B.A. Palhof, M.R. DeCarlo, N.L. Firth, R.L. Quaas, D.J. Perosio, D.J. Duhaime, S.R. Rollins and A.Y.M. Nour. 1985. Sources of variation of dry matter digestibility measured by the acid insoluble ash marker. *Journal of Animal Science* 68: 661-668.
- Ucero, A., A.L. Haza, N. Arranz, A. Garcia, y P. Morales. 2007. Agentes quimiopreventivos de la dieta (1): Caratenoides, isotiocianatos y alilsulfuros. *Alimentaria* 388: 64-71.
- Urbano, D. y C. Dávila. 2005. Leguminosas arbóreas para optimizar la producción de leche y carne. *In: C. González y E. Soto. (Eds). Manual de Ganadería Doble Propósito. Fundación GIRARZ. Editorial Astro Data, Maracaibo. 213-218.*
- Verité, R., P. Chapoutot, B. Michalet-Doreau, J.L. Peyraud and C. Poncet. 1987. Révision du système des protéines digestible dans l'intestin (PDI). *Bull. Tech. CRVZ. Theix, 70: 19-34.*
- Vicenti, A., F. Toteda, L. Di Turi, C. Cocca, M. Perrucci, L. Melodia and M. Ragni. 2009. Use of sweet lupin (*Lupinus albus* L. var. multitalia) in feeding for Podolian young bulls and influence on productive performances and meat quality trait. *Meat Science* 82: 247–251.
- Vidal-Valverde, C., M. Pascual-Montarner, C. Diaz-Pollan and G. Vicente. 1998. Changes of antinutritional factors during germination of peas. *In: 3rd European Conference on Grain Legumes. Valladolid, España. 388 p.*
- Villavicencio, M.A., y B.E. Pérez Escandón. 1998. Lista florística del Estado de Hidalgo. Recopilación bibliográfica. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, Hidalgo, 147 p.
- Volek, Z., and M. Marounek. 2009. Whole white lupin (*Lupinus albus* cv. Amiga) seeds as a source of protein for growing-fattening rabbits. *Animal Feed Science and Technology* 152: 322–329.
- Zamora-Natera, F., G. Virgen C., A. Bernal A., S. Fausto G., and M. Ruiz L. 2008. *In vitro* antifungal activity of *Lupinus montanus* extract and lupanine on *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *In: Proc. 10th Int. Lupin Conference. E. van Santen, M. Wink, S. Weissmann, and P. Romer (Eds.). Laugarvatn, Iceland. 255-256.*
- Zhang, Y., M. Øverland, M. Sørensen, M. Penn, L.T. Mydland, K.D. Shearer y T. Storebakken. 2012. Optimal inclusion of lupin and pea protein concentrates in

extruded diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), T. Aquaculture , 344-349: 100-113.

Zyla, K., M. Fortuna, M. Mika and M. Czubak. 2004. Limited phytate hydrolysis by endogenous phytase of sesame seeds during germination. *In: Recent Advances of Research in Antinutritional Factors in Legume Seeds and Oilseeds. Fourth International Workshop on Antinutritional Factors in Legume Seed and Oilseeds.* G.D. Muzquiz, C. Hill, M.M. Cuadrado, U. Pedroza (Eds.). Eaap Publication No. 110. Toledo, España. 347 p.

CAPÍTULO III

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PLANTA COMPLETA Y SEMILLAS EN CINCO ESPECIES DE *LUPINUS*

3.1. INTRODUCCIÓN

En zonas tropicales, uno de los principales factores limitantes en la alimentación animal es el bajo contenido de proteína presente en las gramíneas, principal componente de las praderas; las leguminosas herbáceas pueden jugar un papel importante como complemento proteico al utilizarse en asociación con las gramíneas o como concentrado en las dietas animales.

A nivel mundial, una de las leguminosas herbáceas de mayor potencial como fuente de proteína vegetal es el lupino (*Lupinus* sp.), también conocido como altramuз ó tarwi (White *et al.*, 2007; Glencross, 2001 y 2004). Es una planta herbácea anual, leñosa con flores multicolores y vainas (Duranti *et al.*, 2008), crece en suelos ácidos, es tolerante al frío y se adapta a condiciones marginales por lo que se desarrolla en diversos ambientes (Gladstone, 1998).

Las semillas de lupino poseen un alto contenido de proteínas (30–49%), las variedades mejoradas son usadas en la alimentación humana como aditivo de productos lácteos (Jiménez-Martínez *et al.*, 2003a) y como ingrediente para panificación y repostería (Sipsa, 2008; Kohajdova *et al.*, 2011), en formulaciones alimentarias para la salud (Hodgson y Ping, 2008), como complemento o sustitución en dietas para bovinos (Bayourthe *et al.*, 1998; Vicenti *et al.*, 2009), ovinos (Pearse *et al.*, 1994), cerdos (Mariscal-Landín *et al.*, 2002), aves (Palander *et al.*, 2006) y otros monogástricos (Volek y Marounet, 2009), así como en la alimentación de peces (Refstie *et al.*, 2006; Smith *et al.*, 2007).

En México, las especies silvestres de este género se distribuyen en la mayor parte del territorio nacional, con una alta concentración en la sierra Madre Occidental y el Eje Neovolcánico Transversal (Ruíz-López *et al.*, 2000). A diferencia de las variedades mejoradas de lupino que contienen contenidos de alcaloides quinolizídínicos inferiores a 0.02% (Huyghe, 1997), las especies silvestres de

Lupinus presentan contenidos superiores a 1.5% (Keeler, 1989), lo que les confieren un sabor amargo (Ruíz y Sotelo, 2001) y limita su uso en alimentación animal.

Diversos estudios indican que la calidad de la proteína de *L. campestris*, especie mexicana recolectada en el estado de Morelos, es adecuada para su utilización en la alimentación humana (Jiménez-Martínez *et al.*, 2003b); Rodríguez-Ambríz *et al.*, 2005), y las características nutricionales que presenta *L. exaltatus*, obtenidas en el Nevado de Colima, para la alimentación animal (Ruíz-López *et al.*, 2006).

Dada la importancia nutricional del género y la gran diversidad de especies presentes en nuestro país, es necesario ampliar el conocimiento sobre las características nutritivas de estas especies que crecen en diversas regiones del país para conocer su potencial alimentario. Por ejemplo, en la región de los Valles de Libres y Serdán en el estado de Puebla, crecen al menos siete especies de *Lupinus*, la mayoría con potencial de domesticarse para su cultivo extensivo en la zona, o bien en sistemas agrosilvícolas en virtud de su posible uso como abono verde asociado a especies arbóreas comerciales. Por ello el objetivo del presente estudio fue determinar la composición química del follaje y las semillas de *L. montanus* H.B.K, *L. campestris* Cham. & Schtdl, *L. exaltatus* Zucc, *L. hintonii* C.P. Smith y *Lupinus* sp. presentes en esta región del centro este de Puebla.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Sitios de recolecta

Los sitios de recolecta del material vegetal se ubicaron en los municipios de Esperanza, Chalchicomula de Sesma y Tlachichuca del estado de Puebla (Figura 6), que se localizan entre los 18°48'30" y 19°16'30" de latitud norte y entre 97°18'10" y 97°35'20" de longitud oeste, a una altitud de 1 800 a 3600 msnm (INEGI, 2004). Estos municipios presentan un clima templado subhúmedo, con una temperatura media de entre 12 a 18°C y precipitación media anual que varía de 400 a 600 mm.

3.2.2. Material vegetal

Se realizaron muestreos masales de material vegetativo (hojas mas tallo) de las especies *L. montanus*, *L. campestris*, *L. exaltatus*, *L. hintonii*, y una especie de lupino no identificada aun (*Lupinus* sp.), durante el periodo de floración que comprendió los meses de mayo y junio de 2011. El material reproductivo (vainas maduras) se obtuvo al final del periodo de fructificación en los meses de julio y agosto del 2011.

3.2.3. Procesamiento de muestras

Las plantas recolectadas de cada especie fueron separadas y colocadas en bolsas de papel por componentes: semillas, vainas, hojas y tallos. Cada componente se deshidrató a 60°C por 72 h en una estufa de convección mecánica marca ShellLab modelo CE3F de acuerdo a la metodología descrita por la AOAC (1990). Posteriormente se molieron en un molino de cuchillas marca Willey modelo 4 equipado con una criba con orificios de 1 mm de diámetro. Las harinas obtenidas se guardaron en frascos de plásticos para posteriores análisis químicos.

3.2.4. Análisis químico proximal

Para conocer la composición química proximal de las muestras se realizaron análisis bromatológicos utilizando, en el caso de las semillas, como control pasta de soya donada por la industria de alimentos balanceados Albaca.

3.2.4.1. Materia seca (MS) y humedad

Para la determinación de la materia seca (MS) y la humedad se utilizó la metodología de AOAC (1990). Se tomaron al azar tres plantas completas por especie y se separaron en sus componentes (tallo más hojas, vainas, semillas) considerando cada planta como una repetición.

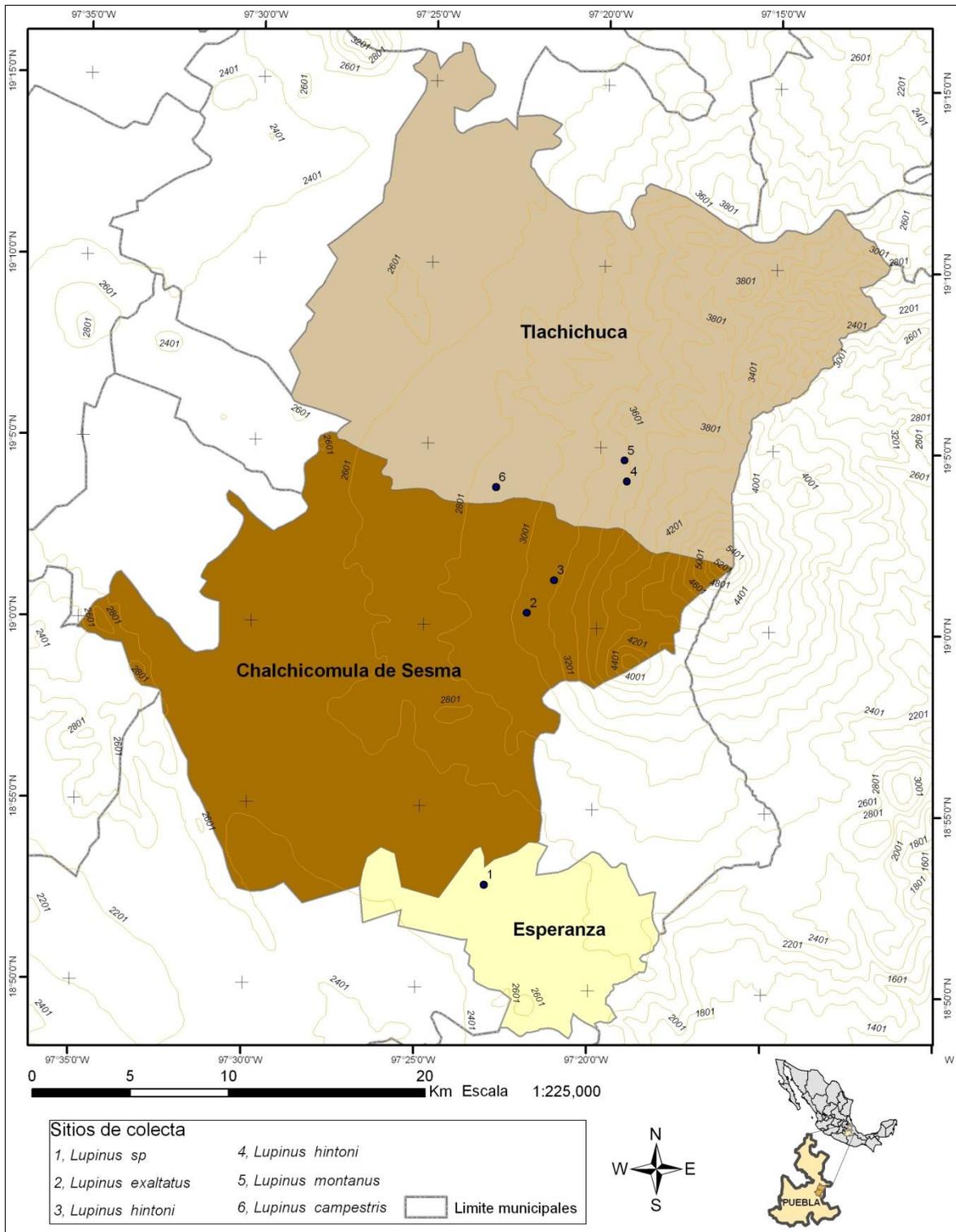


Figura 7. Localización de los sitios de recolecta de *Lupinus* spp. en la Región de los Valles de Libres y Serdán, Puebla.

Enseguida se registró el peso en fresco de cada uno de los componentes; los cuales se colocaron en bolsas de papel y se introdujeron en la estufa de aire forzado marca ShellLab modelo CE3F a 60°C por 72 h. Al término, las muestras se colocaron en un desecador para que alcanzaran la temperatura ambiente; se registró el peso seco cada muestra, y por diferencia de peso se obtuvo el porcentaje de humedad y MS, de acuerdo a la fórmula:

$$\% \text{ humedad} = \frac{\text{Peso de muestra húmeda} - \text{Peso de muestra seca}}{\text{Peso de muestra húmeda}} \times 100$$

$$\% \text{ materia seca} = 100 - \% \text{ humedad}$$

3.2.4.2. Proteína cruda (PC)

Se determinó a partir del análisis de Nitrógeno total multiplicándolo por el factor 6.25 de acuerdo con la metodología establecida por la AOAC (1990). El Nitrógeno total se cuantificó mediante el método de Micro-Kjeldahl. Se pesaron por triplicado 0.3 g de material molido de cada componente de la planta por especie, incluyendo una muestra estándar de concentración conocida de Nitrógeno total como referencia. Estas se colocaron en tubos de ensaye donde se adicionaron 3 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄) y 1g de mezcla catalizadora compuesta de sulfato de potasio (K₂SO₄) y sulfato de cobre (Cu₂SO₄). Todo se homogenizó en vortex. Posteriormente se procedió a la digestión de las muestras en block digestor Tecator hasta alcanzar una temperatura de 360°C, por 4 h de digestión para que las muestras en ebullición tornaran a un color azul-verde claro cristalino. Las muestras digeridas se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se destilaron en un equipo Labconco modelo 200830 EE.UU., agregándoles 10 ml de hidróxido de sodio 0.102040816 N y recuperándose en matraces que contenían 6 ml de ácido bórico al 4%. Estos fueron titulados con ácido clorhídrico valorado a 0.1N formando por cada equivalente de boro-amoniaco, un equivalente de sulfato-amoniaco (sulfato de amonio), en donde un ml de ácido clorhídrico neutraliza

0.014 g de nitrógeno en forma de ión amonio. Los cálculos para la determinación del porcentaje de Nitrógeno total Microkjeldhal son:

$$\%NT = \frac{(\text{GHCL} - \text{GHCL Blanco})(\text{NHCL})(1.4) \times 6.25}{\text{Peso de la muestra}}$$

Dónde:

NT= Nitrógeno total

GHCL= Gasto ácido clorhídrico

GHCL Blanco= Gasto ácido clorhídrico Blanco

NHCL= Normalidad del ácido clorhídrico

1.4= Factor de ajuste para Nitrógeno (0.014 miliequivalentes multiplicado por 100).

3.2.4.3. Grasa (extracto etéreo, EE)

El contenido de grasa se determinó mediante la técnica descrita por AOAC (1990). Se pesaron por duplicado 1.5 g de muestra de cada especie y se colocaron en un papel filtro dentro de un dedal que se fijó en los porta dedales del equipo de extracción marca Goldfish modelo TE-044-8/50 Brasil. Se agregaron 40 ml de éter de petróleo a los vasos del equipo (los vasos fueron previamente secados a 65°C por 12 horas y se registró el peso de cada uno). Estos se fijaron al condensador y se dejaron extraer durante 4 h a una temperatura constante de 125°C. Finalizado el tiempo de extracción, los vasos se colocaron en una estufa a 65°C durante 30 minutos para liberar residuos de éter de petróleo. Después de este tiempo se colocaron en un desecador para que se enfriaran a temperatura ambiente y se pesaron nuevamente. Se calculó el porcentaje de extracto etéreo en base seca utilizando la siguiente ecuación.

$$\%EE(\text{base seca}) = \frac{\text{Peso de vaso con residuo} - \text{Peso de vaso vacío}}{\text{g de muestra}} \times 100$$

3.2.4.4. Componentes de la Fibra

Se pesaron por duplicado 0.4 g de cada muestra, agregándoseles soluciones detergente neutro y detergente ácido para romper las paredes celulares y

determinar sus componentes de acuerdo a la metodología propuesta por van Soest *et al.* (1991).

3.2.4.4.1. Fibra Detergente Neutro (FDN)

Las muestras se colocaron en bolsas de nylon (4 cm de ancho x 8 cm de largo) en el equipo para determinar fibras marca TECNAL modelo TEC-149. En el equipo, a las muestras se les agregaron 50 ml de una solución neutra que contenía 30 g de Lauril sulfato de sodio, 18.61 g de EDTA, 4.56 g de osfato ácido disódico, 6.81 g de Tetraborato de sodio y 10 ml de Etilen glicol, ajustada a pH 7, y se dejaron en reflujo durante una hora. Transcurrido el tiempo de reflujo, las muestras se lavaron con abundante agua para eliminar completamente la solución detergente. Estas se secaron a 65°C en una estufa de aire forzado hasta obtener peso constante, finalmente se colocaron en un desecador y se pesaron. El rendimiento de la fibra detergente neutro recuperado se expresó como porcentaje de constituyente de la pared celular (CPC ó FDN), utilizando la siguiente fórmula:

$$FDN = \frac{\text{Peso bolsa + muestra} - \text{bolsa}}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

3.2.4.4.2. Fibra Detergente Ácido (FDA)

El residuo de la fibra detergente neutro se pesó y se tomó como peso inicial. Estos se colocaron en el equipo para determinar fibras TECNAL modelo TEC-149 a 90°C durante una hora, agregándose la solución ácida que contenía 20 g de CBTA y 27.17 ml de ácido sulfúrico (H₂SO₄). Transcurrido el tiempo de reflujo, las bolsas se lavaron con abundante agua hasta eliminar la solución ácida, se secaron a 65°C en una estufa de aire forzado hasta obtener peso constante, se colocaron en un desecador y se pesaron. Para calcular la fibra detergente ácido se empleó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ FDA} = \frac{(\text{Peso bolsa} + \text{muestra}) - \text{Peso bolsa}}{\text{Peso de la muestra secada en estufa}} \times 100$$

3.2.4.4.3. Lignina

El contenido de lignina se determinó mediante la Tecnología ANKOM - FSA72. Se pesaron por duplicado 0.5 g de muestra del residuo de la fibra detergente ácido. Previo a ello, se registró el peso de las bolsas de filtros ANKON, se identificaron y secaron a 55°C por 12 horas en una estufa de aire forzado. Enseguida se colocaron las muestras pesadas en las bolsas y se sellaron con un sellador de calor. Se colocaron en un vaso de precipitado y se agregó una solución de ácido sulfúrico al 72% (650 ml de H₂SO₄ y 350 ml de agua). Las muestras se mantuvieron en inmersión en la solución de ácido por tres horas, con agitación suave cada 30 minutos.

Transcurrido el tiempo, las bolsas se lavaron con abundante agua eliminando la solución de ácido. Enseguida se realizaron dos lavados, de cinco minutos cada uno, con agua a 100°C. Se secaron a 65 °C en una estufa de aire forzado por 12 h hasta obtener peso constante. Este dato se registró como peso seco de estufa. Estas muestras seca fueron colocadas en crisoles (previamente identificados, secados a 65°C y pesados), para ser calcinadas en la mufla a 550°C por tres horas. Al término se colocaron en un desecador, se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente y se pesaron. Por diferencia de peso se cálculo lo siguiente:

$$\% \text{ Lignina} = \frac{\text{Peso de muestra inicial} - \text{Peso de muestra final}}{\text{Peso de muestra inicial}} \times 100$$

3.2.4.5. Minerales (cenizas)

Se determinó la materia inorgánica, o cenizas según AOAC (1990). Se registraron los pesos de los crisoles y de las muestras previamente secados a 65°C por una hora en una estufa de aire forzado. A los crisoles se les agregó 1 g de muestra y

se sometieron a una temperatura de 550°C por 5 h en una mufla TSW modelo “J”. Después de este tiempo se colocaron en un desecador enfriándose hasta temperatura ambiente y se pesaron. Para determinar la cantidad de cenizas presentes en la muestra se utilizó la fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = (\text{Peso crisol} + \text{muestra}) - (\text{Peso crisol} + \text{cenizas}) \times 100$$
$$100 - \% \text{ Cenizas} = \% \text{ MO}$$

3.2.4.6. Determinación de factores antinutricionales

3.2.4.6.1. Alcaloides totales

Desengrasado

Las muestras secadas en estufa de aire forzado a 60°C durante 12 h, se desengrasaron siguiendo la metodología propuesta por Muzquiz *et al.* (1993). Se pesaron por duplicado 0.5 gramos de cada muestra y depositaron en tubos de nalgene de 50 ml previamente secados en estufa a 37°C. Se adicionaron 10 ml de éter de petróleo y se homogenizaron en vórtex por 1 min. Se incubaron en baño maría a 40°C por 30 minutos. Transcurrido el tiempo de incubación, las muestras se centrifugaron a 4500xg ó 6651rpm a 25°C por 5 minutos en una centrífuga marca Sigma modelo 3-16k. Se decantó la fase líquida o el sobrenadante en un matraz erlenmeyer de 50 ml (previamente secado a 70°C por 2 horas y pesado en vacío). Este paso se repite tres veces. El residuo final de las muestras se colocó en una campana de extracción por 24 h hasta evaporación completa del éter de petróleo.

Extracción y cuantificación

Las muestras desengrasadas se colocaron en la estufa de aire forzado a 37°C por 24 h. Posteriormente, se colocaron en tubos de nalgene previamente pesados y se añadieron 5 ml de ácido tricloroacético 0.3M, y se homogenizaron en vórtex por 1 minuto. Se centrifugaron a 4500xg ó 6651rpm a 25°C por 15 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se decantó la fase líquida o sobrenadante en embudos de separación de 250 ml (esta operación se repitió dos veces más). El decantado se

alcalinizó con 1 ml de hidróxido de sodio 10M agitando suavemente y se dejó reposar por 1 minuto. Al decantado ya alcalinizado se le agregaron 5 ml de diclorometano, se agitó vigorosamente y se dejó reposar por 5 minutos. La fase transparente (fase inferior) o fase del diclorometano se decantó en tubos de vidrio de 20 ml (previamente lavados, secados y pesados) con tapa roscada (repitiendo esta operación tres veces más). Una vez obtenido los 20 ml del decantado, éstos se dejaron evaporar a temperatura ambiente (o en baño maría a 40°C) hasta su completa evaporación. Posteriormente los tubos con el residuo, se colocaron en una estufa de aire forzado para su secado completo por 2 h a 40°C. Al final se registró el peso de tubos mas muestra y se calculó el porcentaje de alcaloides totales por diferencia de pesos.

$$\% \text{ de alcaloides totales} = \frac{(P2 - P1)}{P3} \times 100$$

Donde:

P1: peso de tubo de vidrio vacío sin tapa

P2: peso de tubo de vidrio más residuo sin tapa

P3: peso residuo desengrasado y secado

3.2.4.6.2. Polifenoles totales

Desengrasado

Las muestras secadas en estufa de aire forzado a 60°C durante una hora, se desengrasaron previamente siguiendo la metodología descrita de Múzquiz *et al.* (1993) (ver 3.2.11.1.)

Extracción

Las muestras desengrasadas se colocaron en la estufa de aire forzado a 37°C por dos h. Se pesaron 0.5 g de muestra por triplicado. Cada muestra se colocó en tubos de nalgene previamente pesados y se le añadió 5 ml de metanol al 80%. La mezcla se homogenizó en vórtex por 1 minuto y se incubó en baño maría a 50°C por 30 minutos. Enseguida, se centrifugó a 5000xg a 25°C por 10 minutos. Una vez transcurrido el tiempo, se decantó la fase líquida o sobrenadante en tubos de

ensaye de 20 ml (la operación se repitió dos veces más). El decantado (15 ml aproximadamente) se dejó evaporar a 40°C en baño maría hasta un volumen de 2.5 ml (Gallegos-Infante *et al.*, 2010). El concentrado se conservó en refrigeración a 4°C y al abrigo de la luz hasta su cuantificación.

Cuantificación

Se tomaron 0.5 ml del extracto de polifenoles en tubos de vidrio de 20 ml con tapa roscada. Se añadieron 6 ml de agua destilada y 100 µl de reactivo de Folin-Ciocalteu (marca Sigma). La mezcla se homogenizó en vórtex por 1 min. Inmediatamente se le agregaron 2 ml de carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 15% recién preparado, y se homogenizó suavemente. Se le adicionaron 1.4 ml con agua destilada para un volumen final de 10 ml. La mezcla final se agitó vigorosamente y después se dejó reposar por una hora al abrigo de la luz y temperatura ambiente. La absorbancia se leyó a 760 nm en un espectrofotómetro UV-Visible marca Thermo electron corporation modelo Génesis 10UV (Jiménez-Martínez *et al.*, 2003). La curva de calibración se realizó con un estándar de ácido gálico (pesar 2.5 mg de ácido gálico y diluir en 25 ml de agua destilada para una concentración de 0.1mg/ml) y siguiendo el mismo procedimiento de cuantificación que para las muestras. Para determinar la concentración de compuestos fenólicos totales se interpola el resultado de la absorbancia en la curva de calibración (considerar multiplicar por el factor de dilución), a partir de la ecuación:

$$Y=a(x) + b$$

$$\text{Donde: } X \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} \text{ en muestra} \right) = y - \frac{b}{a}$$

3.2.4.6.3. Taninos condensados

Para la extracción de taninos condensados se procedió a aplicar la técnica de Terrill *et al.* (1992) modificada por López *et al.* (2004). Las muestras se secaron en estufa de aire forzado a 60°C durante 12 h. Posteriormente 250 mg de harina de cada componente vegetal se pesaron por triplicado. Cada uno se colocó en un tubo para centrifuga de 50 ml con tapa. Se le añadieron 10 ml de una solución de

ácido ascórbico al 0.1% en acetona-agua (70:30 v/v). Los tubos se agitaron en un agitador vortex y se centrifugaron a 9,000 x g (9406 rpm) por 15 minutos. Se decantó el sobrenadante. Este paso se repitió tres veces. Los sobrenadantes de las tres extracciones se combinaron en un embudo de separación de 125 ml, se añadieron 15 ml de éter dietílico, se agitaron vigorosamente y se dejaron en reposo 5 minutos para que las dos fases se separaran y posteriormente decantar la parte inferior. La solución obtenida de la decantación, fue evaporada en baño maría a menos de 40°C por 3 h para eliminar los residuos solventes. La fase acuosa se diluyó a 25 ml con agua destilada y se almacenó en frascos color ámbar en el refrigerador a 4°C para la cuantificación de taninos condensados libres, taninos condensados adheridos a la proteína y a la fibra.

Para la cuantificación de taninos condensados libres (TCL), se colocó por duplicado, en tubos de ensayo previamente secados e identificados, 1 ml del extracto y 6 ml de solución recién preparada de butanol-HCl (95:5). La mezcla se homogenizó en vórtex por 1 minuto y se incubó en baño maría a 95°C por 75 minutos. Transcurrido el tiempo de incubación, se enfriaron los tubos en baño de agua helada y se registró la absorbancia a 550 nm en un espectrofotómetro UV-visible marca Thermo electron corporation modelo Génesis 10UV.

La extracción de los taninos condensados unidos a proteínas (TCP) se realizó como sigue: a los residuos sólidos de la extracción se le agregaron 15 ml de una solución DSS (de 10 g l⁻¹ dodecil sulfato sódico, hidrocloreuro de 50 g l⁻¹ de 2-mercaptoetanol y Tris 10 mM, ajustado a pH 8,0 con HCl). Cada tubo se colocó en un baño de agua a temperatura de ebullición (95°C) durante 45 minutos. Los tubos se enfrían entonces y se centrifuga a 18,000xg durante 15 minutos, y el sobrenadante se transfiere a otro tubo para centrifuga de 50 ml. El procedimiento se repitió una vez más. Los sobrenadantes combinados se diluyeron hasta un volumen de 50 ml con DSS para la determinación de TCP. Para la cuantificación se procedió como para taninos condensados libres, pero utilizando un blanco con DSS. Los taninos unidos a fibra (TCF) se extrajeron directamente de los residuos de extracción TCP como a continuación: se pesaron 50 mg del residuo de la

extracción del TCP y se colocaron en tubos pyrex de 20 ml. Se añadió 1 ml de cada muestra extracto a 6 ml de una solución recién preparada de 1-butanol-HCl (95:5). Se colocó el tubo en un baño de agua hirviendo durante 75 min con el fin de romper los pigmentos que forman antocianidinas. La absorbancia se leyó en un espectrofotómetro UV-Vis a 550 nm. Se usó Butanol-HCl (95:5) como blanco. Para la cuantificación de TCL, TCP y TCF se utilizó como estándar una solución de catechín de 1 mg/ml para preparar soluciones de 21.4, 42.8, 64.2, 85.7 y 107.4 mg de catechín equivalente/ml. La ecuación utilizada fue $Y=0.0014x - 0.0069$, ($r^2=0.9645$). El total de taninos condensados (TTC) se calcula sumando los valores obtenidos para la TCL, TCP y TCF, expresada en mg kg^{-1} del TTC.

3.2.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron bajo un diseño completamente al azar con tres repeticiones y cinco tratamientos (cinco especies de *Lupinus*) para los componentes: tallo más hoja y vainas, con el paquete estadístico (SAS, 2001). En el caso del componente semilla, el ANOVA se realizó con cinco tratamientos (cuatro especies de *Lupinus* más pasta de soya). Para conocer las diferencias estadísticas entre especies en cada componente, se empleó la pruebas de medias de Tukey ($p \leq 0.5\%$) (Steel y Torrie, 1988).

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. Composición química

En general el contenido de PC, EE, ELN y ALC de las cinco especies de *Lupinus* es mayor en las semillas que en hojas más tallo y en vainas (Cuadro 6). El mayor contenido mineral se encontró en las hojas más tallo y de FDN y FDA en vainas.

3.3.1.1. Humedad y Materia seca (MS)

El contenido de humedad en las muestras varió entre componentes. En hojas más tallo de 68.7% (*Lupinus* sp.) a 82.6% (*L. exaltatus*); en vainas de 74.9% (*Lupinus* sp.) a 86.8% (*L. exaltatus*); en semillas de 72.8% (*L. exaltatus*) a 80.5% (*L.*

hintonii). Por consiguiente los contenidos de materia seca fluctuaron de 31.3 a 17.4% en hojas mas tallo; 13.2% a 25.1% y en semillas de 19.5% a 27.2%.

Cuadro 6. Composición química del follaje y de la semilla de cinco especies de *Lupinus* cosechadas a floración.

Componente	%	<i>Lm</i>	<i>Le</i>	<i>Lc</i>	<i>Lh</i>	<i>Lsp</i>	Psoy	S.E.D	Significancia
Hoja + tallo	H	81.6	82.6	81.0	82.1	68.7		1.13	**
	PC	22.6	25.3	25.5	22.2	19.1		0.30	***
	EE	0.4	1.7	0.1	0.2	1.4		0.04	***
	CEN	9.4	9.4	10.6	5.9	9.2		0.23	***
	FDN	44.1	43.2	38.2	42.9	43.4		0.35	***
	FDA	30.1	27.6	21.7	26.3	26.5		0.31	***
	ELN	23.4	34.1	25.3	28.6	26.7		0.62	**
	LIG	13.9	12.9	12.5	13.0	13.6		0.43	NS
	ALC	1.2	2.1	1.4	3.3			0.14	**
	PF [£]	656	630	556	813			34.8	*
Vainas	H	79.6	86.8	84.9	86.3	74.9		2.77	NS
	PC	14.6	18.3	22.8	10.9	18.6		0.21	***
	EE	0.4	0.1	0.6	0.1	0.4		0.19	**
	CEN	5.5	6.5	5.4	4.8	5.1		0.14	**
	FDN	63.9	57.0	54.4	68.4	53.7		0.58	***
	FDA	39.3	34.6	34.0	47.1	30.3		0.45	***
	ELN	15.3	17.8	16.7	15.6	20.9		0.73	*
	LIG	11.8	9.1	12.1	9.2	11.1		0.74	***
	ALC	2.4	2.6	2.6	5.8			0.19	***
	PF [£]	467	362	444	590			27.5	*
Semillas	H	78.5	72.8	85.8	90.5	79.7		3.40	NS
	PC	43.5	38.5	40.5	32.5		50.2	2.39	*
	EE	7.1	6.5	7.5	7.0		0.02	0.65	**
	CEN	4.3	5.2	4.4	6.3		10.3	0.42	**
	FDN	21.6	24.7	16.7	18.4		11.4	0.47	***
	FDA	4.8	4.4	5.0	7.9		3.9	0.39	**
	ELN	28.3	22.9	39.3	24.4		27.8	3.00	*
	ALC	2.4	2.6	2.6	5.3			0.52	*
	PF [£]	328	221	314	554			37.6	*

H=humedad; PC=Proteína cruda; EE= Grasa; CEN=Minerales; FDN= Fibra detergente neutro; FDA= Fibra detergente ácido; ELN= Extracto libre de nitrógeno; LIG= Lignina; ALC= Alcaloides totales; PF= Polifenoles totales, [£]mg 100g. *Lm Lupinus montanus*, *Le Lupinus exaltatus*, *Lc Lupinus campestris*, *Lh Lupinus hintonii*, *Lsp Lupinus sp.* Psoy Pasta de soya. S.E.D.= desviación estándar; NS=no significativo; *p≤0.05; **p≤0.001;***p≤0.0001

3.3.1.2. Proteína cruda (PC)

En las semillas, el contenido de proteína cruda varió de 32.5% a 43.5% entre las especies de *Lupinus*. La pasta de soya (*Glycine max* L. Merrill) presentó 50.2% (Figura 8).

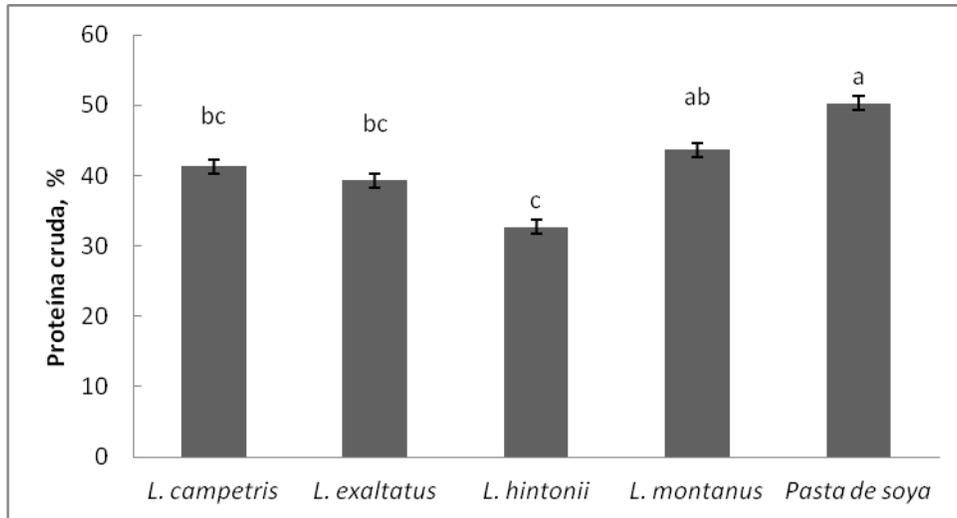


Figura 8. Contenido de proteína cruda (%) en semillas de diferentes especies de *Lupinus* y en pasta de soya (*Glycine max*).

La especie *L. montanus* fue la que presentó el mayor contenido de PC en semillas (43.5%) con diferencia significativa ($P \leq 0.05$), con respecto a las otras tres especies, y similar al de la pasta de soya. La especie *L. hintonii* (32.5%) el menor y estadísticamente igual al de *L. exaltatus* (38.5%) y *L. campestris* (40.5%).

Estos valores son superiores a los rangos determinados en otras leguminosas de grano utilizadas en alimentación humana y animal como garbanzo (*Cicer arietinum* L.) (18.4-29.0%), lenteja (*Lens culinaris* M.) (20.6-28.6%), chícharo (*Pisum sativum* L.) (19.3-34.7%) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) (16.8-26.4%) (Roy *et al.*, 2010; Boye *et al.*, 2010; De Almeida *et al.*, 2006), pero es semejante al de la semilla de soya (*Glycine max*, 40.5%) (Cubero y Moreno, 1983; Favier *et al.*, 1995).

Otros estudios realizados en varias localidades de México con especies de *Lupinus*, confirman los altos contenidos de proteína que presentan las especies silvestres mexicanas, aunque se observan variaciones en tales contenidos dependiendo del año o del sitio de recolecta. Gaviola y Gaviola (2008) señalan que éstas pueden deberse al efecto de factores del medio ambiente como zonas de cultivo, fertilidad de suelo, temperatura que inciden sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas y alteran la calidad de los productos. Lagunes-Espinoza *et al.* (2012) muestra contenidos similares para *L. montanus* y *L. hintonii* pero más altos para *L. campestris* (33.9 a 48.1%) y más bajos que el rango observado en *L. exaltatus* (31.7-40.4%) recolectados en 2007 en el mismo sitio del estado de Puebla. Contenidos similares se reportan para *L. exaltatus* (38.4%), *L. reflexus* (38.8%) y *L. mexicanus* (36.7%) cosechados en Jalisco (Ruíz y Sotelo, 2001); para *L. exaltatus* en Colima (Ruíz-López *et al.*, 2006); pero más bajos que los reportados para *L. campestris* (44%) en el estado de Morelos (Jimenez-Martinez *et al.*, 2001, 2009).

La amplitud de variación entre especies de lupino fue mayor (32.5-43.5%) que al indicado por Khattab y Nyachoti (2009) (30-40%); e inferior (37.9-48.2%) al de Sujak *et al.*, 2006; Martínez-Villaluenga *et al.*, 2006). Con respecto a las especies domesticadas, las especies mexicanas estudiadas presentaron contenidos similares a *L. angustifolius* L. (36.5%), especie ampliamente cultivada en Australia (Glencross *et al.*, 2003) y a *L. mutabilis* L. (38.8-44.8%), especie andina (Mujica y Jacobsen, 2006; Ortega-David *et al.*, 2010; León-Marrou *et al.*, 2011).

El contenido de PC de las hojas más tallos durante la etapa de floración de las especies de *Lupinus* varió de 19.1 a 25.5% (Figura 9). Las especies con el mayor contenido fueron *L. campestris* (25.5%) y *L. exaltatus* (25.3%), resultando *Lupinus* sp., con el menor contenido (19.1%).

Existen escasos estudios acerca de la composición química del follaje de especies de *Lupinus*. Los resultados, en particular de *L. exaltatus*, son similares a los

contenidos de proteína mostrados por Ruíz-López *et al.* (2006) en la misma especie (23.5%), presente en el Nevado de Colima, México.

El contenido en hojas más tallos de *Lupinus* es superior al de leguminosas forrajeras como la harina de alfalfa (16-20.5%), trébol (12.5-19%) (Flores, 1991), cacahuatillo, *Arachis pintoi* L. (14.2%) (Delgado *et al.*, 2007), y de la de arbustos forrajeros como morera, *Morus alba* (11.3%) (Benavides *et al.*, 2001), tulipán, *Hibiscus rosa sinensis* L. (18%) y similar a la del cocoíte, *Gliricidia sepium* (23%) (Hernández *et al.*, 2005).

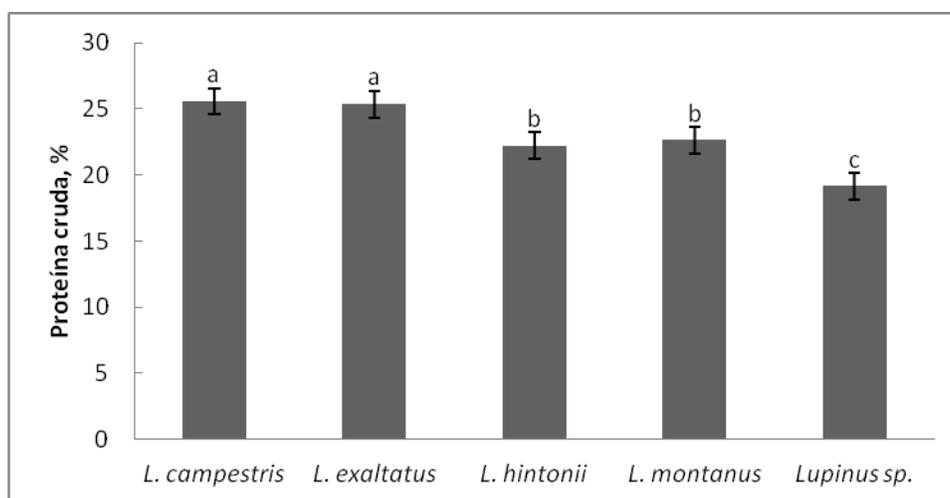


Figura 9. Contenido de proteína cruda (%) de hojas más tallos de cinco especies de *Lupinus* en etapa de floración.

Es notorio observar que el contenido de PC de las hojas y tallos se encuentra dentro de los rangos determinados en semillas de leguminosas de grano utilizados en alimentación como el garbanzo, lenteja, chícharo y frijol (Roy *et al.*, 2010; Boye *et al.*, 2010; de Almeida *et al.*, 2006). Además si se considera que las plantas analizadas estaban en la etapa de floración, es decir eran plantas maduras, el contenido de PC presente es importante debido a la relación inversa entre la edad de la planta y el contenido de proteína (Veronesi *et al.*, 2010).

Las vainas de *Lupinus* exhiben niveles de PC que varía entre 10.90% y 22.83% (Figura 10), con *L. campestris* mostrando el mayor contenido (22.83%) y *L. hintonii* el menor (10.90%). El contenido de PC en vainas de *L. exaltatus* de este estudio es mayor al hallado en la misma especie por Ruíz *et al.* (2006) (8.5%). Estas diferencias pueden deberse al estado de maduración de las vainas y el tiempo de secado en la planta. No obstante hay que destacar que los contenidos de PC para este componente de la planta son altos sobre todo en *L. campestris*, lo cual abre la posibilidad de emplearlo para la alimentación de los animales. Estudios de los contenidos proteicos durante las fases de maduración permitirían conocer si las diferencias se deben a la fase fenológica o a que en el pericarpio quedan suficientes sustancias de reserva que no fueron utilizadas para el crecimiento y desarrollo de los óvulos.

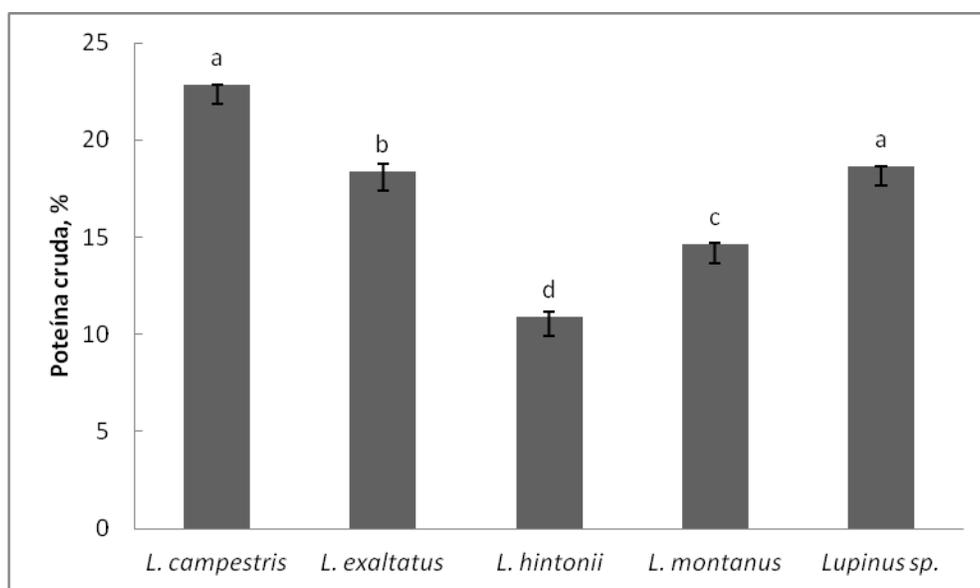


Figura 10. Contenido de proteína cruda (%) de vainas maduras de cinco especies de *Lupinus*.

En resumen de las cinco especies del estudio, *L. montanus*, *L. campestris* y *L. exaltatus* presentaron contenidos altos de PC tanto en hojas más tallo, vainas y en las semillas; *L. hintonii* el menor.

3.3.1.3. Grasa (Extracto etéreo, EE)

El contenido de extracto etéreo (lípidos) es un componente importante en las semillas de las leguminosas, en el caso de las especies de *Lupinus* estudiadas, la concentración de éste varió de 6.6 a 7.5% y en la pasta de soya fue de 0.021% (Figura 11).

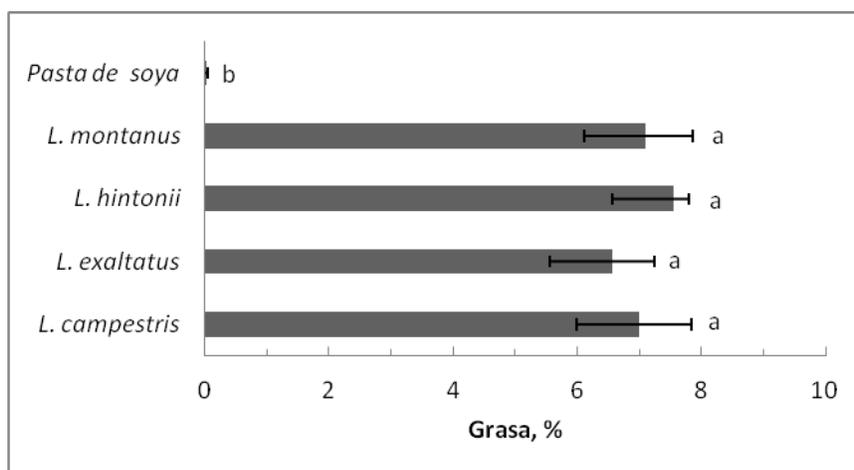


Figura 11. Contenido de grasa (EE, %) de semillas de cinco especies de *Lupinus*.

Los contenidos de lípidos de estas especies son inferiores al de las semillas oleaginosas como las de soya (19%) (De Luna, 2007), pero superiores al de semillas de otras leguminosas de grano consideradas como proteaginosas y que se usan en alimentación humana y animal como garbanzo (6.7%), lenteja (2.2%), chícharo (2.3%) y frijol (2.2%) (De Almeida *et al.*, 2006).

Respecto a otras poblaciones de *Lupinus* silvestres de México, los contenidos de lípidos son similares al de *L. exaltatus* (7.1-8.59%), *L. reflexus* Rose, Contr. (7.90%), *L. splendens* Rose (8.89%), *L. madrensis* Seem (6.80%), *L. simulans* Rose, Contr. (6.79%), *L. elegans* L. (5.79%), *L. rotundiflorus* M.E. Jones, Contr. (5.50%) (Ruíz y Sotelo, 2001; Ruíz-López *et al.*, 2006). Estas especies silvestres mexicanas presentan contenidos inferiores a *Lupinus* domesticadas como *L. albus* (7.12-11.50%) (Boschin *et al.*, 2008) y *L. mutabilis* L., en la región de los Andes de Colombia (13.91%) (Ortega-David *et al.*, 2010) y en el Perú (21.86%) (León-Marouí *et al.*, 2011). Son similares a los de *L. angustifolius* (6.8%) y *L. luteus* (5.5%) (Sujak

et al., 2006).

El contenido de lípidos de hojas y tallos disminuyó notablemente con relación a lo observado en las semillas (Figura 12), variando entre 0.15 (*L. campestris*) y 1.78% (*L. exaltatus*).

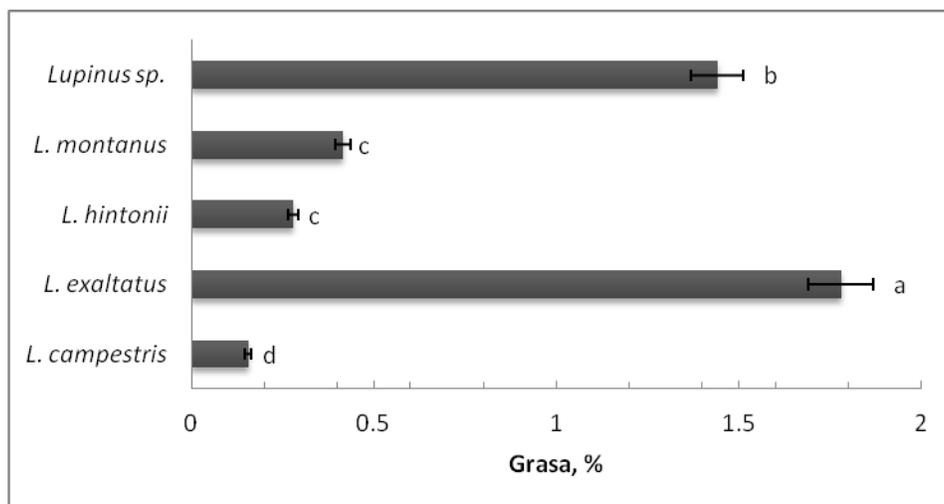


Figura 12. Contenido de grasa (EE, %) de hojas más tallos de cinco especies de *Lupinus*.

Como ya se mencionó anteriormente, los estudios publicados sobre la composición nutricional de los componentes de las especies de *Lupinus* sólo se han dirigido hacia las semillas, por lo que para las partes vegetativas (hojas más tallos y vainas) existen escasos estudios. *L. exaltatus* del Nevado de Colima muestra 1.4% (Ruíz-López et al., 2006). En otras leguminosas forrajeras como alfalfa (2.5%), *Arachis pintoii* (2.6%) (Nieves et al., 2004), *Lablab purpureus* (4.02%), *Centrosema pubescens* (4.98%) (Nworgu y Ajayi, 2005) los contenidos de lípidos son superiores. Los arbustos forrajeros como *Leucaena leucocephala* también presentan contenidos superiores (4.6-6%) (Llamas et al., 2001; Nieves et al., 2004), pero los de las hojas de morera (*Morus alba* L.) (1.6%, Benavides, 2001) son similares a los especies de *Lupinus*. Estos valores están influidos por las variaciones en la edad de las plantas al momento del análisis.

En las vainas el contenido de lípidos varió 0.46 a 1.43% (Figura 13). *Lupinus* sp. presentó el mayor contenido (1.43%). Un contenido similar de lípidos en vainas presenta *L. exaltatus* del Nevado de Colima (1.00%) (Ruíz-López *et al.*, 2006).

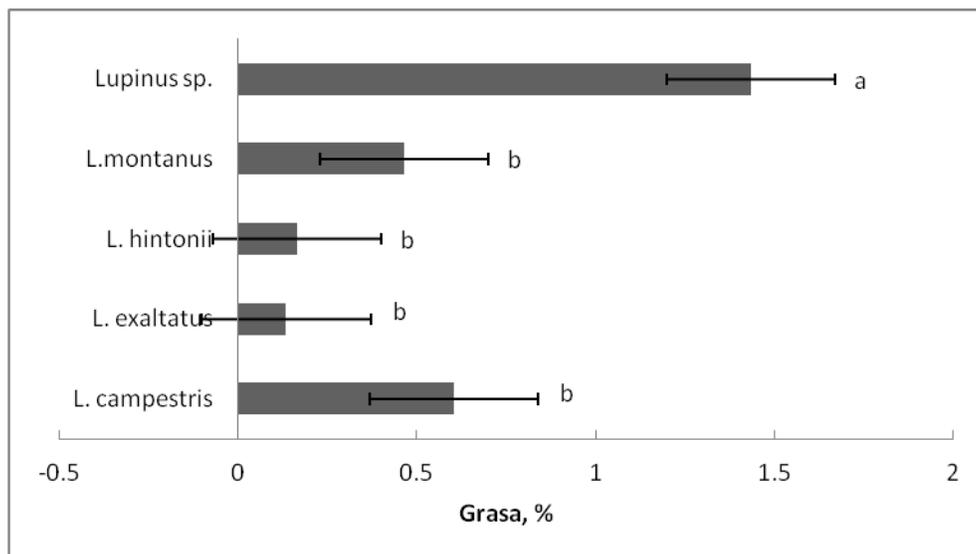


Figura 13. Contenido de grasa (EE, %) en vainas maduras de *Lupinus* spp.

3.3.1.4. Fibra en detergente neutro (FDN)

La fibra detergente neutro (FDN) o pared celular, es la medida del total de fibra contenida en los materiales vegetales, está compuesta por la celulosa, hemicelulosa, lignina y sílice. En el caso de las semillas de *Lupinus* el contenido varió entre 16.72 (*L. campestris*) a 24.75% (*L. montanus*); en la pasta de soya fue 11.46% (Figura 14).

Las semillas de las especies de *Lupinus* exhiben niveles de fibra que se encuentran en el intervalo de otras leguminosas como chícharo, frijol y lenteja (13.6-28.9%) (Rehinan *et al.*, 2004; Sridhar y Seena, 2006; De Almeida *et al.*, 2006).

Con respecto al contenido de FDN en las hojas más tallos, este varío de 38.25 a 43.42% (Figura 15). La especie *L. campestris* fue la que presentó significativamente el mayor contenido (38.25%).

Las especies de *Lupinus* presentan un contenido de FDN similar a las leguminosas forrajeras como alfalfa *Medicago sativa* L. (39.9%) (McSweeney *et al.*, 2005), soya *Glycine max* (46%), dolico *Dolichos lablab* L. (47.2%), mucuna *Mucuna pratens* L. (46.3), siratro *Macroptilium atropurpureum* (45.9%), y cacahuatillo forrajero *Arachis pintoi* Krap & Gres (43.3%). Valores superiores a *Centrosema pubescens* Benth (57.6%) (Delgado *et al.*, 2007), y dentro del rango de leguminosas arbóreas como el cocoite *Gliricidia sepium* (27-50%) (Brewbaker, 1987), guácimo *Guazuma ulmifolia* Lam. Seeds (50-55%) (Pineda, 1988), y similar a las leguminosas arbustivas como el tulipán *Hibiscus rosa sinensis* L. (36.49%) (Hernández *et al.*, 2005).

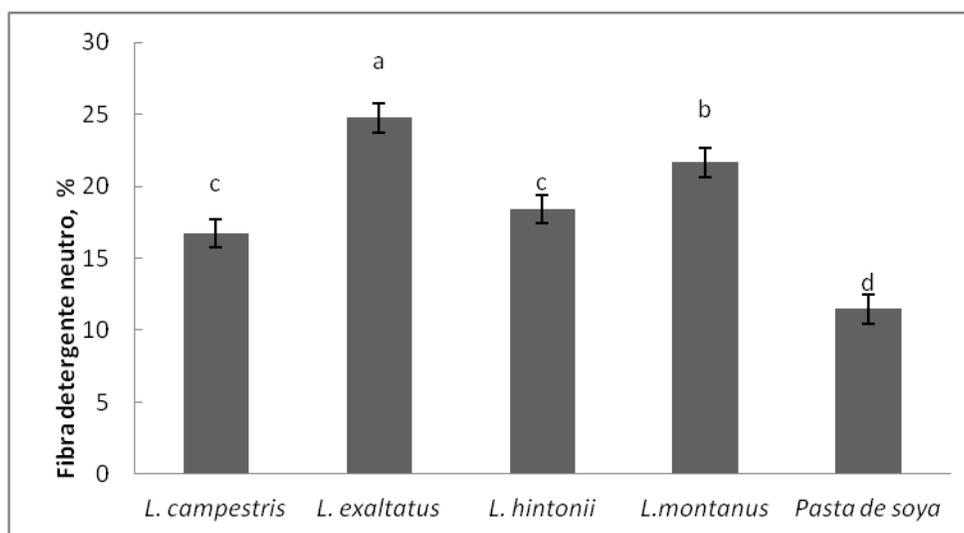


Figura 14. Contenido de FDN (%) de semillas de *Lupinus* spp.

Por lo general, las hojas de las plantas y los tallos suculentos son los materiales utilizados para la alimentación de los animales como forraje fresco. Las especies de *Lupinus* como se mencionó anteriormente presentaron contenidos similares a los materiales comúnmente utilizados en la alimentación animal, por lo que

podrían ser usadas como forraje para rumiantes, ya que estos animales son capaces de aprovechar los materiales con un contenido elevado de celulosa y hemicelulosa (van Soest, 1973).

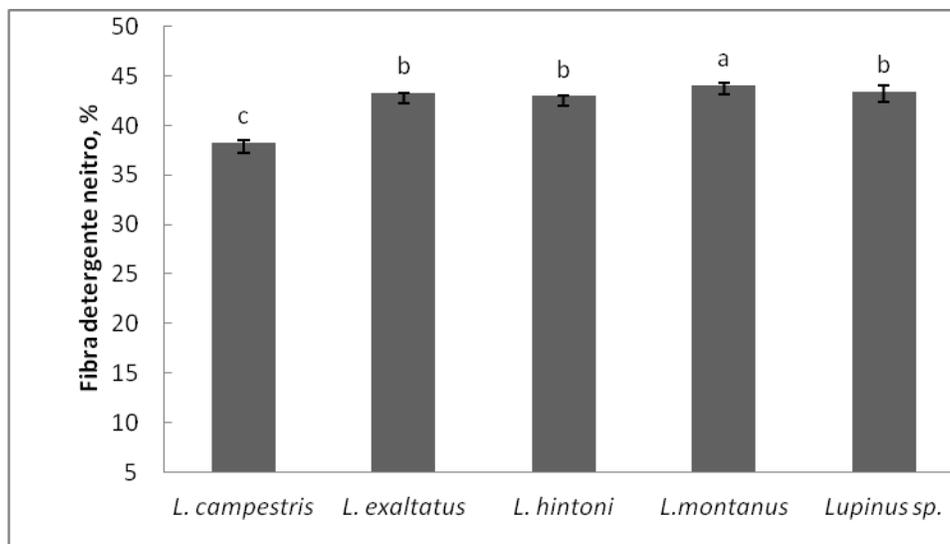


Figura 15. Contenido de FDN (%) de hojas más tallos de *Lupinus* spp.

En las vainas de las especies de *Lupinus*, el contenido de FDN fue de 53.7 a 59.9% (Figura 16). Las especies con menor contenido fueron *Lupinus* sp. (53.7%) y *L. campestris* (54.4%) y *L. hintonii* el mayor (68.48%).

Dado los escasos estudios acerca de la composición química en las vainas de leguminosas y principalmente en vainas del género *Lupinus*, para este componente solo se puede hacer la comparación con el contenido de FDN de vainas de *L. exaltatus* (52.4%) (Ruíz-López *et al.*, 2006). Este autor menciona que el alto contenido de FDN en las vainas puede deberse a la presencia de vellosidades lignificadas, características de este género, lo cual es más notorio en las especies silvestres.

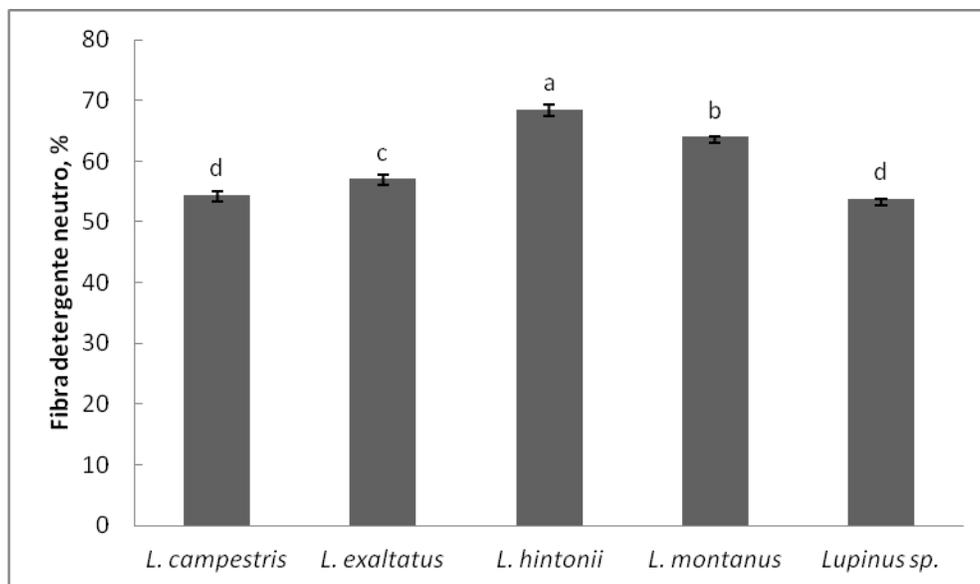


Figura 16. Contenido de FDN (%) de vainas maduras de *Lupinus* spp.

3.3.1.5. Fibra detergente ácido (FDA)

La fibra detergente ácido (FDA) nos indica el contenido de celulosa, lignina y sílice en la fracción de fibra. Las semillas de las especies de lupino presentaron un rango de 4.42 a 7.93%; la pasta de soya de 3.93% (Figura 17). La especie *L. hintonii* presentó el mayor contenido de FDA (7.93%) con diferencia significativa ($p < 0.05$), con respecto a las demás especies, las que tuvieron un contenido similar a la pasta de soya.

En hojas más tallos, el contenido de FDA en las de las especies *Lupinus* estudiadas varió significativamente entre ellas. El rango fue de 21.8 a 30.1% (Figura 18). El menor contenido de FDA la presentó la especie *L. campestris* (21.8%) significativamente diferente ($p < 0.05$) a las otras especies; la especie *L. montanus* (30.1%). *L. hintonii* (26.4%), *Lupinus sp.* (26.6%) y *L. exaltatus* (27.7%) contenidos intermedios significativamente diferentes entre ellas.

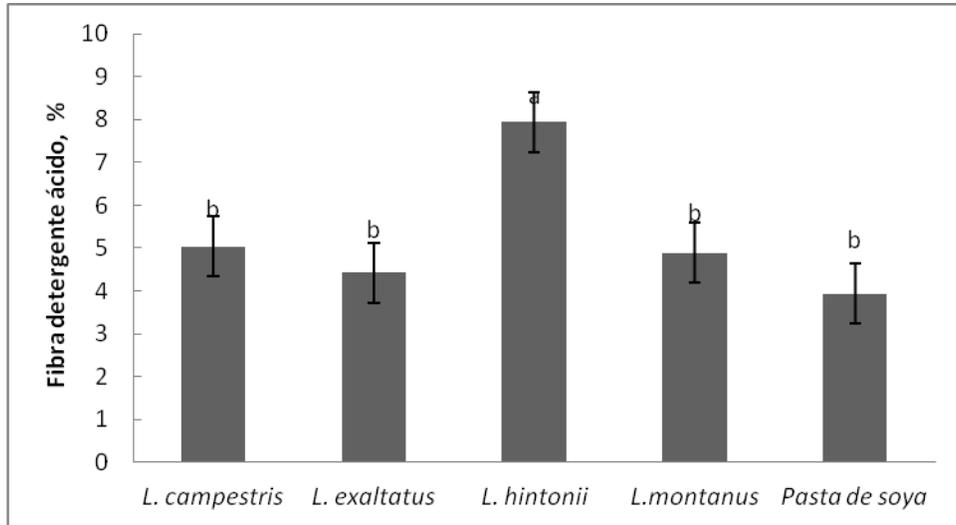


Figura 17. Contenido de FDA (%) de semillas de *Lupinus* spp.

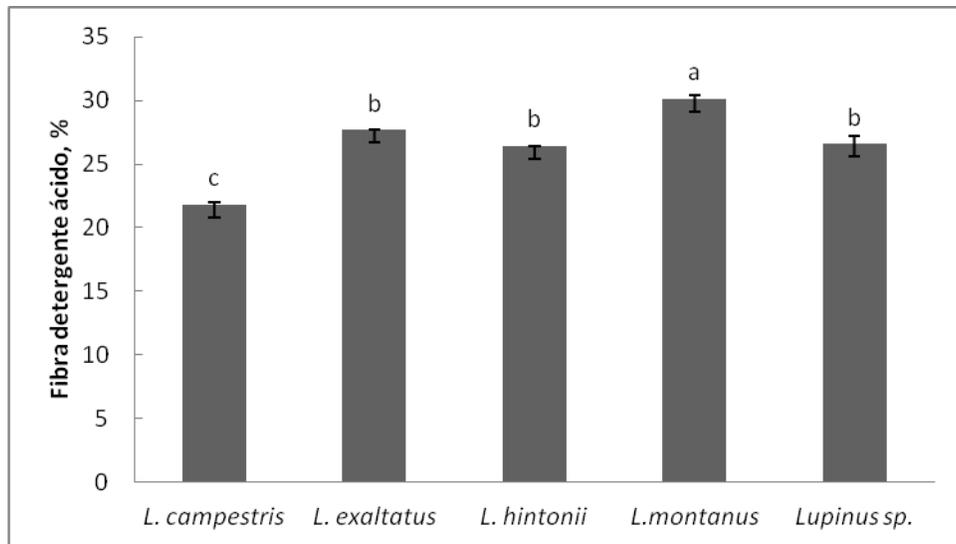


Figura 18. Contenido de FDA (%) de hojas mas tallos de *Lupinus* spp.

Los valores encontrados en las especies silvestres de *Lupinus* son mayores a los contenidos de FDA de leguminosas forrajeras como: alfalfa (16.8%) y leucaena (17.8%) (McSweeney *et al.*, 2005), y menores al contenido de leguminosas herbáceas como: soya (36.8%), dolico (36.9%), mucuna (29.2%), siratro (36.2%) y cacahuatillo forrajero (37.8%), centrosema (36.9%) (Delgado *et al.*, 2007), y dentro del rango de leguminosas arbóreas como el cocoite (13-30%) (Brewbaker, 1987),

guácimo (4-43%) (Pineda, 1988), y similar a las leguminosas arbustivas como el tulipán (17.4%) (Hernández, 2005).

En general, las especies de lupino presentaron valores intermedios de FDA en comparación con los materiales utilizados como bancos de proteína en la alimentación de rumiantes. Los altos contenido de fibras en los alimentos para animales es una limitante al ocasionar el llenado más rápido del rumen, afectando la capacidad de consumo.

En las vainas de las especies de *Lupinus* el contenido de FDA varió de 30.4 a 47.1% (Figura 19). *Lupinus* sp. fue la que presentó el menor contenido con respecto a las especies: *L. campestris* (34.0%), *L. exaltatus* (34.7%), *L. montanus* (39.3%) y *L. hintonii* (47.1%).

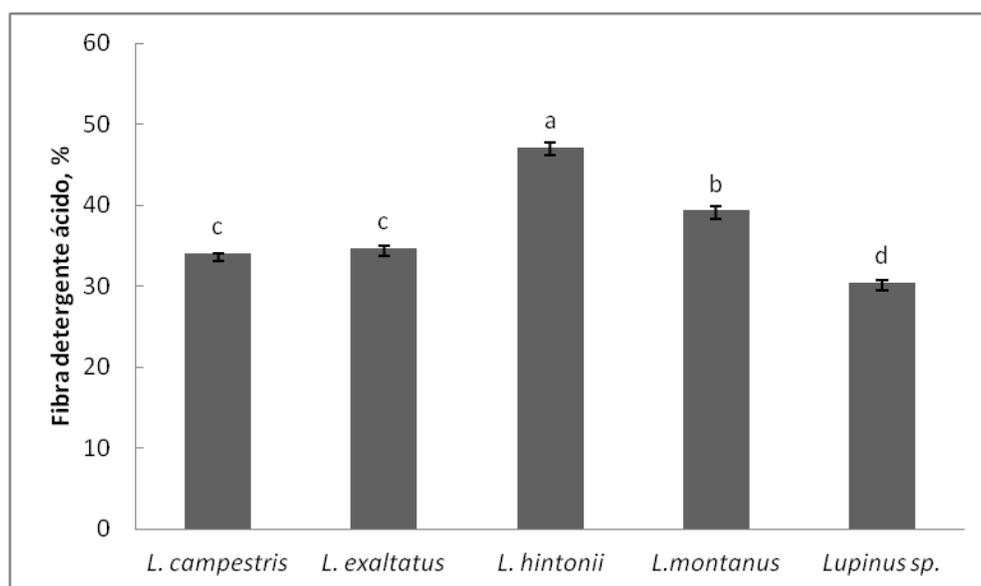


Figura 19. Contenido de FDA (%) de vainas maduras de *Lupinus* spp.

No existen reportes sobre vainas que nos permitan realizar comparaciones. Comparando los contenidos de FDA entre las partes de la planta por especie estudiada, se tiene que *L. campestris* presentó los menores valores de FDA en las semillas, hojas más tallos y vainas lo cual en términos generales se puede considerar como un factor favorable especialmente para la alimentación de rumiantes.

3.3.1.6. Cenizas

La amplitud para contenido de cenizas en las semillas de las especies de *Lupinus* estudiadas fue de 4.38 a 6.35%; la de la pasta de soya fue significativamente más alto (10.31%) (Figura 20). *Lupinus hintonii* fue la que presentó significativamente el mayor contenido (6.35%) respecto a *L. montanus* y *L. campestris*. Los contenidos observados fueron superiores al indicado en semillas de lenteja (3.0%), garbanzo (3.4%) y soya (5.3%) (Han y Baik, 2008).

Es importante resaltar el alto contenido de cenizas de *L. hintonii*, con relación a las demás especies evaluadas, que presentan contenido similar a lo reportado previamente en otras especies silvestres de lupinos mexicanas, esto nos indica que *L. hintonii* es sustancialmente rica en minerales.

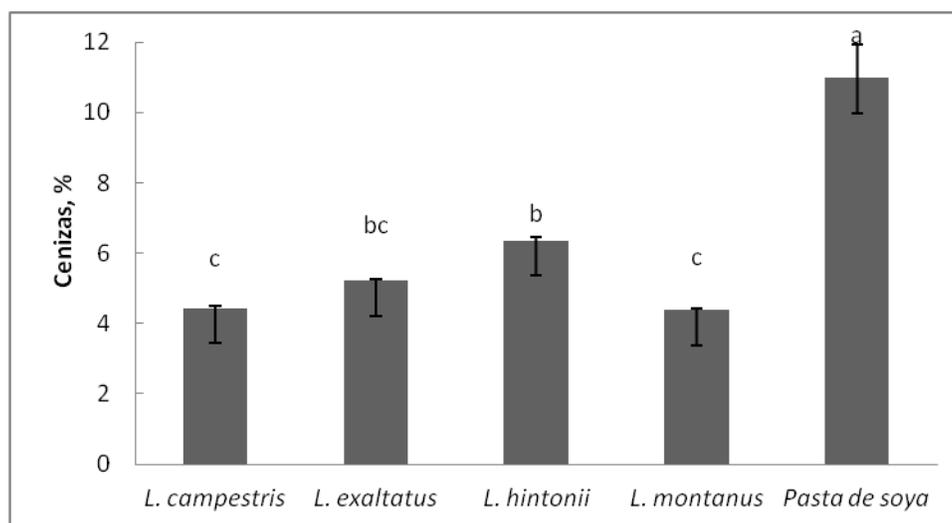


Figura 20. Contenido de Cenizas (%) en semillas de cinco especies de *Lupinus*.

Las otras especies presentaron contenido de cenizas dentro del rango de los valores observados en *Lupinus* silvestres y en especies domesticadas: *L. exaltatus* (3.59-3.8%), *L. elegans* (4.20%), *L. rotundiflors* (4.01%), *L. simulans* (3.59%), y *L. mandrensis* (3.51%), *L. reflexus* (3.61%), *L. splendens* (3.3%) (Ruíz y Sotelo, 2001; Ruíz-López *et al.*, 2006), *L. luteus* (4.6 g/100 MS), *L. angustifolius* (3.7 g/100 MS) (Sujak *et al.*, 2006), *L. mutabilis* (4.28-5.52 g/100 g MS) (Ortega-David *et al.*, 2010; León-Maroué *et al.*, 2011). Martínez-Villaluenga *et al.* (2006) atribuye la variabilidad

del contenido de cenizas que se observa entre las especies silvestres y mejoradas al tipo de suelo donde la planta se desarrolla.

El contenido de cenizas en las hojas y tallos varió de 5.93 a 10.62% (Figura 21). *L. campestris* fue la que presentó significativamente el mayor contenido (10.62%) y *L. hintonii* el menor (5.93%). Estos valores están dentro del rango encontrado en hojas de *L. exaltatus* (7.8%) en el Nevado de Colima (Ruíz-López *et al.*, 2006). Generalmente, los niveles de cenizas que se observaron en las especies del género *Lupinus* son similares a los del follaje de cocoite (6%) (Vega, 1987) y guaje (*Leucaena leucocephala*) en hojas (10.4%) y en tallos (4.1%) (Llamas *et al.*, 2001).

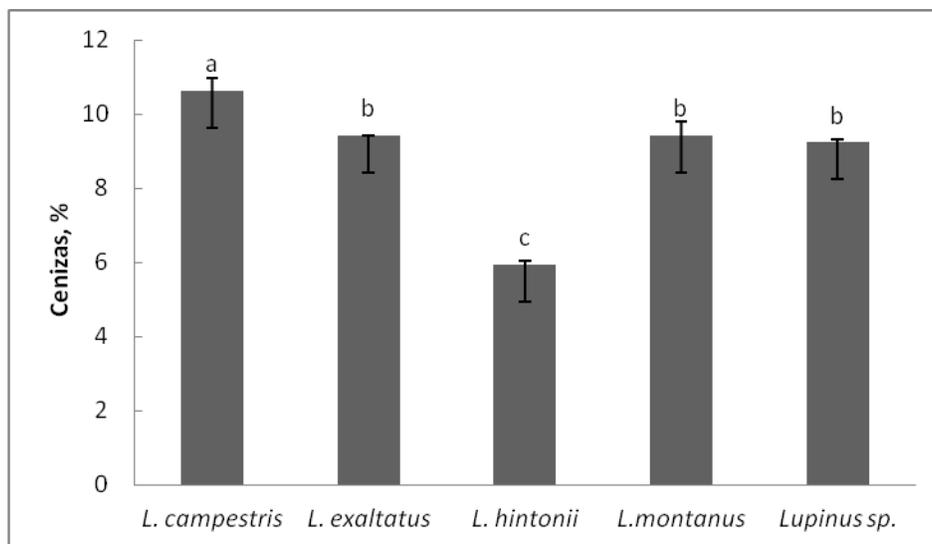


Figura 21. Contenido de Cenizas (%) en hojas más tallos de cinco especies de *Lupinus*.

Las vainas de las especies de *Lupinus* contienen de 4.8% a 6.53% de cenizas (Figura 22). *L. exaltatus* resultó significativamente con el mayor contenido (6.53%) respecto a las demás especies: *L. hintonii* (4.80%), *L. campestris* (5.41%) y *L. montanus* (5.54%). Estos contenidos de cenizas en las especies estudiadas son superiores a los indicados por Ruíz-López *et al.* (2006) en vainas de *L. exaltatus* (2.0%) del Nevado de Colima. En general el contenido de cenizas en las especies estudiadas fue mayor en semillas y vainas de *L. exaltatus*. Sin embargo en hoja más tallos los contenidos entre especies son similares.

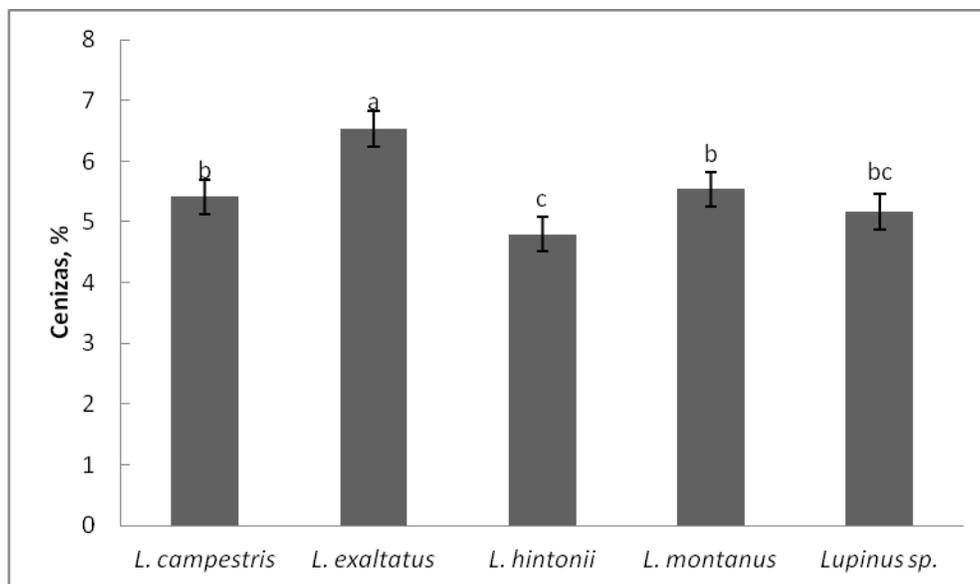


Figura 22. Contenido de Cenizas (%) en vainas maduras de cinco especies de *Lupinus*.

3.3.1.7. Extracto libre de nitrógeno (ELN)

El contenido de extracto libre de nitrógeno (ELN) en semillas varió de 27.05% a 39.35% en las especies de *Lupinus*; la pasta de soya resultó de 27.81%, (Figura 23). *L. campestris* fue el que tuvo significativamente mayor (39.35%) contenido respecto a *L. hintonii* (29.70%), *L. montanus* (28.34%), y *L. exaltatus* (27.05%). Estos últimos no diferentes significativamente entre sí.

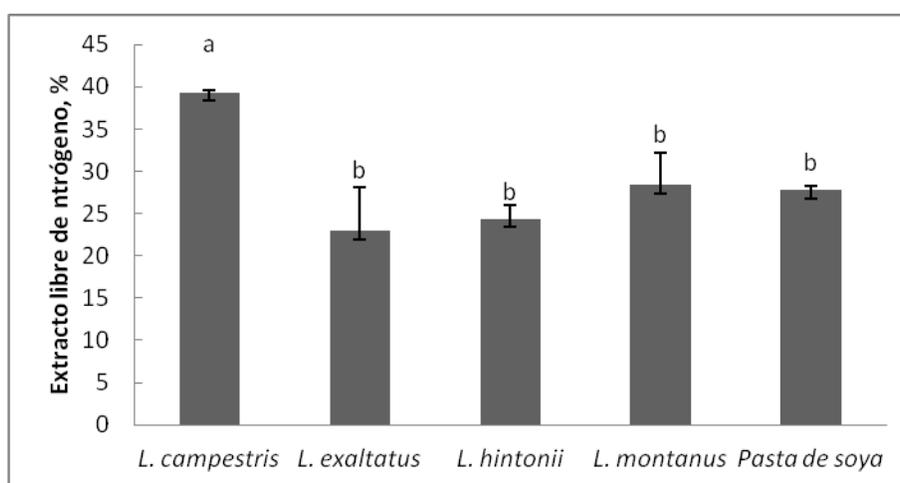


Figura 23. Contenido de ELN (%) en semillas de *Lupinus* spp.

Contenido similares presentan las semillas de *Lupinus exaltatus* (31.1%) del Nevado de Colima (Ruíz-López *et al.*, 2006). En las hojas más tallos, el contenido de ELN varió entre 20.3% y 28.6% (Figura 24). *L. hintonii* tuvo significativamente el mayor contenido (28.6%), respecto a las demás especies. *L. exaltatus* el menor (20.3%). Estos fueron inferiores a los valores observados por Ruíz-López *et al.* (2006) en *L. exaltatus* (40.7%).

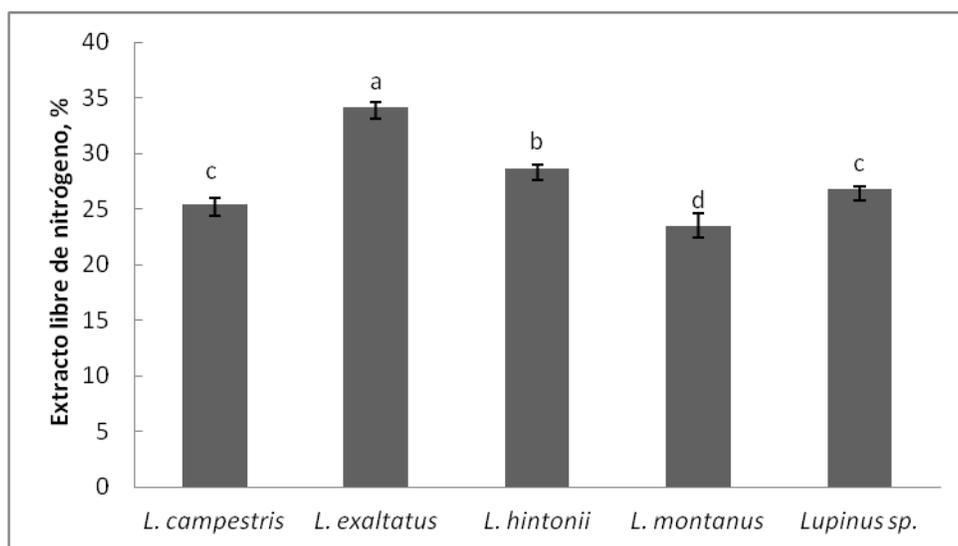


Figura 24. Contenido de ELN (%) en hojas mas tallos de cinco especies de *Lupinus*.

En las vainas de las especies de *Lupinus* el ELN varió entre 15.34% y 20.95% (Figura 25). *Lupinus sp.* presentó significativamente el mayor contenido (21.0%), respecto a las otras tres especies: *L. exaltatus* (17.9%), *L. campestris* (16.7%), *L. hintonii* (15.7%) y *L. montanus* (15.4%). Estos contenidos son inferiores a los de las vainas de *L. exaltatus* (36.2%) del Nevado de Colima (Ruíz-López *et al.*, 2006).

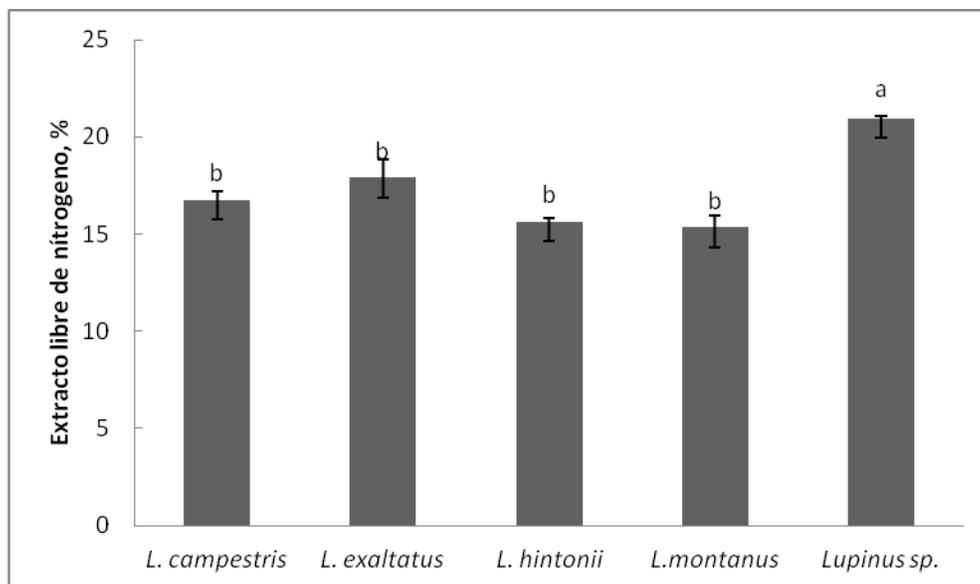


Figura 25. Contenido de ELN (%) en vainas maduras de cinco especies de *Lupinus*.

3.3.1.8. Lignina

En este apartado solo se presentan los resultados obtenidos del contenido de lignina en hojas más tallo y en vainas. En el caso de semillas no fue posible su determinación debido a la falta de muestra.

El contenido de lignina en las hojas y tallos varió entre 12.5 y 13.9% (Figura 26) sin diferencia significativa ($p > 0.05$) entre las especies evaluadas. Llamas *et al.* (2001) reporta un contenido de lignina de 12.3% en hojas y 20.6% en tallos de guaje (*L. leucocephala*). En leguminosas herbáceas el contenido de lignina es también alto: soya (11.7 g/100g MS), dolico (12.1 g/100g MS), mucuna (9 g/100g MS), siratro (9.9 g/100g MS), cacahuatillo forrajero (8.3 g/100g MS) y en *C. pubescens* Benth (13.3 g/100g MS) (Delgado *et al.*, 2007). Las vainas de *Lupinus* exhiben niveles de lignina que varían entre 9.2 y 12.1 % (Figura 27). Los contenidos más altos en *L. campestris* (12.1%), *L. montanus* (11.9%), *Lupinus sp.* (11.2%) y, los más bajos en *L. exaltatus* (9.1%) y *L. hintonii* (9.2%).

En las hojas y tallos se presentó el mayor contenido de lignina (Figuras 26 y 27), debido a una mayor proporción en tallos que en hojas en la composición de estas

especies, principalmente en *L. montanus* (Cuadro 7); y los tallos de las plantas son el soporte mecánico de los órganos de las plantas, presentan paredes secundarias más gruesas donde la lignina es un componente importante.

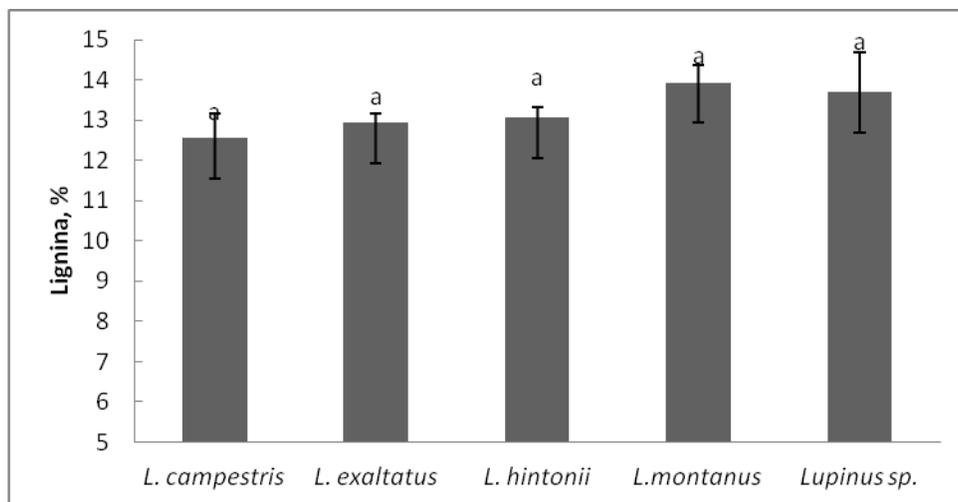


Figura 26. Contenido de lignina (%) en hojas más tallos de cinco especies de *Lupinus*.

Además de que la conducción de agua y minerales se realiza a través de elementos vasculares lignificados (Boudet, 2000).

Cuadro 7. Relación hoja: tallo de las especies de *Lupinus sp.* en estudio.

Especie	Relación hoja:tallo \pm d.e.
<i>L. campestris</i>	1.07 \pm 0.39
<i>L. exaltatus</i>	0.98 \pm 0.22
<i>L. hintonii</i>	0.73 \pm 0.21
<i>L. montanus</i>	0.37 \pm 0.07
<i>Lupinus sp.</i>	0.82 \pm 0.21
EE	0.01424

d.e.= desviación estándar, EE. = Error estandar

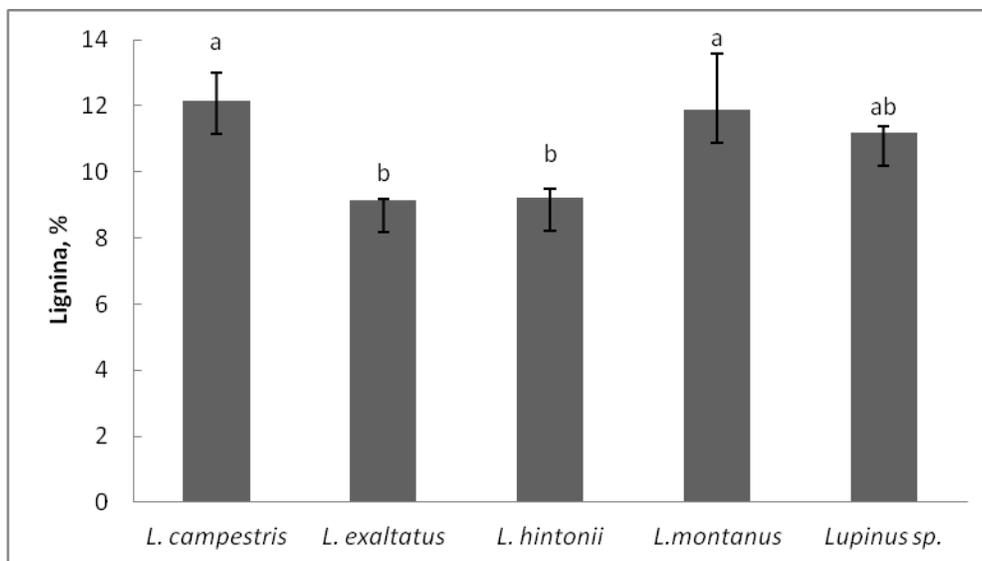


Figura 27. Contenido de lignina (%) en vainas maduras de cinco especies de *Lupinus*.

3.3.2. Factores antinutricionales

3.3.2.1. Alcaloides totales

Los factores antinutricionales encontrados en materias primas vegetales son uno de los principales factores que limitan su alto nivel de inclusión en forrajes y alimentos balanceados para la alimentación (Tacon y Metian, 2002). El rango de variación entre especies para contenido de alcaloides fue de 2.4 a 5.3% (Figura 28). *L. hintonii* fue la que presentó significativamente el mayor contenido (5.3%), mientras que *L. campestris* (2.6%), *L. exaltatus* (2.6%), y *L. montanus* con (2.4%). Los alcaloides son metabolitos secundarios presentes en las Fabaceae; en el género *Lupinus* son de tipo quinolizidínicos (Wink, 2003) y su presencia ha sido considerada una limitante para el aprovechamiento industrial de este género (Villacrés *et al.*, 2008).

En las especies de lupino silvestres de México, los alcaloides quinolizidínicos más abundante son la lupanina, 13 α -hidroxilupanina e hidroxiafilidina (Przybylak *et al.*, 2005; Bermudez-Torres *et al.*, 2002; Martínez-Jiménez *et al.*, 2001). Además

Zamora-Natera *et al.* (2008) hace mención de 3β -hidroxilupanina como uno de los alcaloides mayoritarios en *L. mexicanus*.

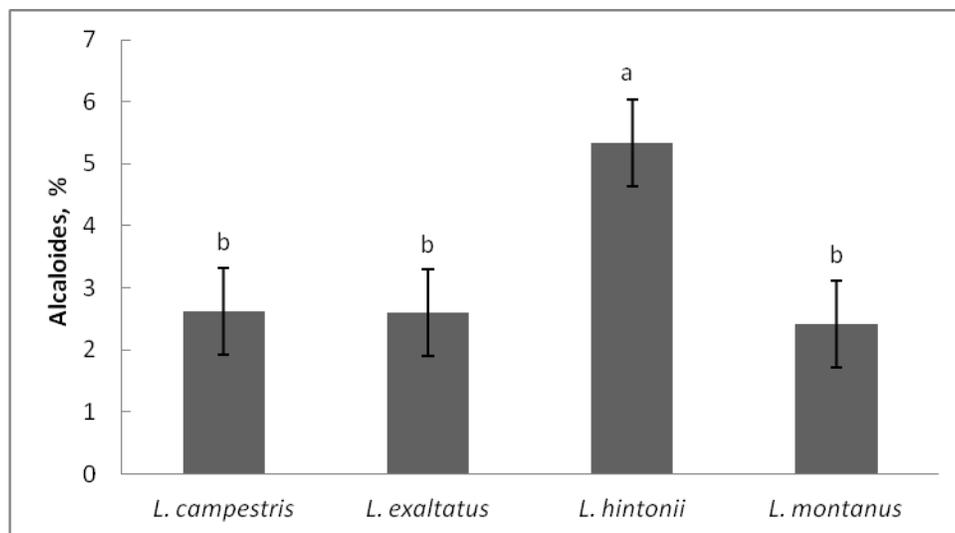


Figura 28. Contenido de alcaloides totales (%) en semillas de cuatro especies de *Lupinus*.

Entre las especies en estudio sobresale *L. hintonii* por su elevado contenido de alcaloides totales, que se encuentra en el rango superior reportado por Kurlovich *et al.* (2003) y Muzquiz *et al.* (1994). Este alto contenido podría ser aprovechado para control de enfermedades causadas por hongos y bacterias (Bermúdez-Torres *et al.*, 2002, 2009). El contenido en las demás especies estudiadas es similar al determinado previamente en otras especies silvestres de lupino (2.1-2.7%) (Ruíz y Sotelo, 2001; Ruíz-López *et al.*, 2006; Zamora-Natera *et al.*, 2008; Zamora-Natera *et al.*, 2009; Ruíz-López *et al.*, 2010). Las especies domesticadas de lupino presentan contenidos de 0.02% por lo que se les conoce como “variedades dulces”. En *L. mutabilis*, el contenido observado es de 1.27 g/100g MS (Ortega-David *et al.*, 2010).

En el género *Lupinus*, estos compuestos se sintetizan en las hojas y son transportados vía floema a otros órganos de la planta para su almacenamiento en tejidos epidérmicos y subepidérmicos de hojas, tallos y principalmente semillas

(Wink y Witte, 1984). Estos cambios en la proporción de alcaloides ocurren como una respuesta a las condiciones del ambiente y son un mecanismo de defensa contra los enemigos naturales.

En las hojas y tallos de *Lupinus* el contenido varió entre 1.12 a 3.38% (Figura 29). El valor más alto correspondió a *L. hintonii* y los más bajos a *L. campestris* (1.40%) y *L. montanus* (1.27%). Estos contenidos son similares a lo observado previamente en el follaje de *L. exaltatus* (Ruíz-López *et al.*, 2006), y mayores a lo reportado por Zamora-Natera *et al.* (2009) en hojas (0.61%) y tallos (0.31%) de plantas en fructificación de *L. exaltatus* del Estado de Jalisco.

El follaje de las especies de lupino atrae la atención por su alto contenido de proteína y su bajo contenido de alcaloides, sobre todo el de *L. campestris* y *L. montanus*, el cual una vez mezclado con ingredientes para piensos de animales podría disminuir a niveles aceptables para su utilización en la alimentación principalmente en bovinos.

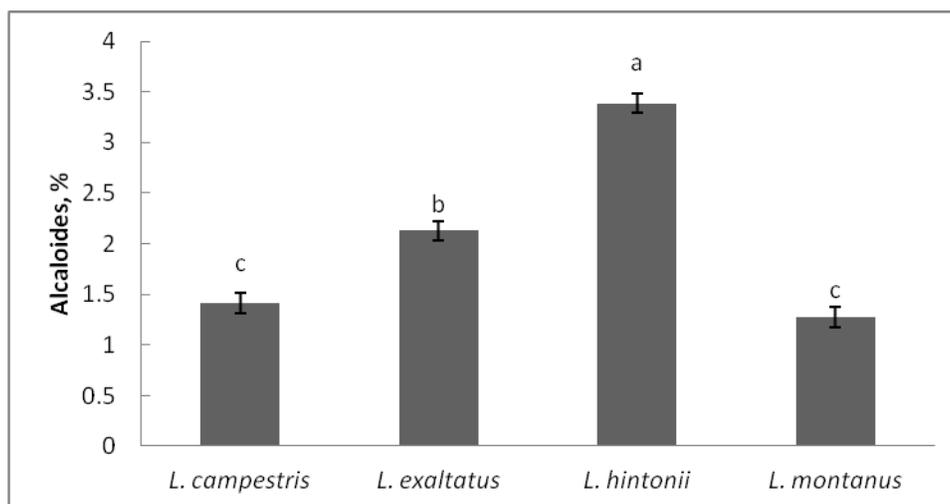


Figura 29. Contenido de alcaloides totales (%) en hojas más tallos de *Lupinus* spp.

Las especies de *Lupinus* presentaron un contenido de alcaloides en las vainas que varió entre 2.41 a 5.88% (Figura 30). *Lupinus hintonii* presentó significativamente el mayor (5.88%), y *L. montanus* el menor (2.41%). Estos

valores son mayores a lo reportado en vainas de *L. exaltatus* (0.78%) por Ruíz-López *et al.* (2006).

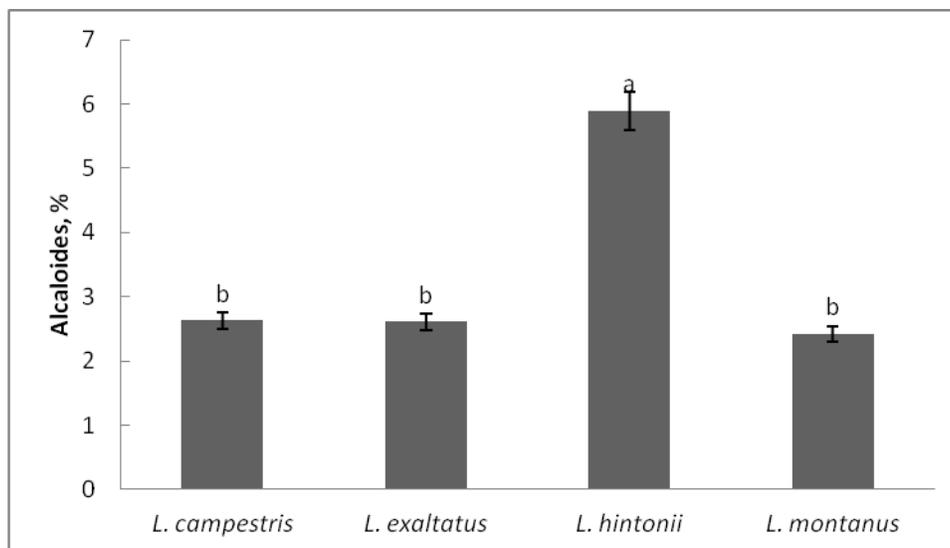


Figura 30. Contenido de alcaloides totales (%) en vainas maduras de cuatro especies de *Lupinus*.

En resumen, el resultado obtenido en el análisis de alcaloides de las semillas, hojas más tallos y vainas de las especies de lupinos estudiadas reveló que la especie de *L. hintonii* presenta los mayores contenidos en cada componente. Además entre especies, los mayores contenidos de alcaloides se encontraron en las semillas, seguidamente en vainas y de las hojas más tallos. Williams y Harrison (1983) mencionan que es debido a que los alcaloides almacenados en los órganos que están por alcanzar la senescencia son retransferidos a los frutos y semillas, por ser compuestos metabólicamente activos.

3.3.2.2. Compuestos fenólicos totales

El contenido de polifenoles totales en las semillas varió entre especies de 221 a 554 mg 100g MS, (Figura 31). *L. hintonii* presentó significativamente el mayor contenido entre las especies estudiadas. En las hojas y tallos el contenido de

polifenoles varió de 557 a 813 mg 100g MS, (Figura 32). Nuevamente *L. hintonii* presentó el mayor contenido entre las especies.

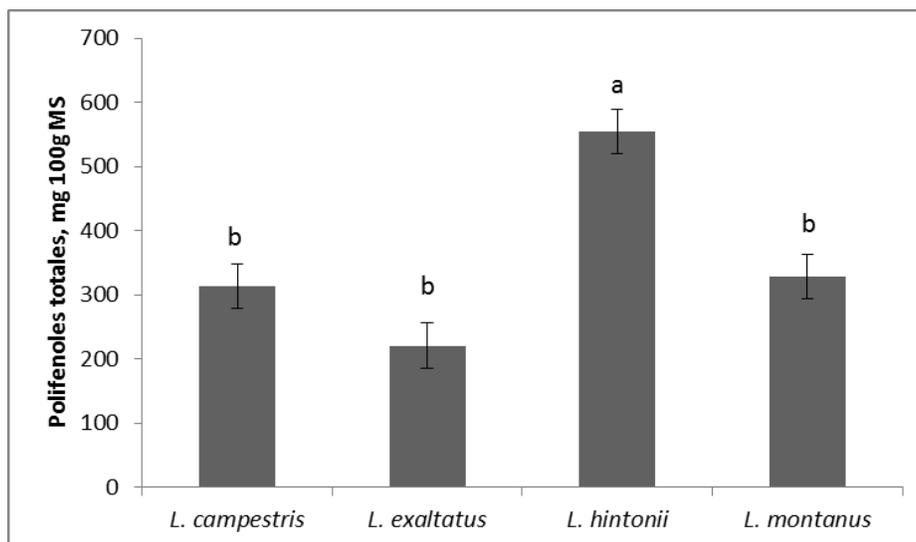


Figura 31. Contenido de polifenoles totales (mg 100g MS) en semillas de cuatro especies de *Lupinus*.

En las vainas el contenido de polifenoles varió de 362 a 590 mg 100g MS (Figura 33). *L. hintonii* presentó el mayor contenido. La determinación de polifenoles totales en los lupinos mostró que *L. hintonii* presentó los mayores valores en la planta completa; que los mayores contenidos se encuentran en las hojas y tallos, seguidamente en las vainas y semillas.

3.3.2.3. Taninos condensados

Las semillas de *L. exaltatus* y *L. campestris* no presentan taninos condensados libres (TCL); ni taninos condensados a la fibra (TCF) en *L. exaltatus* y *L. montanus* (Cuadro 8). En las otras especies estos se encuentran en concentraciones inferiores a 60 g kg^{-1} . Estos valores pueden diferir según el estándar utilizado, es común cuando se analizan taninos condensados, debido a la variabilidad de formas químicas de estos compuestos. Por ello es aconsejable utilizar como

estándar taninos purificados de la misma especie que se analizará (Schofield *et al.*, 2001).

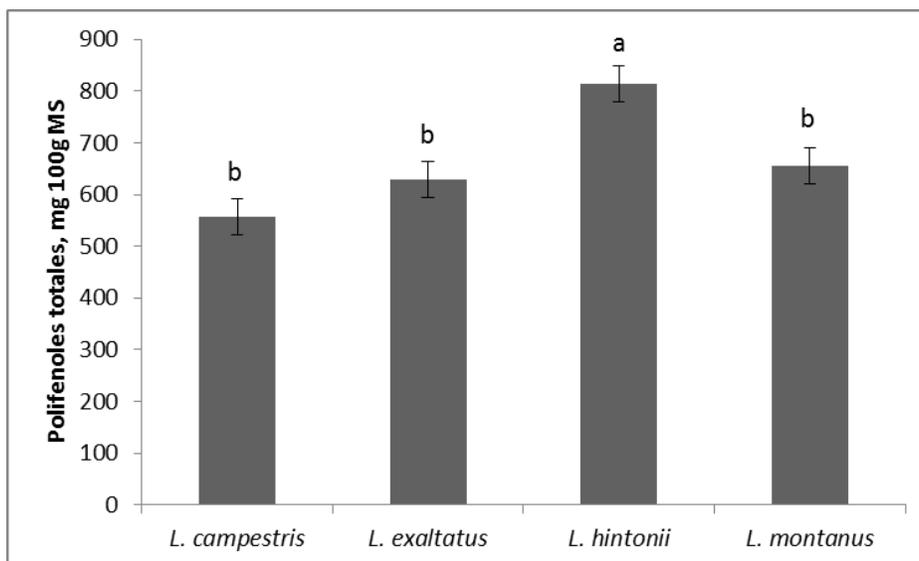


Figura 32. Contenido de polifenoles totales (mg 100g MS) en hojas más tallos de cuatro especies de *Lupinus*.

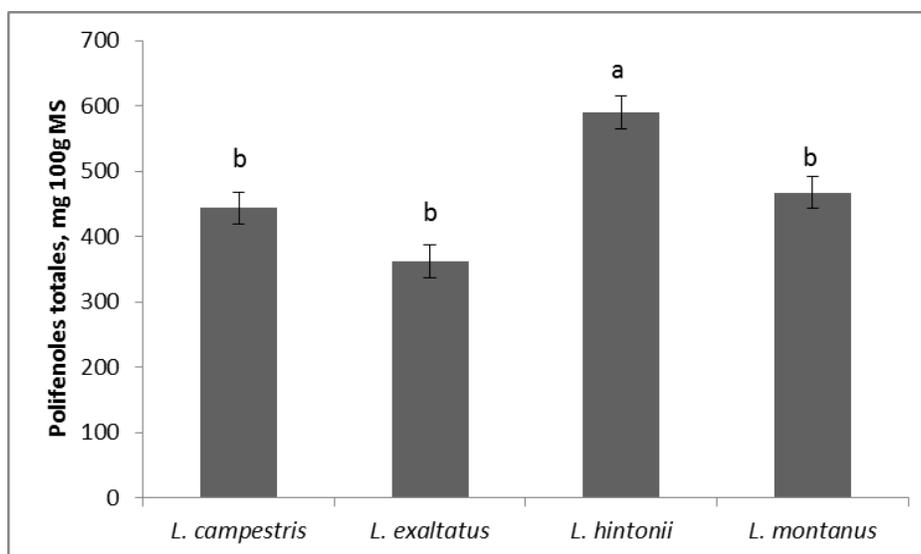


Figura 33. Contenido de polifenoles totales (mg 100g MS) en vainas maduras de *Lupinus* spp.

Cuadro 8. Concentración de Taninos condensados (mg kg^{-1}) libre (TCL) unidos a la proteína (TCP), a la fibra (TCF) y totales (TCT) en *Lupinus* spp., calculados con la ecuación $y=0.0014x-0.0069$ utilizando como estándar catequina.

Especie	Componente	TCL	TCP	TCF	TCT
<i>L. exaltatus</i>	Hoja + Tallo	99.71 \pm 4.04	66 \pm 12.84	667.61 \pm 193.23	833.32
<i>L. montanus</i>	Hoja + Tallo	85.42 \pm 12.12	47.71 \pm 5.11	436.66 \pm 153.77	569.79
<i>L. campestris</i>	Hoja + Tallo	84 \pm 18.18	59.71 \pm 5.34	912.85 \pm 331.60	1056.56
<i>L. hintonii</i>	Hoja + Tallo	66.85 \pm 2.02	37.57 \pm 4.28	1150.95 \pm 294.25	1255.37
<i>L. exaltatus</i>	Semillas	0	36.14 \pm 8.53	0	36.14
<i>L. montanus</i>	Semillas	12.71 \pm 17.98	39.71 \pm 6.99	0	52.42
<i>L. campestris</i>	Semillas	0	49.42 \pm 7.17	56.66 \pm 98.14	106.08
<i>L. hintonii</i>	Semillas	22.71 \pm 32.12	32.57 \pm 4.94	174.76 \pm 8.24	230.04
<i>L. exaltatus</i>	Vainas	115.42 \pm 2.02	81.14 \pm 26.26	818.57 \pm 152.73	1015.13
<i>L. montanus</i>	Vainas	54 \pm 0	88.28 \pm 24.24	593.80 \pm 78.67	736.08
<i>L. campestris</i>	Vainas	52.57 \pm 6.06	131.14 \pm 0	905.71 \pm 156.70	1089.42
<i>L. hintonii</i>	Vainas	142.57 \pm 64.64	69.71 \pm 14.14	237.85 \pm 10.10	450.13

Por el contrario en hoja más tallo y en vainas los valores son superiores pero inferiores a 60 g kg^{-1} , concentración arriba de la cual el metabolismo de los microorganismos ruminales es afectado y puede provocar intoxicación en el animal (López *et al.*, 2004). Las especies que presentaron mayor TCL y TCP muestran contenido de taninos más bajos que lo hallado por López *et al.* (2004) en especies forrajeras como *Guazuma ulmyfolia* (129.7 g kg^{-1}), y al de *Leucaena leucocephala* (129.5 g kg^{-1}).

L. hintonii es la especie con mayor concentración de TCF en hojas más tallo con una concentración de 1150 mg kg^{-1} , lo que incrementa el valor de taninos condensados totales; *L. exaltatus* registró la menor concentración de TCT en semillas con una media total de 36.1 mg kg^{-1} . La concentración de taninos por componente en orden de cantidad fue: hojas más tallo, vainas y semillas.

3.4. CONCLUSIONES

De las especies estudiadas sobresalen por sus altos contenidos de proteína, y lípidos, menor de fibra detergente neutro en semillas: *L. montanus* (43%, 7.1%, 21.6%, respectivamente) y *L. campestris* (40.5%, 7.0%, 16.7%, respectivamente). *L. exaltatus* aun con menores contenidos de PC (38.5%) presenta valores similares de lípidos y fibra detergente neutro. Estas tres especies presentan un contenido alto de alcaloides totales (2.4-2.6%), pero un contenido de taninos condensados totales inferior a 60 g Kg⁻¹.

L. campestris, *L. montanus* y *L. exaltatus* presentan contenidos de PC y FDN en el follaje (hojas más tallo) a floración que podrían ser aprovechados en alimentación animal, previo tratamiento para reducir el nivel de alcaloides y taninos condensados totales.

Por las características químicas de las vainas, *L. campestris* presentan los mayores contenidos de PC, lípidos y menor FDN. Los alcaloides en contenido similar a *L. montanus* y *L. exaltatus*, aunque el contenido de taninos condensados totales es el más elevado (1056 mg kg⁻¹). De las tres especies *L. montanus* presenta el menor contenido de este último factor antinutricional.

L. hintonii presentó los más bajos contenidos de proteína y sobre todo un alto contenido de alcaloides en sus semillas, hojas mas tallo y vainas.

3.5. LITERATURA CITADA

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. 16th Ed. Off. Agric. Chem., Washington, D.C., U.S.A.

Bayourthe, C., R. Moncoulon and F. Enjalbert. 1998. Effect of extruded lupin seeds as a protein source on lactational performance of dairy cows. *Animal Feed Science Technology* 72: 121–131.

Benavides, J. 2001. Utilización de la Morera (*Morus alba*) en sistemas de producción animal. In: Conferencia electrónica de la FAO sobre agroforestería para la producción animal en Latinoamérica.

<http://www.fao.org/waicentfainfo/agricult/aga7agap/frg/afris/spañol/document/morera/13doc>.

Bermúdez-Torres, K., J. Martínez-Herrera and R. Brito-Figueroa. 2009. Activity of quinolizidine alkaloids from three Mexican *Lupinus* against the lepidopteran crop pest *Spodoptera frugiperda*. *Biocontrol* 54: 459–466.

Bermúdez-Torres, K., N. Robledo-Quintos, L. Barrera-Necha and M. Wink. 2002. Alkaloid profile of leaves and seeds of *Lupinus hintonii* C.P. Smith. *Z. Naturforsch C*. 57: 243–247.

Boschin, G., A. D'Agostina, P. Annicchiarico and A. Amoldi. 2008. Effect of genotype and environment on fatty acid composition of *Lupinus albus* L. seeds. *Food Chemistry* 108: 600-606.

Boudet, A. 2000. Lignins and lignification: selected issues. *Plant Physiology and Biochemistry* 38: 81-96.

Boye, J., F. Zare and A. Pletch. 2010. Pulse proteins processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43: 414-431.

Brewbaker, J. 1987. Species in the genus *Leucaena*. *Leucaena Research Reports* 7. 6 p.

Cubero, J.I., y M.T. Moreno. 1983. *Leguminosas de Grano*. Mundi-Prensa. Madrid, España. 359 p.

De Almeida C., G.E., D. Queiroz-Monici K., M.S. Machado R. and A. Acosta de Oliveira. 2006. Chemical composition, dietary fiber and resistant starch contents of raw cooked pea, common bean, chickpea and lentil legumes. *Food Chemistry* 94: 327-330.

De Luna-Jiménez, A. 2007. Composición y procesamiento de la soya para consumo humano. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes* 15(37): 35-44.

Delgado, D.C., O. La y B. Chongo. 2007. Composición Bromatológica y degradabilidad ruminal *in situ* de leguminosas tropicales herbáceas con perspectiva de uso en los sistemas productivos ganaderos. *Revista cubana de Ciencia Agrícola* 41(4):343-346.

Duranti, M., A. Consonni, C. Magni, F. Sessa and A. Scarafoni. 2008. The major proteins of lupin seed: Characterisation and molecular properties for use as functional and nutraceutical ingredients. *Trends in Food and Technology* 19(12): 624-633.

- Favier, J.C., J.L. Ripert, C. Toque y M. Feinberg. 1995. Répertoire général des aliments (table de compositions). 2a. ed. Institute National de la Recherche Agronomique Editions. Paris, Francia. 928 p.
- Flores M. J, A. 1991 Manual de la Alimentación Animal. Capítulo 6. Ediciones Ciencia y Técnica, S.A. México, D.F. 413-518.
- Gallegos-Infante J.A., N.E. Rocha-Guzmán, R.F. González-Laredo and J. Pulido-Alonso. 2010. Effect of processing on the antioxidant properties of extracts from Mexican barley (*Hordeum vulgare*) cultivar. Food Chemistry 119: 903-906.
- Gaviola, S., y V. M. Gaviola. 2008. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre el rendimiento y el color de cultivares de ajo (*Allium sativum*) colorado. Cien. Inv. Agr. 35(1):67-75.
- Gladstone, J.S. 1998. Distribution, origin, taxonomy, history and importance. *In*: J.S. Gladstone, C.A. Atkins y J. Hamblin (Eds). Lupins as Crop Plants: Biology, Production and Utilization. CAB International, Oxon, UK. 1-39.
- Glencross, B. 2001. Feeding Lupins to Fish: A Review of the Nutritional and Biological Value of Lupins in Aquaculture Feeds. /Ed). The Department of Fisheries. Government of Western Australia. 117 p.
- Glencross, B., J. Curnow, W. Hawkins, G. Kissil, and D. Petterson. 2003. Evaluation of the feed value of a transgenic strain of the narrow leaf lupin (*Lupinus angustifolius*) in the diet of the marine fish, *Pagrus auratus*. Aquaculture Nutrition 9: 197-206.
- Glencross, B.D., C.G. Carter, N. Duijster, D.R. Evans, K. Dods, P. McCafferty, W. E. Hawkins, R. Maas and S. Sipsa. 2004. A comparison of the digestibility of a range of lupin and soybean protein products when fed to either Atlantic salmon (*Salmo salar*) or rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture 237(1-4): 333-346.
- Han, H. and K. Baik B. 2008. Antioxidant activity and phenolic content of lentils (*Lens culinaris*), chickpeas (*Cicer arietinum*), (*Pisus sativum*) and soybeans (*Glicine max*), and their quantitative change during processing. Internacional Journal of Food Science and Technology 43: 1971-1978.
- Hernández, S.D., A.H. Cruz, A.M. Cobos P., J. Pérez P., S. Gonzalez M., A. Gómez V. y E. M. Ortega C. 2005. Calidad nutritiva, contenido de taninos y degradación ruminal de morera (*Morus alba*) y tulipan (*Hibiscus rosa-sinensis*) a cuatro referencias de corte. *In*: Memorias de la XVII Reunión Científica-Tecnológica, Forestal y Agropecuaria. Villahermosa, Tabasco. 184-199.

- Hodgson, J. and Y. Ping. 2008. Potential for benefit of lupino on obesity and cardiovascular disease risk in humans. *In*: J.A. Palta, and J.B. Berger (Eds). Proc. of the 12th International Lupin Conference. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand. 466-469.
- Huyghe, C. 1997. White lupin (*Lupinus albus* L.). *Field Crops Research* 53: 1147-1160.
- INEGI. 2004. Anuario estadístico de Puebla. Tomo II. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Puebla, Pue. 1004 p.
- Jiménez-Martínez C., G. Loarca-Piña y G. Dávila-Ortiz. 2003b. Antimutagenic activity of phenolic compounds, oligosaccharides and quinolizidinic alkaloids from *Lupinus campestris* seeds. *Food additives and contaminants* 20 (10): 940-948.
- Jiménez-Martínez, C., H. Hernández Sánchez, G. Álvarez Manilla, N. Robledo Quintos, J. Martínez Herrera and G. Dávila Ortiz. 2001. Effect of aqueous and alkaline thermal treatment on chemical composition and oligosaccharides, alkaloids and tannin content of *Lupinus campestris* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81: 1-8.
- Jiménez-Martínez, C., H. Hernández-Sanchez and G. Dávila-Ortiz. 2003a. Production of a yogurth-like product from *Lupinus campestris* seeds. *Journal of the Food and Agriculture* 83: 515-522.
- Keeler, R. F. 1989. Quinolizidine alkaloids in range and grain lupin. *In*: P.R. Cheeke (Ed). *Toxicants of Plant and Origin*. CRC. Boca Raton. FL, EEUU. 134-159.
- Khattab, R.Y. and C. Nyachoti. 2009. Nutritional quality of legume seeds as effected by some physical treatments, Part 1: Protein quality evaluation. *LWT-Food Science and Tecnology* 42: 1107-1112.
- Kohajdova, Z., J. Karovičova and Š. Schmidt. 2011. Lupin composition and possible use in Bakery– A review. *Czech Journal Food Science*. 29(3): 203–211.
- Kurlovich, B,S., J. Heiñanen, T. Katusova L., I. Benken, V. Chmeleva Z., and L. Bernatskaya M. 2003. Diversity of lupin (*Lupinus* L.) based on biochemical composition. *Plant Genetic Resources Newsletter* 134: 42-57.
- Lagunes-Espinoza, L.C., J. López-Upton, E. García-López., J. Jasso-Mata., A. Delgado-Alvarado y G. Garcia-de Los Santos. 2012. Diversidad morfológica y concentración de proteína de *Lupinus* spp. en la región Centro-Oriental del Estado de Puebla, México. *Acta Botánica Mexicana* 99: 73-90.

- León-Marroú, M.E., M. Ydilbrando-Villacorta G. y S.E. Pagador F. 2011. Composición química de “oca” (*Oxalis tuberosa*), “arracacha” (*Arracaccia xanthorrhiza*) y “tarwi” (*Lupinus mutabilis*). Formulación de una mezcla base para productos alimenticios. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos 2 (2): 239-252.
- Llamas, E., B. Castillo, C. Sandoval and F. Bautista. 2001. Tree forage production and quality analysis with forage potenciability on a quaty soil in Merida, Yucatan, México. In. International Symposium on Silvopastoral System and Seconds Congress on Agroforestry and Livestock Production in Latin America. San Jose, Costa Rica. 335-359.
- López, J., I. Tejada, C. Vásquez, J. de D. Garza and A. Shimada. 2004. Condensed tannins in humid tropical fodder crops and their *in vitro* biological activity: Part 1. Journal of the Science Food and Agriculture. 84: 291–294.
- Mariscal-Landín, G., Y. Lebreton and B. Sève. 2002. Apparent and standardised true ileal digestibility of protein and amino acids from faba bean, lupin and pea, provided as whole seeds, dehulled or extruded in pig diets. Animal Feed Science and Technology 97:183-198.
- Martínez-Jiménez, H., N. Robledo Q., R. Mora E., and G. Dávila O. 2001. Alkaloid composition of *Lupinus campestris* from Mexico. Journal Food Biochemical. 25: 117–125.
- Martinez-Villaluenga, C., J. Frias and C. Vidal-Valverde. 2006. Functional lupin seeds (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) after extraction of α -galactosides. Food Chemistry 98: 291–299.
- McSweeney, C.S., J. Gough, L.L. Colan, P.M. Hegarty, B. Palmer, and D.O. Krause. 2005. Nutritive value assessment of the tropical shrub legume *Acacia angustissima*: anti-nutritional compounds and in vitro digestibility. Animal Feed Science 121: 84-76.
- Mujica, A. y S.E. Jacobsen. 2006. El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) y sus parientes silvestres. Universidad Mayor de San Andres, La Paz. Botánica Económica de los Andes Centrales. 458-482.
- Muzquiz, M., C. Burbano., Cuadrado C., y C. de la Cuadra. 1993. Determination of thermoresistant antinutritional factors in legumes. I. Alkaloids. Investigacion Agraria. Producción y Protección Vegetal 8: 351-361.
- Muzquiz, M.E., C. de la Cuadra, C. Cuadrado, C. Burbano, and R. Calvo. 1994. Herbicide-like effect of *Lupinus* alkaloids. Industrial Crops and Products 2:173–280.

- Nieves, D., B. Silva, O. Terán, C. González and J. Ly. 2004. A note on the chemical composition and feeding characteristics of diets containing *Leucaena leucocephala* and *Arachis pintoii* for growing rabbits. *Livestock Research for Rural Development* 16(12): 11-122.
- Nworgu, F.C. and T.F. Ajayi. 2005. Biomass, dry matter yield, proximate and mineral composition of forage legumes grown as early dry season feeds. *Livestock Research for Rural Development*. Volume 17, Article #121. Retrieved October 16, 2012, from <http://www.lrrd.org/lrrd17/11/nwor17121.htm>.
- Ortega-David, E., A. Rodríguez., A. David y A. Zamora-Burano. 2010. Caracterización de semillas de lupino (*Lupinus mutabilis*) sembrado en los Andes de Colombia. *Acta Agronómica*. 59: 111-118.
- Palander, S., P. Laurinen, S. Perttil, J. Valaja and K. Partanen. 2006. Protein and amino acid digestibility and metabolizable energy value of pea (*Pisum sativum*), faba bean (*Vicia faba*) and lupin (*Lupinus angustifolius*) seeds for turkeys of different age. *Animal Feed Science and Technology* 127: 89–100.
- Pearse G. H. B., N.P. McMeniman and I.A. Gardner. 1994. Influence of body condition on ovulatory response to lupin (*Lupinus angustifolius*) supplementation of sheep. *Small Ruminants Research* 13: 27-32.
- Pineda, M.O. 1998. Identificación y evaluación de follajes arbóreos en la región de las verapaces potencialmente útiles para la alimentación de rumiantes. *In*: E. Pizarro (Ed). *Red de Evaluación de Pastos Tropicales*. 1ª Reunion de la RIEPT. CAC. Veracruz, Mexico. 236-243.
- Przybylak, J.K., D. Ciessiolka, W. Wysocka, P.M. García-López, M.A. Ruíz-López, W. Wysocki and 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 annuum* L.). *Industrial Crops Products*. 21: 1–7.
- Refstie, S., B. Glencross, T. Landsverk, M. Sørensen, E. Lilleeng, W. Hawkins and A. Krogdahl. 2006. Digestive function and intestinal integrity in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed kernel meals and protein concentrates made from yellow or narrow-leaved lupins. *Aquaculture*. 261:1382–1395.
- Rehinan, Z. U., M. Rashid and W. Shah. 2004. Insoluble dietary fibre components of food legumes as affected by soaking processes. *Food Chemistry* 85: 245-249.
- Rodríguez-Ambriz, S.L., A.L. Martínez-Ayala, F. Millán y G. Dávila-Ortiz. 2005. Composition and functional properties of *Lupinus campestris* protein isolates. *Plant Foods for Human Nutrition* 60: 99–107.
- Roy, F., J.I. Boye and B.K. Simpson. 2010. Bioactive proteins and peptides in

- pulse crops: pea, chickpea and lentil. *Food Research International* 43: 432-442.
- Ruíz M., A. and A. Sotelo. 2001. Chemical composition nutritive value, and toxicology evaluation of Mexican wild lupins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 49: 5336-5339.
- Ruíz-López, M. A., P. M. García-López, H. Castañeda-Vazquez, J. Zamora N. J., P. Garzón de la Mora, J. Bañuelos Pineda, C. Burbano, M.M. Pedrosa, C. Cuadrado, and M. Muzquiz. 2000. Chemical composition and antinutrient content of three *Lupinus* species from Jalisco, Mexico. *Journal of Food Composition and Analysis* 13(3): 193-199.
- Ruíz-López, M.A., M.R. Rodríguez y S. Navarro P. 2006. Evaluación químico-nutricional de *Lupinus exaltatus* Zucc., del Nevado de Colima, México, como fuente potencial de forraje. *Interciencia* 31(10): 758–761.
- Ruíz-López, M.A., P.M. García-López, R. Rodríguez-Macías, J.F. Zamora-Nátera, M.L. Isaac-Virgen and M. Múzquiz. 2010. Mexican wild lupines as a source of quinolizidine alkaloids of economic potential, *Polibotánica* 29: 159-164.
- SAS. 2001. SAS user`s guide: Statistics 8th ed. SAS Institute. Cary, N. C. USA.
- Schofield, P., D.M. Mbugua and A.N. Pell. 2001. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology* 91: 21-40.
- Sipsa, S. 2008. Lupin products-concepts and reality. *In: J.A. Palta and J.B. Berger* (eds). *Lupins for Health and Wealth*. Proc. of the 12th International Lupin Conference, 14-18 Sept. 2008. Fremantle, Western Australia. International Lupin Association. Canterbury, New Zealand.
- Smith, D.M., S.J. Tabrett, S.J. Irvin, J. Wakeling, B.D. Glencross and D. Harris. 2007. Response of the black tiger shrimp, *Penaeus monodon* to feed containing the lupin alkaloid, gramine. *Aquaculture* 272: 556–563.
- Sridhar, K, R. and S. Seena. 2006. Nutritional and antinutritional significance of four unconventional legumes of the genus *Canavalia*-A comparative study. *Food Chemistry*, 99: 267-288.
- Steel, R.G.D., y J. Torrie H. 1988. *Bioestadística: Principios y Procedimientos*. 2da ed. MacGraw-Hill/ Interamericana de México (Ed). Naucalpan de Juárez, Estado de México, México. 622 p.
- Sujak, A., A. Kotlarz. and W. Strobel. 2006. Compositional and nutritional evaluation of several lupin seeds. *Food Chemistry* 98: 711–719.

- Tacon, A.G.J. and M. Metian. 2008. Global overview on the use of meal and oil in industrially compounded aquafeeds: trends and future prospects. *Aquaculture* 285: 146- 158.
- Terrill T.H., A.M. Rowan, G.D. Douglas and T.N. Barry. 1992. Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrates meals and cereal grains. *Journal Science Food Agriculture* 58: 321–329.
- van Soest, P.J. 1973. Collaborative study of acid-detergent fibre and lignin. *Association Oficial Analisis Chemists*. 56: 781.
- van Soest, P.J., L.P. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 74: 3583 – 3597.
- Vega, C.G. 1987. Estado actual de la investigacion en *Gliricidia sepium* (Jacq) Walp en México. *In: Gliricidia sepium: Management and improvement*. NFTA. Merida Yucatan. 113-122.
- Veronesi, F., E.C. Brummer and C. Huyghe. 2010. Alfalfa. *In: B. Boller, U.K. Posselt, F. Veronesi (Eds.). Handbook of Plant Breeding: Fodder Crops and Amenity Grasses*, Springer. 5: 122-131.
- Vicenti, A., F. Toteda, L. Di Turi, C. Cocca, M. Perrucci, L. Melodia and M. Ragni. 2009. Use of sweet lupin (*Lupinus albus* L. var. *multitalia*) in feeding for Podolian young bulls and influence on productive performances and meat quality trait. *Meat Science* 82: 247–251.
- Villacrés, E., E. Peralta., L. Cuadrada., I. Revelo y Abdo, R. S. 2008. Propiedades y aplicaciones de los alcaloides del chocho, *Lupinus mutabilis* Sweet. 1ra ed. Editorial Grafi Stas. Quito, Ecuador. Boletin Técnico 133: 22 p.
- Volek, Z. and M. Marounek. 2009. Whole white lupin (*Lupinus albus* cv. Amiga) seeds as a source of protein for growing-fattening rabbits. *Animal Feed Science and Technology* 152: 322–329.
- White, C.L., V.E. Staines and M.H. Staines. 2007. A review of the nutritional value of lupins for dairy cows. *Australian Journal of Agricultural Research* 58(3): 185–202.
- Williams W, Harrison JEM (1983) Alkaloid concentration during development in three *Lupinus* species and the expression of genes for alkaloid biosynthesis in seedling *Phytochemistry* 22: 85-90.

Wink, M. 2003. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*. 64: 3–19.

Wink, M., and L. Witte. 1984. Turnover and transport of quinolizidine alkaloids. Diurnal fluctuations of lupanine in the phloem sap, leaves and fruits of *Lupinus albus* L. *Planta* 161: 519-524.

Zamora-Natera, F., G. Virgen C., A. Bernal A., S. Fausto G., and M. Ruíz L. 2008. *In vitro* antifungal activity of *Lupinus montanus* extract and lupanine on *Fusarium oxysporum* f. sp *melonis*. In: Proc. 10th Int. Lupin Conference. E. van Santen, M. Wink, S. Weissmann and P. Romer (Eds.). Laugarvatn, Iceland. 255–256.

Zamora-Natera, J.F., P. García-López, M.A. Ruíz-López, E. Salcedo P. y R. Rodríguez-Macias. 2009. Composición y concentración de alcaloides en *Lupinus exaltatus* Zucc. durante su crecimiento y desarrollo. *Interciencia* 34(9): 672-676.

CAPITULO IV

DEGRADACIÓN *IN SITU* DE COMPONENTES NUTRICIONALES DE LA PLANTA ENTERA EN CINCO ESPECIES DE *Lupinus*

4.1. INTRODUCCIÓN

Pastos nativos y cultivados cubren grandes extensiones de tierra en los trópicos y este ambiente natural agrupa diversas especies de plantas forrajeras (Pereira *et al.*, 2005). En las regiones tropicales de América varias plantas son una fuente de alimento abundante y económica para los sistemas de producción pecuaria (Valle, 2001; Rodríguez, 2003), aunque generalmente presentan un bajo valor nutritivo (Pérez *et al.*, 2001), con variaciones entre lugares y épocas del año asociadas a condiciones edáficas y climáticas, pero también al estado fenológico del pasto y especie (Del pozo *et al.*, 2002).

Entre los componentes del valor nutritivo que limitan la actividad microbiana en el rumen, se encuentran la baja digestibilidad de la materia orgánica, el bajo contenido de proteína y fibras, y para maximizar la síntesis de proteína microbiana en rumen, se requiere que las fuentes de nitrógeno y de carbohidratos estén al mismo tiempo disponibles (Casper *et al.*, 1999), lo que dependerá de la cantidad y del tipo de proteína de la ración, de la disponibilidad de carbohidratos, del pH y de otros factores como péptidos, aminoácidos, vitaminas y minerales (Stern *et al.*, 1994). Respecto a la fracción fibrosa de los forrajes, valores altos de degradabilidad ruminal son indicativos de la capacidad del alimento para aportar energía a la flora ruminal para mantener niveles adecuados de producción en los rumiantes (Cecconello *et al.*, 2003).

Las leguminosas forrajeras desempeñan un papel importante en la alimentación de los rumiantes, ya que se puede aprovechar eficientemente la proteína disponible en su follaje y semillas y la energía que aporta su fibra (Delgado *et al.*, 2007). Mejoran la producción y la calidad del pasto a través del suministro de materia orgánica (MO) y nitrógeno fijado (Pahlow *et al.*, 2000; Halling *et al.*, 2000). Por lo que su presencia en las praderas puede además ser una estrategia

económica, rentable y compatible en la producción pecuaria (Ibrahim *et al.*, 2006). Además, las leguminosas son importantes ingredientes proteicos para la formulación de alimentos balanceados (e.g. Adawy *et al.*, 2001; Drakos *et al.*, 2007).

El género *Lupinus* presenta un alto potencial como complemento proteico, debido a sus altos valores de proteína (30-40 %) (Khattab y Nyachoti, 2009), para la síntesis proteica de los microorganismos del rumen y alto contenido de lípidos (4 a 15 %) (Boschin *et al.*, 2008). Las altas concentraciones de fibras no son una limitante para ser usado en la alimentación de animales, ya que estos son capaces de aprovechar los materiales fibrosos altos en celulosa y hemicelulosa como fuente de energía (van Soest, 1973).

Dado que la degradabilidad de los componentes del valor nutritivo presenta variación que puede ser atribuida a diferencias metodológicas como las condiciones de alimentación de los animales, tamaño del poro de las bolsas de nylon, la tasa de pasaje en el rumen, entre otras (Michalet-Doreau y Ould-Bah, 1992; Huntington y Givens, 1995), pero también debida a diferencias entre especies, variedades o ecotipos (Moss *et al.*, 2001; Del Pozo *et al.*, 2002), la determinación de la degradación de los componentes del valor nutritivo es necesaria sobre todo en especies silvestres. Existen, estudios de degradabilidad en el rumen sobre los componentes del valor nutritivo de la semilla (Stanford *et al.*, 1996; Aufrère *et al.*, 2001; Remond *et al.*, 2003; Solanas *et al.*, 2005) y son escasos los estudios sobre el valor nutritivo del follaje (Ruiz-López *et al.*, 2006). Dado que las fuentes proteicas encarecen los insumos para alimentación animal, la diversificación con especies silvestres ricas en proteínas ayudaría a la economía de los productores por tener potencial de uso en alimentación animal. El objetivo de este capítulo fue determinar la degradación de la materia seca, de la materia orgánica, de la proteína cruda y de los componentes fibrosos en semillas y planta entera de cinco especies de *Lupinus* spp.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Plantas completas de *L. montanus*, *L. exaltatus*, *L. campestris*, *L. hintonii* y *Lupinus* sp. fueron recolectadas durante el periodo de floración en el mes de mayo y los frutos secos al final del periodo de fructificación en el mes de julio 2011, en la región de los Valles de Libres y Serdán del estado de Puebla, México (Cuadro 9). En cada especie, las plantas fueron separadas y colocadas en bolsas de papel por componentes (semillas, vainas, hojas mas tallos). Cada componente se deshidrató a 60°C durante 72 h en una estufa de aire forzado marca ShelLab modelo CE3F de acuerdo a AOAC (2000). Enseguida se molieron en un molino marca Willey modelo 4 equipado con una criba de 1 mm de diámetro. Las muestras molidas se guardaron, previamente identificadas, en frascos de plásticos para posteriores análisis químicos.

Cuadro 9. Ubicación geográfica de los sitios de recolecta de cinco especies de *Lupinus* en la Región de los Valles de Libres y Serdán, Puebla, México.

Especies	Localidad (Municipio)	Ubicación geográfica	Altitud (msnm)
<i>L. montanus</i>	Tlachichuca	19°04'42.0"LN y 97°19'17.47"LO	3442
<i>L. exaltatus</i>	Chalchicomula de Sesma	19°00'21.8"LN y 97°22'0.144"LO	3066
<i>L. hintonii</i>	Chalchicomula de Sesma	19°04'08.1"LN y 97°19'11.66"LO	3424
<i>L. campestris</i>	Tlachichuca	19°03'51.2"LN y 97°23'01.12"LO	2866
<i>Lupinus</i> sp.	Esperanza	18°52'50.6"LN y 97°23'03.35"LO	2486

4.2.1. Degradación *in situ* de la Materia Seca (DIMS)

Para determinar la degradación *in situ* de la materia seca (DIMS) se utilizó la técnica de la bolsa de nylon descrita por Orskov *et al.* (1980). Para ello se incubaron las muestras en dos bovinos fistulados en el rumen, con encastes distintos de *Bos taurus* x *Bos indicus*, con un peso promedio de 550 kg (cada bovino se tomó como una repetición). Diez días antes y durante la incubación los animales consumieron un suplemento comercial con 16 % de proteína cruda a

razón de 6 g/kg de peso vivo, base seco, con el objetivo de incrementar la cantidad de microorganismo específico de la degradación de la proteína. Posteriormente, en bolsas de nylon (10 x 20 cm) se incubaron en el rumen de cada animal 5 g de muestra molida de cada especie de *Lupinus* a las 0, 3, 9, 12, 24 y 48 h. Primero se incubaron las bolsas que correspondían a las 48 h, posteriormente las de 24 h, así sucesivamente, hasta llegar al tiempo 0. En este momento todas las bolsas fueron sacadas y lavadas en una cubeta con agua hasta que el afluyente de las bolsas se tornó claro, y para reducir el error por efecto de lavado de bolsas. Posteriormente se secaron en una estufa de aire forzado a 60 °C hasta obtener peso constante y se pesaron. Por diferencia de peso, se determinó la DIMS, mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ DIMS} = \frac{(P_i - P_f)}{P_i} \times 100$$

Donde:

P_i = peso inicial de la muestra (g)

P_f = peso del residuo obtenido al final de los tiempos de incubación (g)

4.2.3. Degradación *in situ* de la materia orgánica (DIMO)

Para calcular la DIMO, a los residuos obtenidos al final de cada tiempo de incubación (0, 3, 9, 12, 24 y 48 h), se les determinó el contenido de cenizas de acuerdo a la AOAC (2000). Posteriormente se determinó el porcentaje de materia orgánica (MO) por la diferencia 100 de menos el porcentaje de cenizas. El peso inicial usado en la determinación de la DIMS se multiplicó por el porcentaje de MO inicial (muestras sin incubar) y se dividió entre 100 para obtener los gramos iniciales de MO. El peso residual obtenido en la determinación de la DIMS se multiplicó por el porcentaje de MO residual y se dividió entre 100 para obtener los gramos residuales de MO. La fórmula utilizada fue la siguiente:

$$\% \text{ DIMO} = \frac{\text{gMOI} - \text{gMOR}}{\text{gMOI}} \times 100$$

Donde:

gMOI= gramos de la MO inicial

gMOR= gramos de la MO residual

4.2.3. Degradación *in situ* de la proteína cruda (PC)

Para calcular la DIPC, a los residuos obtenidos al final de cada tiempo de incubación (0, 3, 9, 12, 24 y 48 h), utilizadas en la determinación de la DIMS, se les determinó el contenido de PC de acuerdo a la AOAC (2000). El peso inicial usado en la determinación de la DIMS se multiplicó por el porcentaje de PC inicial (muestras sin incubar) y se dividió entre 100 para obtener los gramos iniciales de PC. El peso residual obtenido en la determinación de la DIMS se multiplicó por el porcentaje de PC residual y se dividió entre 100 para obtener los gramos residuales de PC. La fórmula utilizada fue la siguiente:

$$\% \text{ DIPC} = \frac{\text{gPCI} - \text{gPCR}}{\text{gPCI}} \times 100$$

Donde:

gPCI= gramos de la PC inicial

gPCR= gramos de la PC residual

4.2.4. Degradación *in situ* de la fibra detergente neutro (DIFDN)

Para calcular la DIFDN, a los residuos obtenidos al final de cada tiempo de incubación (0, 3, 9, 12, 24 y 48 h), utilizadas en la determinación de la DIMS, se les aplicó la metodología de van Soest *et al.* (1991) para determinar el porcentaje de FDN (residual). El peso inicial usado en la determinación de la DIMS se multiplicó por el porcentaje de FDN inicial (muestras sin incubar) y se dividió entre 100 para obtener los gramos iniciales de FDN. El peso residual obtenido en la

determinación de la DIMS se multiplicó por el porcentaje de FDN residual y se dividió entre 100 para obtener los gramos residuales de FDN. El cálculo se realizó con la fórmula siguiente:

$$\% \text{ DIMO} = \frac{\text{gFDNI} - \text{gFDNR}}{\text{gFDNI}} \times 100$$

Donde:

gFDNI= gramos de la FDN inicial

gFDNR= gramos de la FDN residual

4.2.5. Degradación *in situ* de fibra detergente ácida (DIFDA)

Para calcular la DIFDA, a los residuos obtenidos al final de cada tiempo de incubación (0, 3, 9, 12, 24 y 48 h), se les aplicó la metodología de van Soest *et al.* (1991) para determinar el porcentaje de FDA (residual). El peso inicial usado en la determinación de la DIMS se multiplicó por el porcentaje de FDA inicial (muestras sin incubar) y se dividió entre 100 para obtener los gramos iniciales de FDA. El peso residual obtenido en la determinación de la DIMS se multiplicó por el porcentaje de FDA residual y se dividió entre 100 para obtener los gramos residuales de FDA. El cálculo se realizó con la fórmula siguiente:

$$\% \text{ DIMO} = \frac{\text{gFDAI} - \text{gFDAR}}{\text{gFDAI}} \times 100$$

Donde:

gFDAI= gramos de la FDA inicial

gFDAR= gramos de la FDA residual

4.2.6. Energía metabolizable (EM)

Para estimar la EM se aplicó la fórmula propuesta por el ARC (1980):

$$\text{EM} = (\text{DMO} \times 3.616)/100$$

DMO= Digestibilidad de la materia orgánica

4.2.7. Tasa de degradación

En cada tiempo, la desaparición de la MS, MO, PC, FDN y FDA de las bolsas de nylon fue calculada de las respectivas cantidades remanentes después de la incubación ruminal. Las cinéticas de degradación *in situ* para cada variable fueron evaluadas por un modelo exponencial (Orskov y McDonald, 1979):

$$p = a + b(1 - \exp^{-kdt})$$

El modelo asume que hay una fracción soluble “a”, una fracción insoluble potencialmente degradable “b”, y una constante “Kd” que representa la tasa de degradación de la fracción “b” por unidad de tiempo. Para el desarrollo del modelo se utilizó el programa Stella VI (Hulbert *et al.*, 2000) y para el ajuste del modelo y la obtención de la solución numérica se utilizó el programa Berkeley Madonna 8.01 (Macey *et al.*, 2000).

4.2.8. Ajuste de los datos en base seca

Debido a que las muestras secas se humedecen cuando son expuestas al ambiente (muestra parcialmente seca), se pesó 1 g de muestra por triplicado (según tratamientos) y se colocó en una estufa de aire forzado a 105 °C durante 24 h para determinar la materia seca total. Posteriormente, todos los pesos de las muestras utilizados en los análisis bromatológicos y de degradación *in situ* fueron ajustados a 100% base seca.

4.3. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados usando PROC MIXED de SAS (SAS Inst. Inc., 2010), para medidas repetidas. El modelo incluyó el efecto de la especie, del tiempo de incubación y su interacción como efectos fijos. El animal fue usado como un efecto aleatorio y el tiempo de incubación fue el factor repetido. El modelo fue:

$$Y_{ij} = \mu + \text{especie}_i + \text{tiempo}_j + (\text{especie} \times \text{tiempo})_k + e_{ijkl}$$

Donde Y_{ij} = Variable de respuesta, μ es la media general, y e_{ijkl} el error aleatorio, tiempo_j es el efecto del *j*-ésimo tratamiento en la variable respuesta ($k= 0, 3, 9, 12, 24$ y 48 h), (especie x tiempo de incubación) es la interacción. Las medias de los tratamientos fueron separadas y se ajustaron a Tukey (Steel *et al.*, 2000).

4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.4.1 Degradación *in situ* de la materia seca (DIMS)

En semillas, se observó interacción altamente significativa ($P<0.001$) entre el factor especie y el factor tiempo de incubación para la DIMS (Anexo 1), lo que significa que la DIMS depende de la especie y del tiempo de incubación. Las mayores degradaciones se encontraron a las 48 h en las especies de *L. montanus* (96.3 %), *L. hintonii* (96.7 %) y la pasta de soya (97.0 %), sin diferencias significativas entre ellas (Cuadro 9).

Todas las especies estudiadas de lupino en las primeras horas de incubación tienen una degradación más alta que el tratamiento pasta de soya. Sin embargo, a las 24 h habían ya alcanzado su mayor degradación, (Figura 34), tal vez porque el contenido de lignina en las semillas es relativamente bajo. A las 48 h, todas las especies en estudio, incluyendo la pasta de soya, mostraron la mayor degradabilidad. Estos valores altos de DIMS no se relacionan con la tasa de degradación y fracción soluble, ya que estas varían de 6.61 a 8.16 y de 47.6 a 95.2%, respectivamente.

Los valores de la DIMS de semillas de lupino a las 48 h coinciden con lo mostrado por otros autores en harinas de semillas de diferentes leguminosas tropicales como en especies de *Canavalia*. En *C. ensiformis* L., el valor reportado fue de 98.9% y en *C. gladiata* L., de 98.7% (González, 2004). En gandul (*Cajanus cajan* L.) de 94.6%, y en mucuna (*Stizolobium niveum*) 96.1% (González, 2006). La semilla de chícharo (*Pisum sativum* L.) presenta menor degradabilidad a las 48 h (64.4%) (Bressani *et al.*, 1977).

Cuadro 9. Degradación ruminal de la materia seca (DIMS) por componente: semillas, vainas y hoja más tallo, de cinco especies de *Lupinus* y de pasta de soya.

Especie	Horas de incubación (%)						%	
	0	3	9	12	24	48	Kd	F. Soluble
Semillas								
<i>L. montanus</i>	50.7 ^{no}	56.5 ^k	65.2 ^{gh}	75.7 ^f	96.5 ^{abc}	96.5 ^{abc}	7.46	57.37
<i>L. exaltatus</i>	49.7 ^o	55.6 ^{kl}	66.1 ^g	74.9 ^f	94.6 ^{bc}	94.7 ^{bc}	7.14	57.03
<i>L. hintonii</i>	62.3 ⁱ	63.3 ^{hi}	73.0 ^f	84.2 ^d	94.5 ^{abc}	96.7 ^{ab}	8.16	47.67
<i>L. campestris</i>	59.3 ^j	66.5 ^{ch}	74.9 ^f	80.9 ^e	94.1 ^c	94.3 ^{bc}	6.37	42.37
P. de soya	13.5 ^q	22.1 ^p	52.4 ^{mn}	53.5 ^{lm}	81.1 ^e	97.0 ^a	6.61	95.2
Vainas								
<i>L. montanus</i>	23.4 st	27.6 ^q	37.1 ^m	44.4 ^j	50.4 ^h	63.0 ^e	1.5	72.0
<i>L. exaltatus</i>	25.7 ^g	29.3 ^q	36.3 ^{mn}	47.4 ⁱ	62.6 ^e	74.3 ^b	2.63	77.2
<i>L. hintonii</i>	22.0 ^t	24.6 ^{rs}	34.7 ^{no}	41.1 ⁱ	52.2 ^g	57.5 ^f	1.39	73.9
<i>L. campestris</i>	31.7 ^p	32.5 ^p	40.4 ^l	42.4 ^k	68.4 ^c	80.7 ^a	3.05	76.39
<i>Lupinus</i> sp.	34.5 ^o	34.7 ^{no}	45.9 ^{ij}	49.2 ^h	64.7 ^d	69.0 ^a	1.93	65.34
Hoja más tallo								
<i>L. montanus</i>	31.5 ^{ob}	43.0 ^{lmn}	57.5 ^{hij}	60.4 ^{ghi}	66.0 ^{efgh}	75.8 ^{abcd}	1.96	54.75
<i>L. exaltatus</i>	43.7 ^{lmn}	45.9 ^{klm}	47.8 ^{klm}	63.4 ^{fghi}	77.6 ^{abcd}	83.0 ^a	3.31	60.45
<i>L. hintonii</i>	42.2 ^{lmn}	43.0 ^{lmn}	46.8 ^{klmn}	55.4 ^{ijk}	75.4 ^{fgh}	69.6 ^{cdefg}	1.61	57.88
<i>L. campestris</i>	44.2 ^{lmn}	49.6 ^{jkl}	55.0 ^{ijk}	65.5 ^{fgh}	78.5 ^{abc}	80.2 ^{ab}	2.77	53.04
<i>Lupinus</i> sp.	37.2 ^{no}	38.0 ^{mno}	39.4 ^p	57.2 ^{hij}	68.3 ^{dfg}	71.1 ^{bcde}	2.14	63.65

a,b,c,d,e = Medias con letra distinta en y entre columna son diferentes ($p \leq 0.05$).

Kd = tasa de degradación, F. = Fracción.

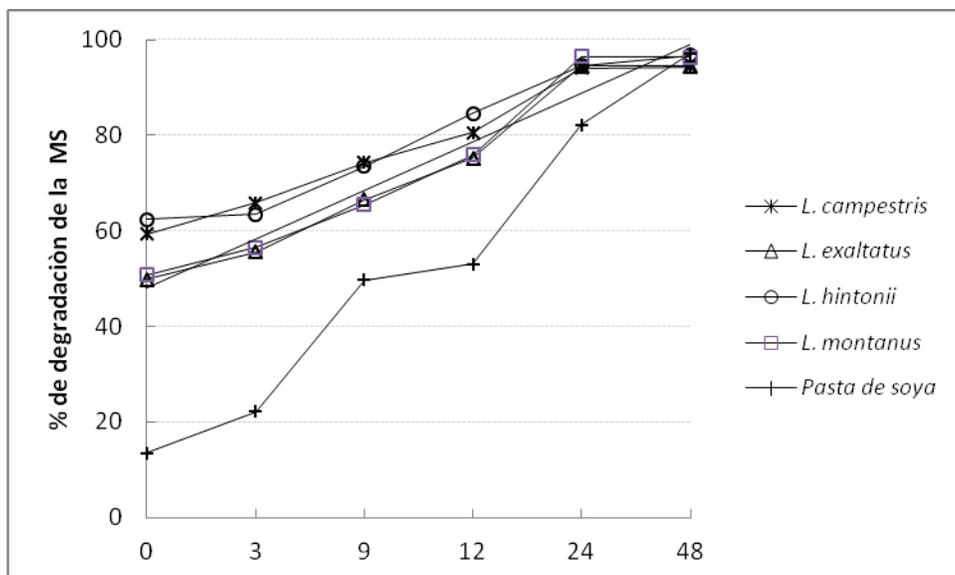


Figura 34. Curva de cinética de la degradación ruminal de la materia seca (DIMS) de semillas de *Lupinus* y de pasta de soya.

El tamaño de las partículas de las harinas, así como los tiempos de incubación pudieron favorecer a la alta degradabilidad microbiana de las harinas de lupino y pasta de soya. En el caso de la pasta de soya, se ha demostrado que su adición con almidón puede disminuir el consumo y la digestibilidad (Hoover, 1986), por lo que sería una ventaja de los lupinos al no contener almidones en sus semillas (Glencross, 2004).

Con respecto a otras especies de *Lupinus*, Ruiz-López *et al.* (2006) encontró DIMS inferiores en semillas de *L. exaltatus* de la región del Nevado de Colima, México, a las mostradas por las especies de lupino de nuestro estudio, DIMS de 76.6% después de incubar por 72 h muestras en borrego fistulados en rumen. Para la comparación entre especies existen muy poca o ninguna diferencia en la degradación de muestras incubadas usando ovinos o bovinos (Pedraza, 2001). El uso de bovinos tienen la ventaja de permitir un mayor número de bolsa y/o bolsas más grandes por periodo de incubación (Orskov, 1982).

Al igual que en semillas, en vainas la DIMS se incrementó con el tiempo de incubación. La interacción entre las especies de *Lupinus* y los tiempos de incubación fue altamente significativa ($p < 0.001$) (Anexo 2). *Lupinus sp.*, y *L. campestris* presentaron las mayores degradaciones a las 48 h (69 y 80.73 %, respectivamente). La mayor degradación de la materia seca que presentó *L. campestris* puede deberse a que tiene la mayor tasa de pasaje (3.05%) y de solubilidad de la fibra (76.4%).

L. hintonii es la especie que presentó la menor DIMS en todos los tiempos de incubación (Figura 35). La DIMS de las vainas fue menor que la DIMS observada en semillas. Se puede inferir que se debe al mayor contenido de lignina que presentan estos componentes (9.0 a 13.1%); ya que la lignina es un material indigestible, siendo su mayor implicación el hacer menos aprovechables a componentes como la celulosa y hemicelulosa cuando está asociada a ellos (Klopfenstein *et al.* 1991).

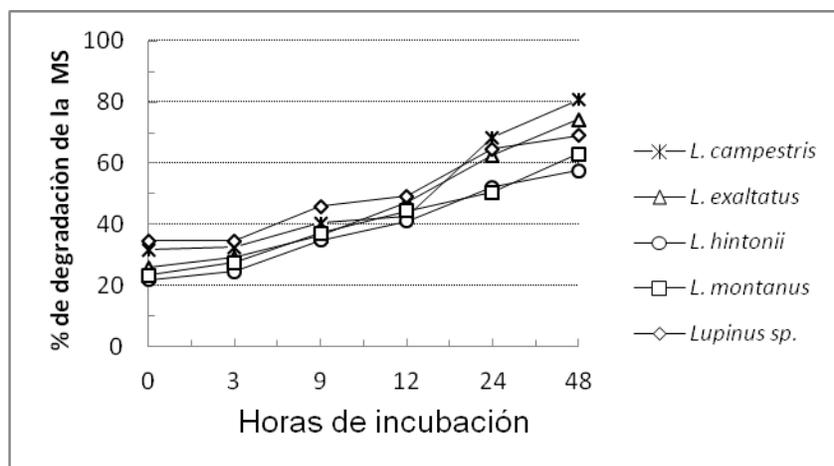


Figura 35. Curva de cinética de la degradación ruminal de la materia seca de vainas de cinco especies de *Lupinus*.

Los valores de DIMS en vainas son menores a los determinados en *L. exaltatus* (24.5%) después de 72 h de incubación en borregos fistulados en rumen (Ruiz-López *et al.*, 2006).

Con respecto a la DIMS de hojas más tallos (Anexo 3), se observó interacción altamente significativa ($p < 0.001$) entre las especies de *Lupinus* y los tiempos de incubación. La mayor DIMS se encontró en *L. exaltatus* y *L. campestris* a las 48 h (83.08 y 80.24 %, respectivamente). La mayor degradación que presentaron las especies puede estar relacionado a que tiene la mayor tasa de pasaje (3.31 y 2.77 %), y de solubilidad de la fibra (60.4 %), (Cuadro 9).

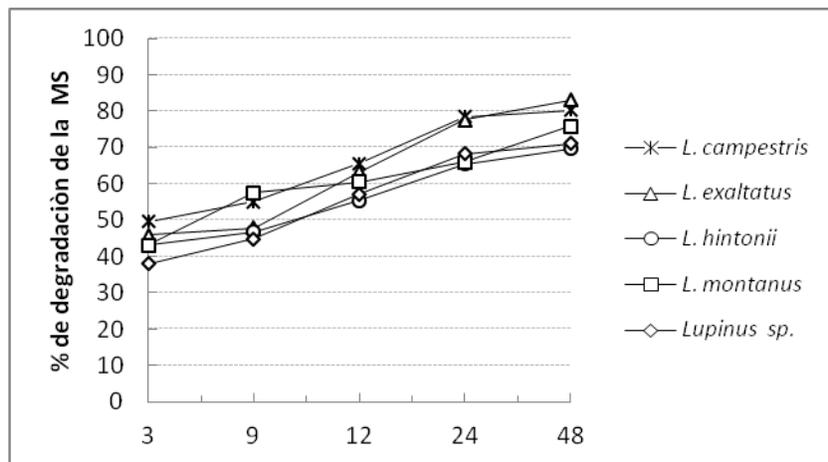


Figura 36. Curva de cinética de la degradación ruminal de la materia seca de hojas más tallos de cinco especies de *Lupinus*.

Las especies evaluadas presentaron altos valores de DIMS desde las primeras horas de incubación (Figura 36). Las hojas más tallos de lupinos, al final de la incubación (48 h) presentaron un rango de degradación de la materia seca del 70 a 90%. Esto indica según Espinoza (1996), que cuando un forraje se encuentra en el intervalo de 75 y 90 % DIMS es de excelente calidad. Las especies *L. montanus* y *L. hintonii* presentaron las menores DIMS y tasas de degradación a las 48 h de todas las especies. Según Mupangwa *et al.* (2000) y Priolo *et al.* (2000), los taninos condensados o proantocianidinas afectan la digestibilidad de la MS y

materia orgánica. *L. hintonii* presenta el mayor contenido de taninos condensados libres (1150 g kg^{-1}) de todas las especies de lupino en estudio (Cuadro 9).

Los valores de DIMS del follaje de diversas leguminosas tropicales son mayores a los observados en el follaje de las especies de lupino en estudio; como 80% para clitoria (*C. ternatea* L.); y en forrajeras arbustivas como 90% para morera (*Morus alba*) y 94% para tulipán (*Hibiscus rosa sinensis* L.) (Meléndez, 2012; Hernández *et al.*, 2005). En cambio son superiores al 64% de DIMS de cocoite (*Gliricidia sepium*) (Mata, 2004; Hernández *et al.*, 2005), 53.4% de *Cratylia argentea* L. (Romero y González, 2001), 62.2% de leucaena (*Leucaena leucocephala* L.) (Vázquez, 2008), 62-67% de cacahuatillo (*Arachis pintoii* L.) (Lascano, 1995) y 60 a 70% de Kudzú (*Pueraria phaseoloides*) (Meléndez, 2012).

Los valores de DIMS del las hoja más tallos se confirman con lo encontrado por Ruiz-López *et al.* (2006) en el follaje y planta completa de *L. exaltatus* (60.6% y 72.9%).

En resumen, la MS de las especies de *Lupinus* fue altamente degradada, incluso a tiempos cortos de incubación; las semillas desde las primeras horas presentaron alrededor del 50% de degradabilidad, las hojas más tallos con valores de 31 y 43%, y las vainas con alrededor 22 y 34.5%, lo que indica que los componentes fueron de fácil degradación en el rumen, especialmente las harinas de las semillas. Las especies de lupinos por contener pequeñas cantidades de almidón o no contener son muy degradables debido al fácil aprovechamiento de las fibras en el rumen por los microorganismos, por lo que constituyen una fuente de energía importante para estos.

4.4.2. Degradación *in situ* de la proteína cruda (DIPC)

Se determinó interacción altamente significativa entre especies y tiempos de incubación para la DIPC en semillas, vainas y hojas más tallos (Anexo 1). A las 24 h, las más altas DIPC se observaron en semillas (84.5 a 98.9%), seguidas de las de hojas mas tallos (86.8 a 94.5%) y de las de las vainas (78.6 a 90.7%) (Cuadro

10).

Cuadro 10. Degradación ruminal de la proteína cruda (DIPC) por componente: semillas, vainas y hoja más tallo, de cinco especies de *Lupinus* y pasta de soya.

Especie	Horas de incubación (%)						%	
	0	3	9	12	24	48	Kd	F. soluble
Semillas								
<i>L. montanus</i>	50.7 ^q	76.1 ^m	85.7 ⁱ	90.8 ^g	98.9 ^{ab}	99.1 ^a	10.56	33.40
<i>L. exaltatus</i>	49.7 ^r	77.3 ^l	88.9 ^h	92.1 ^f	98.4 ^d	99.2 ^a	11.8	32.24
<i>L. hintonii</i>	62.3 ⁿ	82.0 ^k	85.4 ⁱ	95.5 ^d	97.5 ^c	99.2 ^a	9.38	24.71
<i>L. campestris</i>	59.3 ^o	82.6 ^k	84.7 ^j	93.8 ^e	97.4 ^c	98.9 ^{ab}	7.99	23.25
P. de soya	14.3 ^p	22.1 ^s	51.3 ^q	53.0 ^p	84.5 ^d	97.0 ^c	6.95	96.35
Vainas								
<i>L. montanus</i>	23.3 ^w	73.3 ^{no}	77.9 ^k	85.3 ^h	86.4 ^f	88.9 ^e	2.29	26.09
<i>L. exaltatus</i>	25.7 ^v	71.2 ^p	74.9 ^m	82.2 ⁱ	88.4 ^e	92.8 ^b	3.85	32.17
<i>L. hintonii</i>	21.9 ^x	59.0 ^s	62.5 ^r	72.8 ^o	78.6 ^{jk}	85.1 ^g	2.62	43.28
<i>L. campestris</i>	31.7 ^u	71.1 ^{mn}	86.8 ^t	88.4 ^e	90.7 ^{cd}	97.1 ^q	4.55	28.36
<i>Lupinus</i> sp.	34.5 ^t	69.8 ^q	76.7 ^l	79.3 ^j	89.9 ^d	91.2 ^c	3.87	32.98
Hoja más tallo								
<i>L. montanus</i>	31.5 ^v	65.4 ^q	79.3 ^j	83.9 ^h	88.3 ^e	92.9 ^c	5.41	37.2
<i>L. exaltatus</i>	43.7 ^s	66.6 ^p	73.5 ^m	82.6 ⁱ	94.5 ^a	94.3 ^{ab}	6.49	41.5
<i>L. hintonii</i>	42.2 ^t	60.8 ^r	71.3 ⁿ	77.4 ^k	92.9 ^c	88.9 ^e	5.73	46
<i>L. campestris</i>	44.2 ^s	71.9 ⁿ	79.4 ^j	85.0 ^g	93.7 ^b	94.3 ^{ab}	5.44	35.4
<i>Lupinus</i> sp.	37.2 ^u	61.1 ^r	67.9 ^o	75.5 ^l	86.8 ^f	89.7 ^d	4.11	43.4

a,b,c,d,e = Medias con letra distinta en y entre columna son diferentes ($p \leq 0.05$).

Kd = tasa de digestión, F.= Fracción.

En semillas, la tasa de pasaje fue mayor en las especies *L. montanus* (10.56) y *L. exaltatus* (11.80), y con solubilidades de 33.4 y 32.24 %, respectivamente. La

pasta de soya mostró menor tasa de pasaje de la proteína cruda por hora (6.95%) y la mayor solubilidad 96.35%. Todas las especies presentaron cinéticas de degradación similares en las semillas (Figura 37); el mayor porcentaje de degradación se presentó en las primeras horas de incubación, alrededor de 70%, continuando con una degradación más lenta hasta alcanzar casi el 100% a las 48 h; siendo *L. hintonii* la que presentó menor valor de degradación.

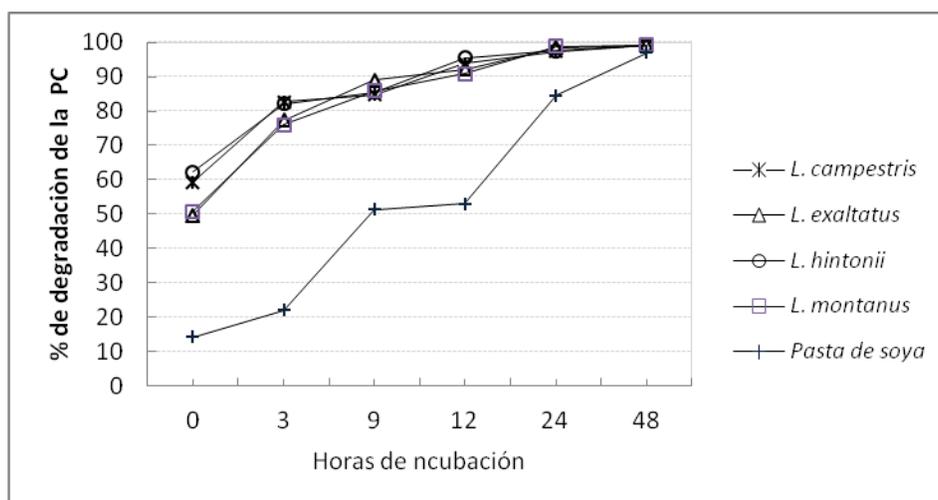


Figura 37. Curva de cinética de la degradación ruminal de la proteína cruda de semillas de cuatro especies de *Lupinus* y pasta de soya (*Glycine max*).

La DIPC se incrementó con el tiempo de incubación (Figura 37). La degradación de las semillas de *Lupinus* desde las primeras horas fue mayor que la de la pasta de soya, lo cual se ha relacionado a la tasa de pasaje, que es menor en la pasta de soya, aunque la fracción soluble de la proteína es mayor. Esta fracción soluble potencialmente estaría disponible para los microorganismos del rumen y puede ser incorporado a sus células como codones de aminoácidos (Baumann *et al.*, 2004). Sin embargo si no es incorporada a las célula microbiana por falta de energía pasaría a la sangre a través de la pared ruminal y transformada en urea en el hígado con pérdida de energía en el catabolismo, ya que por cada molécula

se requiere 4 ATP/Mol de urea formado (Lehninger, 2007). A 48 h todos los tratamientos alcanzaron un comportamiento similar (Cuadro 11).

Los valores de DIPC encontrados en las semillas de las especies evaluadas son similares a lo reportado en canavalia (*C. ensiformis* y *C. gladiata*) ambos con 98.8% de degradación (González, 2004), y mayores al 51.2% de semillas de chícharo (*Pisum sativum*) (Bressani *et al.*, 1977), 40% de leucaena (*L. leucocephala*) (Vázquez, 2008), y 70% de semillas de *L. exaltatus* incubados por 72 h en borregos (Ruiz-López *et al.*, 2006).

Los resultados de este trabajo indican que las harinas de los lupinos y pasta de soya son de fácil degradación en el rumen, tanto para la MS como para la PC, como fue indicado por Solanas *et al.* (2005). Esto hace que las especies de lupino en estudio puedan ser consideradas como una fuente de proteína degradable para los microorganismos del rumen, y por lo tanto para la síntesis de proteína microbiana (Stanford *et al.*, 1996).

En vainas, se observó interacción entre las especies estudiadas y el tiempo de incubación ($p < 0.001$) para DIPC (Anexo 2). La mayor degradación a las 48 h de incubación (Cuadro 10), correspondió a *L. campestris* a las 48 h (97.15 %), tuvo también la mayor tasa de pasaje (4.55%).

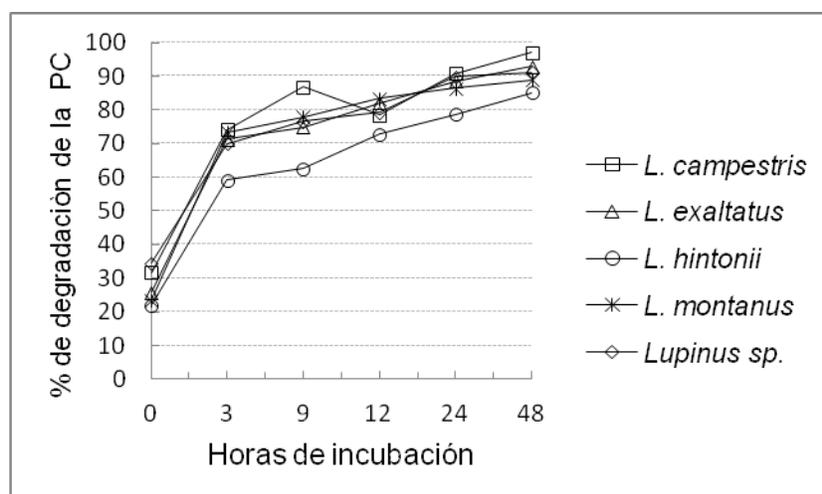


Figura 38. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la proteína cruda de vainas de *Lupinus*.

Las cinco especies tuvieron un comportamiento similar para la DIPC en vainas, hasta su máxima degradación (Figura 38). Los valores de DIPC de las vainas de *Lupinus* son superiores a lo observado en vainas de *L. exaltatus* (26%) por Ruiz-López *et al.* (2006).

En las hojas más tallos, la DIPC presentó interacción ($p < 0.001$) entre las especies y los tiempos de incubación (Anexo 3). *L. exaltatus* a las 24 y 48 h, presentó la mayor DIPC (94.55 y 94.30 %), *L. campestris* un similar valor, pero a las 48 h *L. exaltatus* presentó la mayor degradación (94.34 %) (Figura 39) y también la mayor tasa de pasaje (6.5%), con una solubilidad de 41.5 % (Cuadro 10).

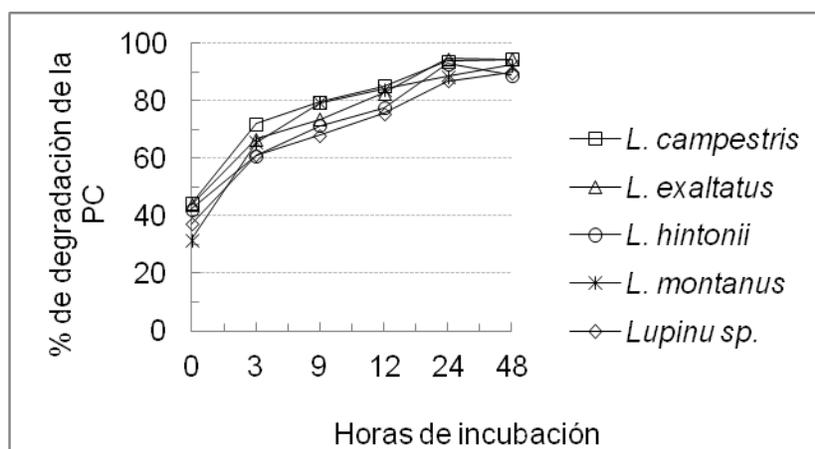


Figura 39. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la proteína cruda de hojas más tallos de *Lupinus*.

Los valores encontrados de la DIPC de las hojas más tallos son mayores a lo observado por Ruiz-López *et al.* (2006) en el follaje (67.3%) y en planta completa (32.4%) de *L. exaltatus*. Pero son similares a los observados en forrajeras arbustivas por Contreras (2004), en un estudio que realizó a los 90 días de corte, en condiciones similares a este trabajo: 89 % en morera a las 48 h, 93.5 % a las 72 h, 94.6 % en tulipán a las 48 h, y 95.9 % a las 72 h.

4.4.3. Degradación *in situ* de la materia orgánica (DIMO)

Esta componente del valor nutritivo presentó, en semilla, interacción ($p < 0.001$) entre las especies estudiadas y los tiempos de incubación (Anexo 1). En el Cuadro 11 se observa que *L. montanus* a las 24 y 48 h, presentó la mayor DIPC (96.50 y 96.52 %), *L. hintonii* y la pasta de soya presentó similares valores, pero a las 48 h (96.78 y 97.0 %, respectivamente). Las altas DIMO que presentaron las semillas de las especies pueden estar relacionadas a su tasa de pasaje y solubilidad. Cabe destacar que la pasta de soya presentó estadísticamente igual tasa de pasaje de la materia orgánica (7.1%), que *L. montanus* y *L. hintonii*, pero la más alta solubilidad (96.2%).

Con relación al comportamiento de la DIMO en las semillas de las especies evaluadas (Figura 40), éstas presentaron una alta degradación desde las primeras horas, muy superior a la de la pasta de soya. A partir de las 24 h las especies de *Lupinus* tuvieron su mayor degradación (>90%). Estos valores son superiores a lo observado en semillas de *L. exaltatus* (55%) de DIMO (Ruiz-López *et al.*, 2006).

La DIMO de las vainas mostró interacción ($p < 0.001$) entre las especies de *Lupinus* y los tiempos de incubación (Anexo 2). La mayor DIMO se encontró en *L. campestris* (8.2%), que puede estar relacionado a su tasa de pasaje y fracción soluble que fue mayor (3.01 y 77.59 %, respectivamente).

L. campestris incrementó la velocidad de degradación a partir de las 12 h de incubación (Figura 41), respecto a las otras especies de lupino, lo cual puede atribuirse al más alto porcentaje de fracción soluble.

Pocos estudios se han realizado en vainas de leguminosas por lo que resulta difícil hacer comparaciones con otras especies. Sin embargo, los valores encontrados son superiores a lo determinado en vainas de *L. exaltatus* (25%) (Ruiz-López *et al.*, 2006).

Cuadro 11. Degradación ruminal de la materia orgánica (DIMO) de especies de *Lupinus* y pasta de soya.

Especie	Horas de incubación (%)						%	
	0	3	9	12	24	48	Kd	F. soluble
Semillas								
<i>L. montanus</i>	50.7 ^o	56.5 ^l	65.2 ^h	75.7 ^e	96.5 ^a	96.5 ^a	7.45	57.54
<i>L. exaltatus</i>	49.7 ^p	55.6 ^m	66.1 ^{gh}	74.9 ^t	94.6 ^b	94.7 ^b	7.08	57.03
<i>L. hintonii</i>	62.3 ^j	63.3 ⁱ	73.0 ^f	84.2 ^c	94.5 ^b	96.7 ^a	7.3	43.4
<i>L. campestris</i>	59.3 ^k	66.5 ^g	74.9 ^g	80.9 ^d	94.1 ^b	94.5 ^b	5.85	43.19
P. de soya	12.8 ^r	22.1 ^q	53.5 ⁿ	53.0 ⁿ	84.5 ^c	97.0 ^a	7.05	96.22
Vainas								
<i>L. montanus</i>	23.4 ^{qr}	25.1 ^{op}	34.0 ^{lm}	41.8 ^j	47.6 ^h	61.6 ^e	1.48	75.04
<i>L. exaltatus</i>	25.7 ^o	26.2 ^o	33.1 ^{lmn}	45.2 ⁱ	60.6 ^e	73.2 ^b	2.54	79.13
<i>L. hintonii</i>	21.9 ^r	24.0 ^{pq}	32.7 ^{mn}	38.8 ^k	50.6 ^g	50.0 ^f	1.32	75.13
<i>L. campestris</i>	31.7 ⁿ	31.7 ⁿ	39.1 ^k	41.1 ^j	67.7 ^c	80.1 ^a	3.01	77.59
<i>Lupinus</i> sp.	34.5 ^l	33.7 ^{lm}	44.3 ⁱ	47.4 ^h	63.5 ^d	67.9 ^c	1.82	65.99

a,b,c,d,e = Medias con letra distinta en y entre una columna son diferentes ($p \leq 0.05$).
Kd = tasa de degradación, F. = Fracción.

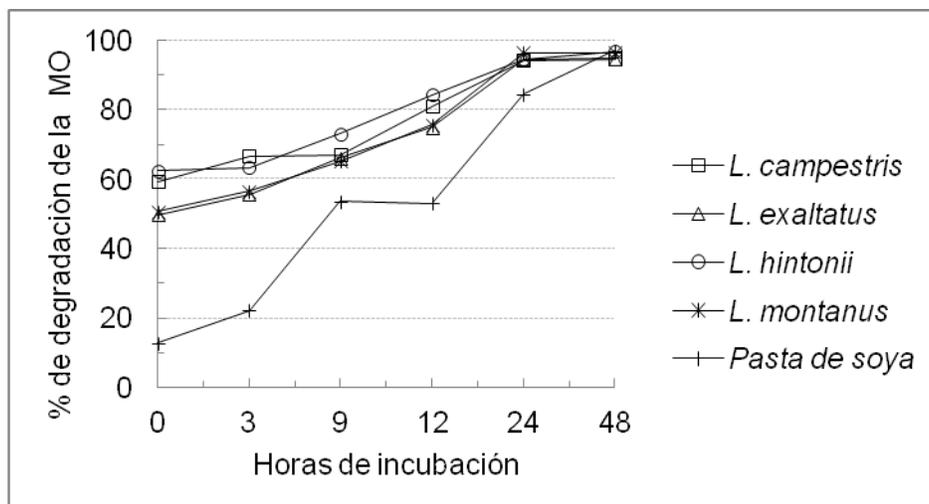


Figura 40. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la materia orgánica de semillas de cuatro especies *Lupinus* y de pasta de soya.

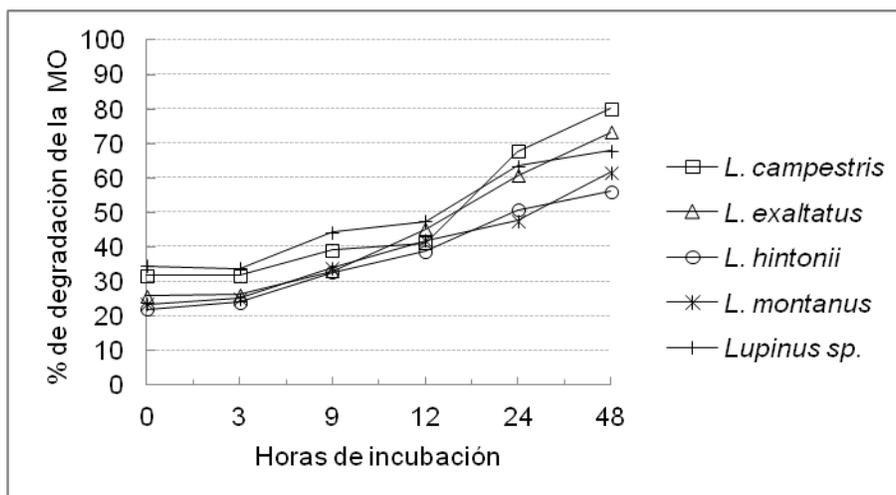


Figura 41. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la materia orgánica de vainas de cinco especies de *Lupinus*.

En relación a la DIMO de las hojas más tallo entre especies y la interacción especie x tiempo de incubación fue no significativa ($p \leq 0.05$) (Anexo 3), pero si entre tiempos de incubación. Con relación al tiempo de incubación, la DIMO fue mayor a las 24 y 48 h (70.2 y 74.8%, respectivamente), que puede ser debido a

las altas tasa de pasaje (1.83-3.29%) y de solubilidad (56.7-65.6%). *L. exaltatus* presentó las mayores tasas de pasaje y de solubilidad (3.3 y 60.5%, respectivamente) (Cuadro 12).

Cuadro 12. Degradación ruminal de la materia orgánica (DIMO) de hoja más tallo de especies de *Lupinus*.

Especie	DIMO (%)	Kd (%)	Fracción soluble
<i>L. montanus</i>	53.7 ^a	1.95	58.25
<i>L. exaltatus</i>	59.2 ^a	3.29	60.45
<i>L. hintonii</i>	53.1 ^a	1.83	60.91
<i>L. campestris</i>	60.3 ^a	2.79	56.79
<i>Lupinus</i> sp.	49.8 ^a	1.86	65.65
E.E.	0.243		
Tiempo de incubación			
0	39.8 ^d		
3	42.3 ^d		
9	46.2 ^{ad}		
12	58.0 ^{bc}		
24	70.2 ^{ab}		
48	74.8 ^a		
E.E.	0.243		

^{a,b,c,d,e} = Medias con letra distinta en una columna son diferentes ($p \leq 0.05$).

E.E. = Error estándar. Kd = tasa de degradación

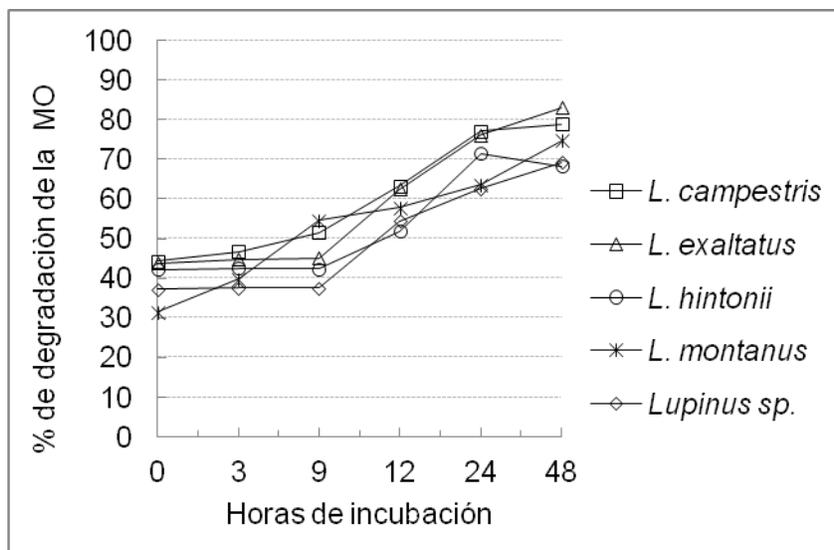


Figura 42. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la materia orgánica de hojas más tallos de cinco especies de *Lupinus*.

Las especies *L. campestris* y *L. hintonii* desde las primeras horas de incubación presentaron la más alta DIMO en hojas más tallo (>40%), manteniendo este comportamiento a las 48 h de incubación (Figura 41). Estos valores son superiores al 60% de DIMO encontrado en hojas de *L. exaltatus* (Ruiz-López *et al.*, 2006).

4.4.4. Degradación *in situ* de la fibra detergente neutro (DIFDN)

Las vainas, presentaron interacción en la DIFDN ($p < 0.001$) entre las especies de *Lupinus* y los tiempos de incubación (Anexo 2). Los valores más altos de degradación de la FDN se encontraron a las 48 h en vainas de la especie de *Lupinus sp.*, (70.9%), lo que puede deberse a su alta tasa de pasaje (2.6%) y el 100 % de solubilidad (Cuadro 13).

Las especies evaluadas presentaron una baja degradación de la fibra en sus vainas hasta las 12 h, excepto *L. exaltatus* que tuvo la más alta degradación hasta las 12 h (Figura 43). Al final fue la especie *L. campestris* quien presentó la más alta degradación de la fibra detergente neutro.

Por las características de las paredes celulares de estos componentes se puede inferir que su baja degradación se debió principalmente al contenido de lignina cuyo rango varió de 12.5 a 13.9%; o tal vez a la falta de tiempo para realizar las acciones digestivas completas en sustancias que son de lenta digestión, o bien por falta de absorción completa; tal efecto aumenta por el rápido tránsito de alimento a través del tracto digestivo (Maynard, 1989). Valores altos de degradabilidad ruminal se han asociado con el potencial de los rumiantes para mantener niveles adecuados de producción, ya que son indicativos de la capacidad del alimento para aportar nutrientes a la flora ruminal (Cecconello *et al.*, 2003).

La curva de la cinética de degradación (Figura 43) indica que las especies necesitan mayor tiempo de retención en el rumen para que se haga un buen aprovechamiento de la energía de los carbohidratos estructurales presentes en las paredes celulares.

En relación a la DIFDN de las hojas más tallos se encontró interacción ($p < 0.001$) entre las especies de *Lupinus* y los tiempos de incubación (Anexo 3). Las más altas DIFDN se presentaron a las 48 h en *L. exaltatus* (67.8 %), misma que tuvo una alta tasa de pasaje (3.1%) y de solubilidad (96%) (Cuadro 13).

Cuadro 12. Degradación ruminal de la fibra detergente neutro (DIFDN) de cinco especies de *Lupinus*.

Especie	Horas de incubación (%)					%	
	3	9	12	24	48	Kd	F. soluble
Vainas							
<i>L. montanus</i>	10.1 ⁿ	12.1 ^{mn}	17.5 ^{jk}	30.5 ⁱ	45.7 ^e	1.18	94.7
<i>L. exaltatus</i>	12.4 ^{mn}	27.5 ⁱ	34.6 ^h	42.1 ^f	62.1 ^b	1.73	85.5
<i>L. hintonii</i>	10.3 ⁿ	14.1 ^{lm}	19.9 ^j	37.4 ^{gh}	39.4 ^{fg}	1.01	90.7
<i>L. campestris</i>	10.3 ⁿ	15.8 ^{kl}	16.0 ^{kl}	49.2 ^d	70.9 ^a	2.56	100
<i>Lupinus sp.</i>	12.2 ^{mn}	17.8 ^j	20.0 ^j	42.2 ^f	55.8 ^c	1.66	93.7
Hoja más tallo							
<i>L. montanus</i>	5.8 ^p	22.1 ^k	28.9 ⁱ	36.1 ^g	50.7 ^d	1.43	91.4
<i>L. exaltatus</i>	1.7 ^q	32.7 ^h	43.7 ^e	55.5 ^b	66.8 ^a	3.06	95.9
<i>L. hintonii</i>	5.3 ^p	8.6 ^o	34.5 ^m	29.1 ^j	40.2 ^c	1.05	98.3
<i>L. campestris</i>	11.7 ⁿ	12.2 ^{nm}	14.0 ^{gh}	52.9 ^c	55.3 ^b	1.94	92.3
<i>Lupinus sp.</i>	5.1 ^p	5.5 ^p	16.3 ^l	29.9 ⁱ	40.5 ^f	1.15	98.7

a,b,c,d,e = Medias con letra distinta en y entre columna son diferentes ($p \leq 0.05$).

Kd = tasa de degradación, F. = fracción

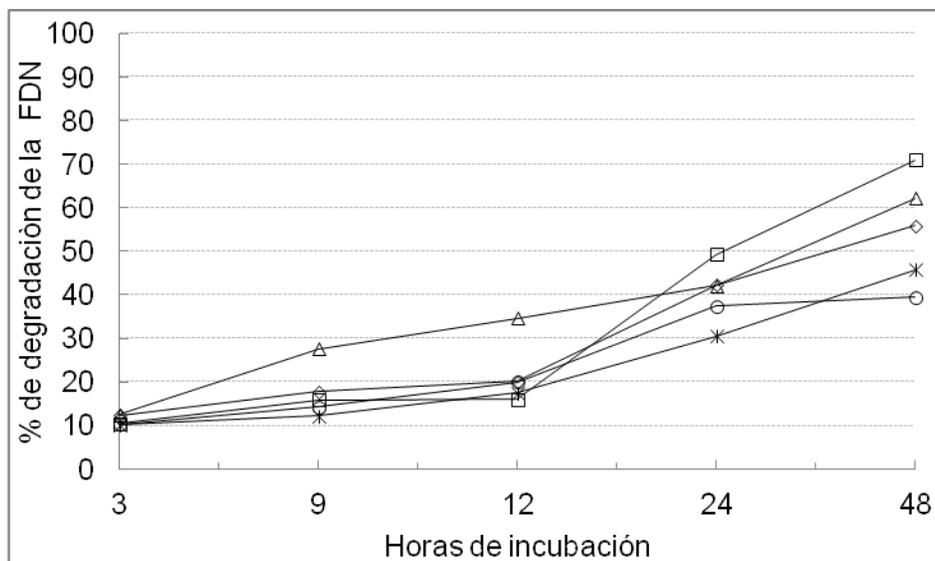


Figura 43. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la fibra detergente neutro de vaina de *Lupinus*.

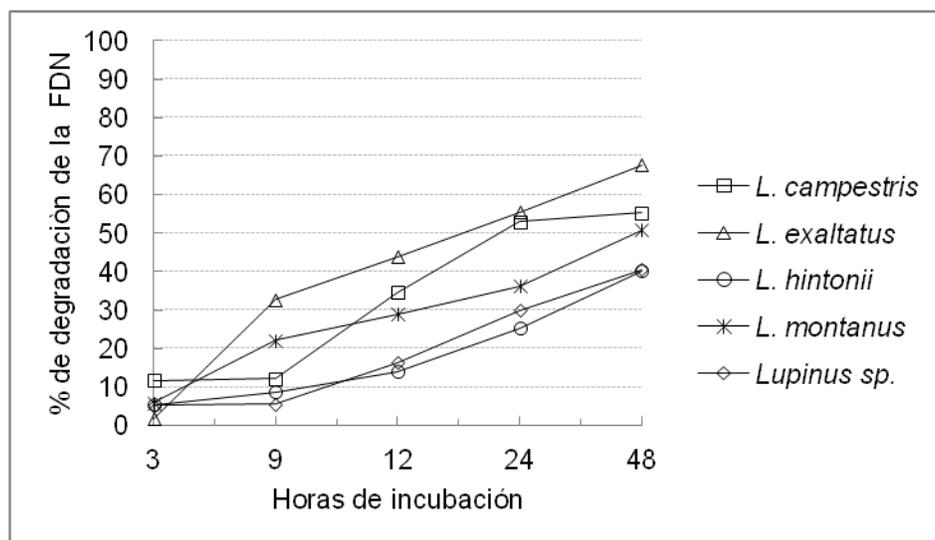


Figura 44. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la fibra detergente neutro de hojas más tallos de *Lupinus*.

Las especies presentaron baja degradabilidad de hojas más tallo en las primeras horas (Figura 44), destacándose *L. exaltatus* que alcanzó mayor degradación en el

tiempo, especie que presentó el menor contenido en lignina (12.9%) en hojas más tallo, con respecto a las demás. La curva de degradación observada indica que las hojas más tallos de todas las especies de *Lupinus* requieren más tiempo de retención en el rumen para que se realice un buen aprovechamiento de la energía proporcionada por los carbohidratos estructurales presente en las hojas y tallos. Para los forrajes tropicales la fase de colonización de la fibra (fase Lag) es de gran importancia, ya que representa el tiempo que se necesita para que los microorganismos ruminales se adhieran a la fibra y comiencen su degradación, mientras más corto sea este tiempo para determinado alimento, mayor es su potencialidad de degradación. De los lupinos estudiados, a las tres horas se encontraban en proceso de colonización, sobresaliendo *L. campestris* y *L. exaltatus* que iniciaron la degradación inmediata. Los resultados de DIFDN de las hojas más tallos (con excepción de los de *L. hintonii* y *Lupinus* sp.), son similares a la capacidad de degradación que presenta el follaje de leguminosas tropicales como glicina (*Neonotonia wightii*) 51.3%, centrocema (*Centrosema pubescens*) 55.1%, dolico (*Lablab purpureus*) 54.9%, mucuna (*Stizolobium aterrimum*) 51.2%, siratro (*Macroptilium atropurpureum*) 59.6%, arachis (*Arachis pintoii*) 75.2% (Delgado *et al.*, 2007).

La capacidad de las especies para aportar nutrientes es lo que se debe considerar cuando se quiera incluir las hojas y tallos de las especies en los sistemas de alimentación. A excepción de *Lupinus* sp., las demás especies presentaron más del 50% de degradación en el rumen, lo que favorece su utilización por los animales. Es importante mencionar que de las cinco especies estudiadas *L. exaltatus* parece ser la especie más promisoría para ser utilizado su follaje en la alimentación: presenta un alto contenido de proteína y alta degradabilidad de la FDN de las hojas más tallo (66%). Otros factores deberán de considerarse, entre ellos el alto contenido de alcaloides, aunque estudios previos han demostrado que es posible utilizar lupinos silvestres en ensilados para rumiantes, lo que disminuye el contenido de alcaloides por dilución después de 20 días de fermentación de

plantas enteras (de 2.2% a 0.15% de DM en proporción de 100/0, 75/25 y 50/50 de forraje de *L. exaltatus*/paja de maíz) (Herrera-Velázco *et al.*, 2008).

4.4.5. Degradación *in situ* de la fibra detergente ácido (DIFDA)

La DIFDA de las vainas mostró interacción ($P < 0.001$) entre las especies de *Lupinus* y los tiempos de incubación (Anexo 2). La más alta DIFDA se encontró a las 48 h en *L. campestris* (69.38%), lo que puede estar relacionado a su tasa de pasaje (2.6%) y el 100 % de solubilidad (Cuadro 14).

Existió una lenta degradación de las vainas de las diferentes especies de lupino hasta las 12 h (Figura 45); a las 48 hrs alcanzaron entre 40 y 70% de DIFDA sobresaliendo *L. campestris* y *L. exaltatus*.

Con respecto a la degradación DIFDA de las hojas más tallos de *Lupinus*, igualmente se observó interacción ($p < 0.001$) entre las especies estudiadas y el tiempo de incubación (Anexo 2). La mayor DIFDA se encontró en *L. exaltatus* a las 48 h (59.54 %), (Cuadro 14). La mayor degradación puede estar relacionada a su tasa de pasaje (2.15%) con una solubilidad de 97%. A partir de las 9 h, las especies aumentaron del 15 a 65 % de degradación (Figura 46), siendo la especie *L. exaltatus* la que presentó la mayor capacidad para degradar sus paredes celulares.

4.5. CONCLUSIÓN

La degradabilidad ruminal de la PC de semillas de *Lupinus* fue alta para todas las especies en estudio, por lo que pueden ser consideradas como una fuente de proteína rápidamente degradable para el crecimiento de los microbios del rumen. *Lupinus montanus* presentó los mayores valores de degradación de la MS, PC y MO en las semillas, lo que la hace promisoría para ser utilizada como fuente de proteína en la elaboración de alimentos balanceados. Las especies de *L. exaltatus* y *L. campestris* presentan potencial para ser utilizadas en la alimentación animal

como forraje por su alta degradación de la MS, PC, MO, FDN y FDA en vainas y hoja más tallos.

Cuadro 14. Degradación ruminal de la fibra detergente ácido (DIFDA) de especies de *Lupinus*.

Especie	Horas de incubación (%)					%	
	3	9	12	24	48	Kd	F. soluble
Vainas							
<i>L. montanus</i>	2.9 ^p	5.5 ^{nop}	14.5 ^{ijk}	19.5 ^h	40.3 ^d	1.06	100
<i>L. exaltatus</i>	6.0 ^{nop}	12.1 ^{kl}	16.6 ^{hij}	38.7 ^{de}	60.8 ^b	2.01	100
<i>L. hintonii</i>	8.3 ^{mn}	10.6 ^{lm}	17.6 ^{hi}	33.6 ^{fg}	36.6 ^f	0.94	93.1
<i>L. campestris</i>	3.0 ^p	11.5 ^{klm}	14.0 ^{jkl}	45.9 ^c	69.3 ^a	2.63	100
<i>Lupinus sp</i>	4.6 ^{op}	7.13 ^{no}	11.4 ^{klm}	30.5 ^g	44.0 ^c	1.28	100
Hoja + tallo							
<i>L. montanus</i>	2.5 ⁿ	14.7 ⁱ	16.2 ^h	32.9 ^e	48.0 ^c	1.44	98.8
<i>L. exaltatus</i>	7.5 ^k	14.4 ⁱ	31.5 ^{ef}	48.7 ^c	59.5 ^a	2.15	96.6
<i>L. hintonii</i>	5.4 ^l	12.3 ^j	29.6 ^f	40.7 ^d	30.1 ^f	0.87	93.6
<i>L. campestris</i>	4.8 ^{lm}	13.3 ^{ih}	23.7 ^g	38.8 ^d	52.2 ^b	1.67	98.1
<i>Lupinus sp</i>	3.3 ^{mn}	12.2 ^{ij}	13.7 ^{ij}	13.8 ^{ij}	30.7 ^f	0.64	95.9

a,b,c,d,e = Medias con letra distinta en y entre una columna son diferentes ($p \leq 0.05$).

Kd = tasa de degradación, F.= Fracción.

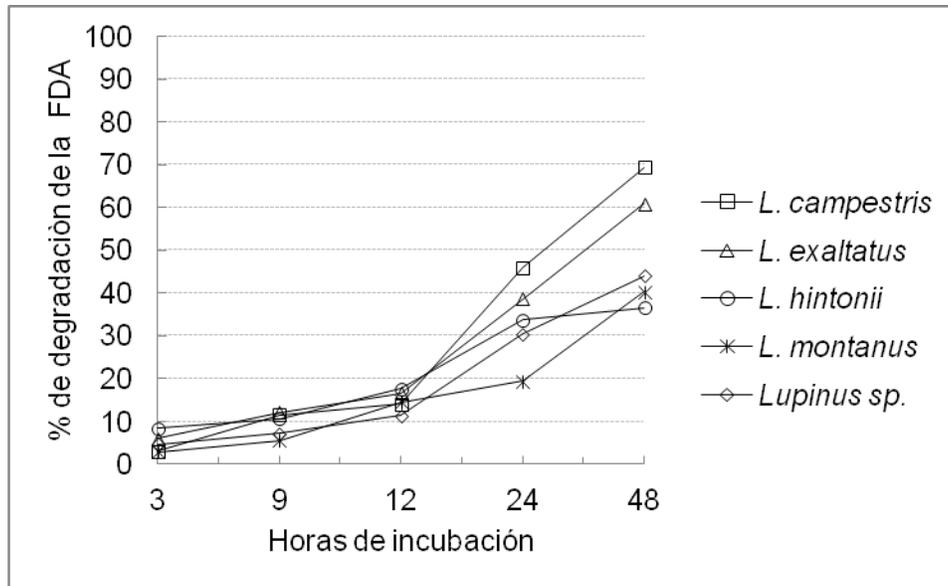


Figura 45. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la fibra detergente ácido de vainas de *Lupinus*.

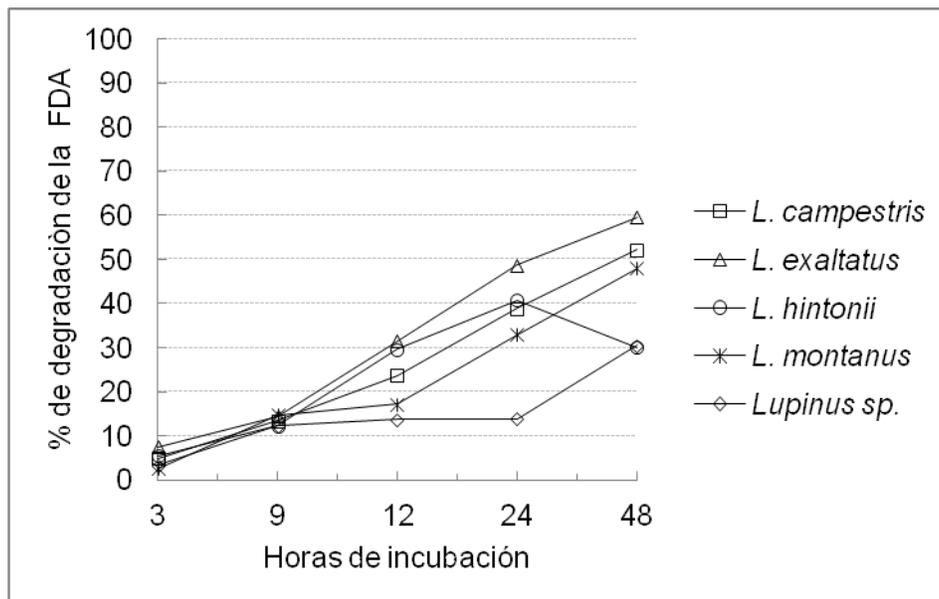


Figura 46. Curva de la cinética de la degradación ruminal de la fibra detergente ácido de hojas mas tallos de *Lupinus*.

4.6. LITERATURA CITADA

Adawy, T.A.E. 2001. Nutritional potential and functional properties of sweet and bitter lupin seed protein isolates. *Food Chemistry* 74(4): 455-462.

Agricultural Research Council (ARC). 1980. *The nutrient Requirements of Ruminant Livestock*. CAB. Farnham Royal. UK.116-122.

AOAC. 2000. *Official Methods of Analysis*.16th Ed. Off. Agric. Chem., Washington, D.C. USA. 1018 p.

Aufrère, J., D. Graviou, J. Melcion, and C. Demarquilly. 2001. Degradation in the rumen of lupin (*Lupinus albus* L.) and pea (*Pisum sativum* L.) seed proteins: Effects of heat treatment. *Animal Feed Science and Technology*. 92: 215-236.

Baumann, T.A., G.P. Lardy, J.S. Caton y V.L. Anderson. 2004. Effect of energy source and ruminally degradable protein addition on performance of lactating beef cows and digestion characteristics of steers. *Journal Animal Science*. 82: 2667-2678.

Boschin, G., A. D'Agostina, P. Annicchiarico and A. Amoldi. 2008. Effect of genotype and environment on fatty acid composition of *Lupinus albus* L. seeds. *Food Chemistry* 108: 600-606.

Bressani, R., G. Elías L. y R. Molina M. 1977. Estudio sobre la digestibilidad de la proteína de varias especies de leguminosas. *Archivo Latinoamericano de Nutrición* 27: 215-231.

Calsamiglia, S.S. and I. Endres M. 1994. Dinámica del metabolismo de los hidratos de carbonos y del nitrógeno en rumen. *In: X Curso de Especialización FEDNA. Avances en Nutrición y Alimentación Animal*. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Eds. P.G Rebollar, C. De Blas y G.G. Mateos. Madrid, España. 1: 120-387.

Cardona, M. C. y S. Suárez. 1996. Utilización de Leucaena en bancos de proteína y en asocio con gramíneas. *In: Alternativa para Mejorar la Sostenibilidad y Competitividad de la Ganadería Colombiana. Compilación de las Memorias de los Seminarios Internacionales sobre Sistema Silvopastoriles*. CORPOICA. Colombia. pp:104-105.

Casper, D.P., H.A. Maiga, M.J. Brouk, y D.J. Schingoethe. 1999. Synchronization of carbohydrate and protein sources on fermentation and passage rates in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 82: 1779-1790.

- Cecconello, G.C., S. Benezra M., y N. Ovispo E. 2003. Composición química y degradabilidad ruminal de los frutos de algunas especies forrajeras leñosas de un bosque seco tropical. *Zootecnia Tropica*, 2, (21):149.
- Contreras, M.C. 2004. Valor nutricional y digestibilidad ruminal de Morera y Tulipán cosechados a tres frecuencias de corte. Tesis Profesional. Instituto Tecnológico Agropecuario No 28. Villa Ocuilzapotlán, Centro, Tabasco. pp: 30–40.
- Del Pozo, P.P., S. Herrera R. y M. García. 2002. Dinámica de los contenidos de carbohidratos y proteína bruta en el pasto estrella (*Cynodon nlemfuensis*) con la aplicación de nitrógeno y sin ella. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 36 (3):275-280.
- Delgado, D. C., La O, O., B. Chongo. 2007. Composición bromatológica y degradabilidad ruminal *in situ* de leguminosas tropicales herbáceas con perspectiva de uso en los sistemas productivos ganaderos. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 41(4): 343-346.
- Drakos, A., G. Doxastakis and V. Kiosseoglou. 2007. Functional effects of lupin proteins in comminuted meat and emulsion gels. *Food Chemistry* 100(2): 650-655.
- Espinoza, E. 1996. Efecto del sitio y de la fertilización nitrogenada sobre la producción y calidad de la biomasa de tres variedades de Morera (*Morus alba*). Tesis Magíster of Science. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 86 p.
- Glencross, B.D., C.G. Carter, N. Duijster, D.R. Evans, K. Dods, P. McCafferty, W.E. Hawkins, R. Maas and S. Sipsas. 2004. A comparison of the digestibility of a range of lupin and soybean protein products when fed to either atlantic salmon (*Salmo salar*) or rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture Volume 237, Issues (1–4): 333–346.*
- González, R. 2004. Degradación ruminal de granos de gandul (*Cajanus cajan*) y mucuna (*Stizolobium niveum*). Nota técnica *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 40(3): 321-323.
- González, R. 2004. Degradación ruminal de harinas de granos de dos variedades de canavalia (*Canavalia ensiformis* y *Canavalia gladiata*). *Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 38(1): 53-56.
- Halling, M.A., A. Hopkins., O. Nissinen and U. Sölter. 2000. Production and adaptation of five forages legumes for silages in Northern Europe. Proc. of the 18th General Meeting of the European Grassland Federation. Aalborg, Denmark. pp: 5-68.

Hernández, S.D., A.H. Cruz., A.M. Cobos P., J. Pérez P., S. González M., A. Gómez V. y E. Ortega C. M. 2005. Calidad nutritiva, contenido de taninos y degradación ruminal de morera (*Morus alba*) y tulipán (*Hibiscus rosa-sinensis*) a cuatro referencias de corte. *In: Memorias de la XVII Reunión Científico-Tecnológica, Forestal y Agropecuaria*. Villahermosa, Tabasco. 22-24 Abril, pp: 184-199.

Herrera-Velázquez, J.M., M.L. Isaac-Virgen, R. Rodríguez-Macías, F. Zamora-Natera, M.A. Ruiz-López and P.M. García-López. 2008. Chemical composition and alkaloids content of silages of *Lupinus exaltatus* and *Lupinus albus* cultivated in Jalisco, México. *In: J.A. Palta and J.B. Berger (eds.) 'Lupins for Health and Wealth' Proc. of the 12th International Lupin Conference, 14-18 Sept. 2008, Fremantle, Western Australia*. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand.

Hoover, W.H. 1986. Chemical factors involved in ruminal fiber digestion. *Journal Dairy Science* 69: 2755.

Hulbert, L., S. Peterson, J. Wallis and B. Richmond. 2000. Stella research software. Hanover (USA): High Performance Systems Inc.

Huntigton, J.A. y I. Given D. 1995. The *in situ* technique for studying the rumen degradation of feeds; A review. *Proceedings of Nutritional Abstract Review* 65(2): 63-78.

Khattab, R.Y. and C. Nyachoti. 2009. Nutritional quality of legume seeds as affected by some physical treatments, Part 1: Protein quality evaluation. *LWT-Food Science and Technology* 42: 1107-1112.

Klopfenstein, T.J., R. Stock y J. Ward. 1991. Alimentación de bovinos para carne en crecimiento-finalización. M.S. González, R. Herrera S. y R. Barcena G. (eds). *In: Memoria del Curso Intensivo Internacional: Manejo Nutricional de Bovinos en Corrales de Engorda*. Centro de Ganadería, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. pp. 1-47.

Lascano, E.C. 1995. Valor nutritivo y producción animal de *Arachis pintoi*. En: *Agronomía de especies forrajeras de Arachis*. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. Publicación CIAT. (245): 117-130.

Lehninger, A.L. 2007. *Bioquímica*. 5ta ed.. Ediciones Omega, S. A. Barcelona. 1296 p.

Macey, R., G. Oster and T. Zanhley. 2000. Berkeley user's guide (version 8.01). California. University of California. USA.

Mata, E.M.A. 2004. Harina de cocoíte (*Gliricidia sepium*), morera (*Morus alba*) y tulipán (*Hibiscus rosa-sinensis*) como suplemento para corderos en pastoreo.

Tesis de Maestría en Ciencia. Programa de Ganadería. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. 89 p.

Maynard, L. A., J. K. Loosli., H. Hintz. 1989. Procesos Digestivos en Diferentes Especies Animales. Nutricion Animal. MC Grawn-Hill. 4ta edición. México. 640 p.

Meléndez, N.F. 2012. Principales forrajes para el trópico. Secretaría de Desarrollo Forestal y Pesca. H. Cárdenas, Tabasco, México. 516 p.

Michalet-Doreau, B. M., y Ould-Bah. 1992. *In vitro* and in sacco methods for the estimation of dietary nitrogen degradability in the rumen: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 40: 57-86.

Moss, A.R., R. Deaville E., J. Givens D. 2001. The nutritive value for ruminants of lupin seed from determinate and dwant determinate plants. *Animal Feed Science and Tecnology* 94:187-188.

Mupangwa, J.F., T. Acamovic, H. Topps J., T. Ngongoni N., H. Hamudikuwanda. 2000. Content of soluble and bound condensed tannins of three tropical herbaceous forage legumes. *Animal Feed Science and Technology* 83: 139-144.

Orskov, E. 1982. Dynamics of nitrogen in the rumen. *Protin Nutrition in Rimiantes*. Chapter 3. 1rs Ed. Academics Press, pp. 40-84.

Orskov, E.R., D. Howell F. and F.L. Mould. 1980. The use of nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Tropical Animal Production* 5: 213-233.

Ørskov., and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted. According to rate of passage. *Journal Agricol Science*, Volumen 92: 499–503.

Pahlow, G., C. Rammer, M. Tuori and R. Wilkins. 2000. LEGSIL: Ensiling of established and novel legumes in Germany, Sweden and Finland. Proc. of the 18th General Meeting of the European Grassland Federation. Aalborg, Denmark. pp: 5-56.

Pedraza, R. 2001. Estimación del valor nutritivo de los alimentos para rumiantes con énfasis en las técnicas *in sacco* y de producción de gas *in vitro*. Artículo Reseña. *Revista Producción Animal* 13(1):45-51.

Pereira, C.G.S. 2005. Capins do género *Cynodon*: Historic e potencial para a pecuária Brasileira. *In: Cynodon*. Forrageiras que estão revoluzionando a pecuaria brasileira. D. Vileta, J.C. Resende, J. Lima y Juiz de Fora: Embrapa- Gado de Leite. (250): 33-58.

Pérez, P.J., B. Alarcón Z., D. G. Mendoza M., R. Bárcena G., A. Hernández G., y G. J. Herrera H. 2001. Efecto de un banco de proteína de Kutzú en la ganancia

de peso de toretes en pastoreo de estrella africana. *Técnica Pecuaria de México*. 39(1): 39-52.

Priolo, A., G.C. Waghorn., M. Lanza, L. Biondi and P. Pennisi. 2000. Polyethylene glycol as a means for reducing the impact of condensed tannins in carob pulp: effects on lamb growth performance and meat quality. *Journal of Animal Science* 78: 810–816.

Rémond, D., M. Le Guen, and C. Poncet. 2003. Degradation in the rumen and nutritional value of lupin (*Lupinus albus* L.) seed proteins effect of extrusion. *Animal Feed Science and Technology*. 105: 55-70.

Rodríguez-Trujillo, J.A. 2003. Proporción de materia seca degradable y velocidad de degradación en rumen del zacate Estrella de África (*Cynodon dactylon*). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agrícolas. Campus IV. Universidad Autónoma de Chiapas. Huehuetán, Chiapas, México. 112 p.

Romero, R.F., y J. González. 2001. Efecto de alimentación durante la época secaco *Cratylia argentea* fresca y ensilada sobre la producción de leche y sus componentes. *In: F. Holmann y C. Lascano. 2001. Sistema de Alimentación con Leguminosas para Intensificar Fincas Lecheras. Un Proyecto Ejecutado por el Consorcio Tropileche, Cali, Colombia, CIAT, International. Livestock Research*. 18:15-18.

Ruíz-López, M.A., R. Rodríguez M. y S. Navarro P. 2006. Evaluación químico-nutricional *Lupinus exaltatus* Zucc, del nevado de Colima, México, como fuente potencial de forraje. *Interciencia* 31(10): 758-761.

SAS Institution Inc. 2010. User`s Guide: Statistics, version 9.3. SAS Inst. Inc., Cary, N.C.

Solanas, E., C. Castrillo, J. Balcells and J.A. Guada. 2005. *In situ* ruminal degradability and intestinal digestion of raw and extruded legume seeds and soya bean meal protein. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 89: 166–171.

Stanford K, McAllister TA, Lees BM, Xu ZJ, Gheng KJ. 1996. Comparison of sweet lupin seed, canola meal and soybean meal as protein supplements for lambs. *CAN. JOURNAL ANIMAL SCIENCE*. 76: 215–219.

Steel, R. G. y Torrie J. H. 2000. Bioestadística. Principios y Procedimientos. 2ª, ed, McGraw Hill. México. 622 p.

Stern, M.S., S. Calsamiglia y I. Entres M. 1994. Dinámica del metabolismo de los hidratos de carbonos y del nitrógeno en rumen. *In: P.G. Rebollar, C. De Blas y G.G. Mateos (Eds.). X Curso de Especialización FEDNA. Avances en Nutrición y*

Alimentación Animal. Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. Madrid, España.

Valle, C.B. 2001. Genetic resources for tropical areas: achievements and perspectives. *In*: Internacional Grasland Congres. 19 Proc. FEALQ. San Pedro. CD-ROM. Theme-12 Forage Breeding and Genetics. Plenary paper.

van Soest, P. J., L. P. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 74:3583–3597.

van Soest, P.J. 1973. Collaborative study of acid-detergent fiber and lignin. *Association. Oficial Analytical Chemists.* 56:781.

Vázquez, G.J. 2008. Ganadería Tropical Mexicana. Facultad de Ciencias Agronómicas, UNACH. Fundación Produce Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 425 p.

CAPITULO V

MORFOMETRÍA Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE CUATRO ESPECIES DE *Lupinus*

5.1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la industria semillera realiza grandes inversiones en infraestructura, investigación básica y desarrollo tecnológico para lograr semillas de calidad con alto potencial productivo en un mercado cambiante y dinámico a nivel internacional, ya que el desarrollo exitoso de la semilla depende de múltiples influencias en todos y cada uno de los estados de su formación. Además, su estructura está estrictamente unida a su función; por tanto, el estudio de sus características permite comprender sus posibilidades futuras de éxito en las diferentes industrias (Peretti, 1994).

Las semillas de las leguminosas del género *Lupinus* son un recurso valioso desde el punto de vista agrícola y nutricional (Sujak *et al.*, 2006). Han sido utilizadas desde hace décadas en alimentación humana y animal en Europa (Martínez-Villaluenga *et al.*, 2006; Ramos-Morales *et al.*, 2010; Kojhadová *et al.*, 2011) y en la región andina (Gross, 1982; Gross *et al.*, 1988; Jacobsen y Sherwood, 2006) por su elevado contenido en nutrientes. Las semillas de este género difieren en tamaño y propiedades físicas, lo que influye sobre el uso tecnológico de las mismas (Grochowicz y Andrejko, 2004). Desde el punto de vista tecnológico, el aprovechamiento de los lupinos se ha visto limitado por el elevado contenido de compuestos antinutricionales, como los alcaloides quinolizidínicos que les confieren cierto grado de toxicidad y un fuerte sabor amargo (Jacobsen y Sherwood, 2006); y por la duración de su ciclo de crecimiento y la inestabilidad de la producción (Sujak *et al.*, 2006). No obstante la semilla de lupino además de ser una fuente importante de metabolitos primarios y secundarios (Dini *et al.*, 1998), sus propiedades físicas y fisicoquímicas definen aspectos claves relacionados con el procesamiento de la semilla. Las características físico-químicas pueden variar de acuerdo con el ambiente donde se desarrollen las plantas, principalmente el

contenido de minerales (Bhardwaj *et al.* 1998) y el contenido de éstos puede afectar la germinación y emergencia de la plántula. Experimentos conducidos en lupino de hojas angostas (*Lupinus angustifolius* L.) en Australia (Longnecker *et al.*, 1996), indicaron que un contenido de manganeso menor a 10 ppm puede ser limitante para la emergencia de la plántula.

En México, los lupinos no han sido domesticados, se distribuyen en todo el territorio nacional, predominantemente en las sierras Madre Occidental y en el eje neovolcánico transversal (Bermúdez-Torres *et al.*, 1999; Ruiz-López *et al.*, 2000). En algunas de ellas, sus semillas han sido evaluadas nutricionalmente (Przybylak *et al.*, 2005; Rodríguez-Ambriz *et al.*, 2005; Ruiz-López *et al.*, 2006; Jiménez-Martínez *et al.*, 2009; Lagunes-Espinoza *et al.*, 2011), pero las características físicas de sus semillas ayudaran a una mejor aplicación de métodos para su mejora. El presente trabajo es el resultado de los estudios sobre las propiedades físicas, químicas y fisicoquímicas de la semilla de *Lupinus montanus* H.B.K, *Lupinus exaltatus* Zucc, *Lupinus campestris* Cham. & Schltld. y *Lupinus hintonii* C.P. Smith recolectadas en la región de los Valles de Libres y de Serdán en el estado de Puebla, México. Se identificaron propiedades físicas de la semilla, como el tamaño, peso y la forma. La caracterización química consistió en la cuantificación del contenido de nutrientes. Se identificaron parámetros fisicoquímicos como la capacidad de hidratación y pH. La caracterización de las propiedades de la semilla es un paso indispensable para cualquier uso o tratamiento posterior.

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

Semillas de *L. montanus*, *L. exaltatus*, *L. campestris* y *L. hintonii* fueron recolectadas en la región de los Valles del Serdán y Libres de Puebla (18°44' y 19°36' de Lat,N y entre los 97°04' y 97°49' Long. O) en agosto de 2010. Todas las muestras fueron secadas a temperatura ambiente, las semillas fueron separadas y limpiadas manualmente para remover todo el material extraño, semillas inmaduras y dañadas. Una porción de las semillas fue molida en molino Wiley a través de una

criba con orificios de 1 mm de diámetro, colocada en botes plásticos y conservada a 4°C hasta análisis.

5.2.1. Propiedades fisicoquímicas

Muestras no procesadas fueron utilizadas para determinar la morfometría de las semillas, el peso de 100 semillas, la cinética de imbibición, la capacidad de absorción de agua, los porcentajes de cada componente de la semilla y el valor de pH.

5.2.2. Morfometría y peso de 100 semillas

El color y la forma de las semillas fueron determinados con una carta de color Munsell para plantas y con la guía de descriptores de lupinos (CIRF, 1981). El peso de 100 semillas fue obtenido en una balanza analítica (Lab-Tech) por triplicado. La longitud y la anchura (mm) con un vernier evaluando 100 semillas por especie. El peso fresco de cada componente (cotiledón, testa y embrión) fue determinado a partir del peso de 10 semillas tomadas al azar, por triplicado.

5.2.3. Determinación del contenido de humedad

El contenido de humedad de las semillas fue determinado con tres repeticiones de 10 semillas cada una, en una estufa de secado a 70 °C durante 72 horas. Los resultados son expresados como porcentaje de agua sobre la base de peso seco (Moreno, 1996; Pinto *et al.*, 2007).

$$\% \text{ Humedad} = 100 \left(\frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso seco}}{\text{Peso inicial}} \right)$$

5.2.4. Determinación de pH

Los valores de pH fueron determinados usando el método oficial de la AOAC (método 14.022). A 0.5 g de muestra por triplicado por especie se le adicionaron 5 ml de agua destilada y se dejaron reposar 30 min. El pH de la solución se midió a 20°C con un pH meter marca Conductronic, modelo PC 18.

5.2.5. Cinética de imbibición

Una curva de imbibición fue generada a partir de los datos obtenidos de tres repeticiones de 10 semillas por especie. Las semillas se colocaron en vasos de precipitados y se les adicionó agua destilada en relación 1:10. Se mantuvieron a temperatura ambiente durante el periodo de imbibición (aproximadamente 26°C). Se tomaron los pesos frescos de cada repetición por especie cada 2, 3, 6, 12, 24, 36, 48 y 72 h.

5.2.6. Calidad de semilla

La calidad de la semilla se evaluó mediante prueba de germinación estándar (Moreno, 1996). La prueba de germinación fue realizada por triplicado con grupos de 15 semillas para *L. campestris* y 20 semillas para *L. montanus* y *L. exaltatus*. Estas se realizaron con escarificación mecánica de la testa (raspado) y sin escarificación mecánica. Las semillas fueron previamente desinfectadas con solución de hipoclorito de sodio al 1% y lavadas tres veces con agua destilada a 60°C. El porcentaje de germinación (PG) fue evaluado bajo fotoperiodo de 14 h luz/10 h oscuridad, con régimen de temperaturas día/noche de 20°/15°C en cámara bioclimática Marca Lumistell modelo ICP-19.

5.2.7. Composición mineral

La composición mineral se realizó a partir de harina obtenida de semillas completas, secada en estufa a 55°C durante 12 h. Se determinó N con el método microkjeldahl, P por el método colorimétrico, S con el método turbidimétrico y K, Ca, Mg, Na, Fe, Cu, Mn y Zn por digestión húmeda y espectrofotometría de absorción atómica usando un Espectrofotómetro Perkin Elmer modelo AANALYST 700.

5.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizaron bajo un diseño completamente al azar con dos repeticiones. Para conocer las diferencias entre especies se realizaron análisis de varianza y pruebas de medias de Tukey por componente vegetal (Steel y Torrie, 1988) para las variables evaluadas, utilizando el paquete estadístico SAS (2001).

5.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.4.1. Caracterización de semillas de *Lupinus*

Las semillas de las cuatro especies silvestres de *Lupinus* presentaron variación en el color predominante y la forma. El color varió de negro a café y amarillo; la forma de oval, cuboide y aplanada oval según la especie (Cuadro 15, Figura 47).

El peso de 100 semillas por especie varió de 1.33 ± 0.014 a 35.51 ± 0.087 g. Las semillas de *L. hintonii* con el mayor peso (35.51 ± 0.087 g); mientras que las de *L. exaltatus* con el menor (1.33 ± 0.014 g) (Cuadro 15). La forma y el peso de 100 semillas de *L. motanus*, *L. exaltatus*, *L. campestris* y *Lupinus* sp., son similares a la forma y peso de *L. bilineatus* Benht (forma ovoide, peso de 100 semillas: 1.5 g) reportado por Martínez *et al.* (2008), y *L. hintonii* posee características morfométricas similares (color, tamaño y peso) a las especies domesticadas (Ortega-David *et al.*, 2010).

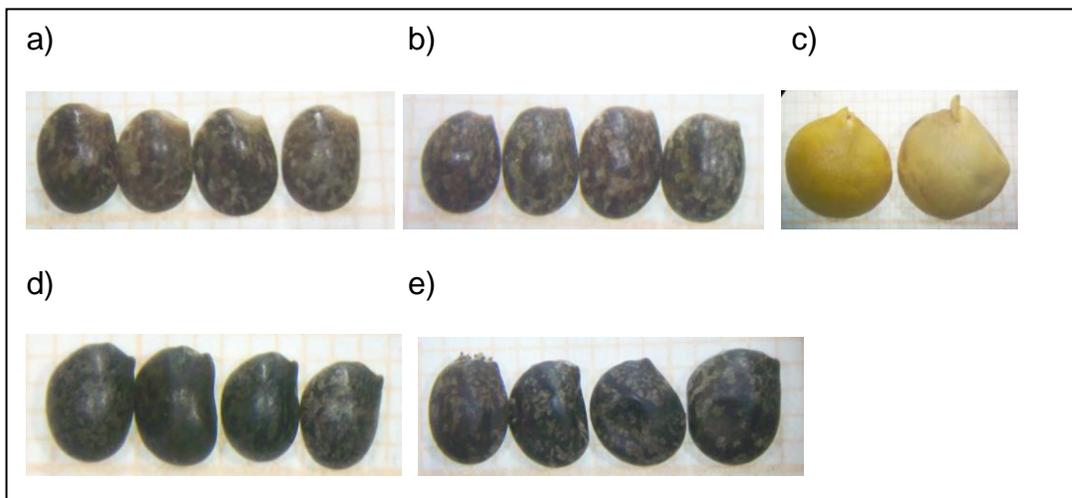


Figura 47. Semillas de especies de *Lupinus* mexicanas. a) *L. campestris*, b) *L. exaltatus*, c) *L. hintonii*, d) *L. montanus*, e) *Lupinus* sp.

Cuadro 15. Características físicas de las semillas de cinco especies de *Lupinus*

Especie	Color predominante	Forma	Peso 100 semillas (g)
<i>L. montanus</i>	Negro	Oval	1.84 ±0.002
<i>L. exaltatus</i>	Café	Cuboide	1.33 ±0.014
<i>L. campestris</i>	Café	Oval	1.63 ±0.002
<i>L. hintonii</i>	Amarillo- rojizo	Oval aplanada-oval	35.51 ±0.087
<i>Lupinus</i> sp.	Café oscuro	Oval aplanada	1.99 ±0.005

Nota: ± Desviación estándar de 100 determinaciones de cada muestra

El peso de una semilla es una variable informativa para su permanencia en el medio (Harper *et al.*, 1970). Esta variable se encuentra íntimamente relacionada con los mecanismos y capacidad dispersivos de la semilla (Matlack, 1987; Venable y Brown, 1988; Jongejans y Schippers, 1999), el riesgo de depredación (Martín-Azcárate *et al.*, 1998; Arqueros *et al.*, 1999), la capacidad de penetración

en el suelo, el tamaño y la capacidad competitiva de la plántula (Bekker *et al.*, 1998). Estas características de las semillas varían de acuerdo con las zonas de crecimiento, ya que las condiciones ambientales inciden de manera diferente en la planta (Gaviola y Gaviola, 2008). Además, según Dini *et al.* (1998), las propiedades físicas definen aspectos claves relacionados con el procesamiento de la semilla. Características como la geometría, el área de la superficie y el volumen son características importantes en los procesos de limpieza, separación, aeración, secado, molienda, cocción y germinación (Firatligil-Durmus *et al.*, 2009).

Los lupinos son plantas angiospermas cuya característica distintiva es su fruto llamado legumbre y sus semillas están compuestas por tegumento o testa, dos cotiledones y una radícula embrionaria. En las semillas de los lupinos evaluados, el cotiledón varió de 55.0 a 77.9%, la testa 17.0 a 33.2%, el embrión de 4.9 a 15.4% (Figura 48). Las semillas de *L. hintonii* presentaron el mayor porcentaje de cotiledón (77.9%) y el menor las de *L. campestris* (55.0%), Las semillas de *L. montanus* con la mayor proporción de embrión (15.5%) y las de *L. hintonii* el menor (5%). Respecto al contenido de testa, las semillas de *L. campestris* con el mayor porcentaje (33.2%) y *L. hintonii* con el menor (17.1%). El contenido de testa y embrión de las especies se encuentran dentro del rango reportado por Sipsa (2008) para semillas de *Lupinus* (75 % de cotiledón y 25 % de testa), con excepción de *L. campestris*. Estudios sobre la testa de *L. angustifolius* indican su exitosa incorporación en alimentos enriquecidos en fibra (Súchý *et al.*, 2008; Sipsa, 2008). En la testa se concentra la mayor proporción de compuestos antinutricionales en leguminosas, por ello el descascarillado es una etapa importante para la eliminación de compuestos como taninos y oligosacáridos presentes (Tharanathan y Mahadevamma, 2003; Ghavidel y Praskash, 2006).

5.4.2. Cinética de imbibición

La cantidad de agua absorbida por unidad de peso de las semillas de lupino se incrementó con el tiempo de remojo (Figura 49). El límite máximo de hidratación de las semillas se presentó a las 12 h, siendo de 13% para *L. montanus*, 7.1% para

L. exaltatus, 8.6% para *L. campestris* y 14% para *L. hintonii*. En semillas el principal componente que imbibie agua son las proteínas, aunque otros componentes como los mucílagos, celulosa, almidón y sustancias pécticas pueden contribuir (Sefa-Dedeh y Stanley, 1979). Además señalan que la absorción puede variar debido a las características de la testa como formación de cavidades internas durante la imbibición, actividad osmótica de la testa y carencia de homogeneidad física en el material que absorbe. Baja tasa de absorción inicial de agua puede deberse a tamaño del micrópilo y grosor de la testa en variedades de *Vigna unguiculata* L. (Sefa-Dedeh y Stanley, 1979).

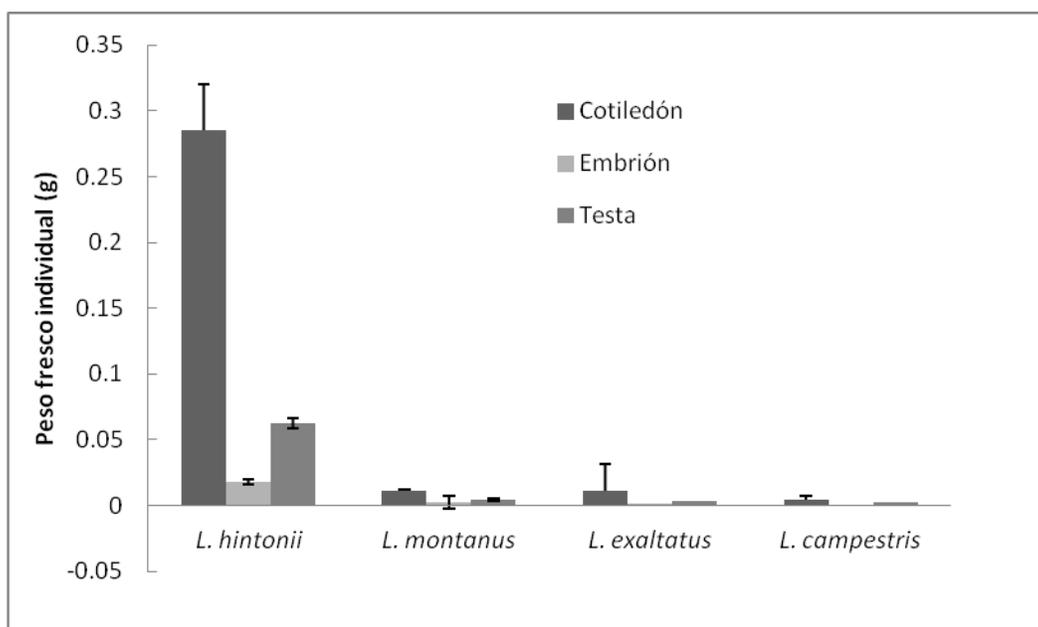


Figura 47. Peso fresco de cotiledón, embrión y testa de semillas de cuatro especies de *Lupinus*.

La mayor proporción de testa en *L. campestris* con respecto a las otras especies se reflejó en uno de los más bajos porcentajes de imbibición. En el caso de *L. exaltatus* la proporción de testa es baja pero la dureza de la misma o composición de la misma puede estar impidiendo la absorción de agua. Estas características pueden estar relacionadas con la latencia por la cubierta de las semillas que

puede estar dada por una latencia física (testa endurecidas e impermeables) o una latencia mecánica (cubierta de las semillas demasiado duras aunque no impermeables) (Hartmann y Kester, 1988; Willan, 1991).

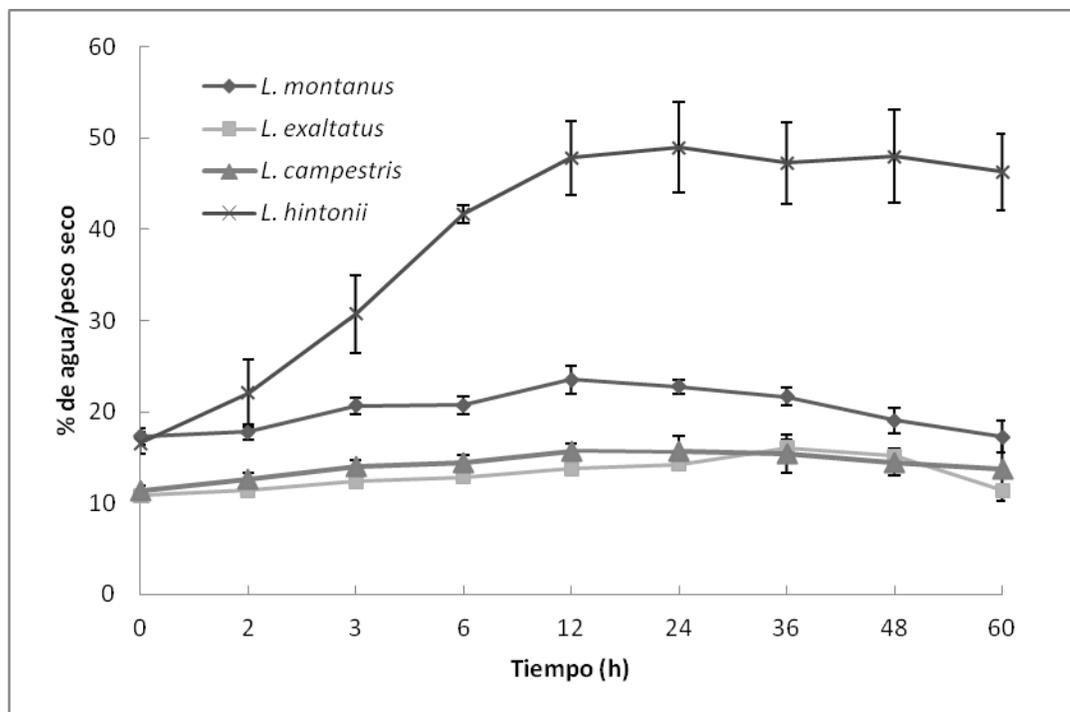


Figura 48. Cinética de absorción de agua de semillas de cuatro especies de *Lupinus*.

5.4.3. Calidad de semilla

Las semillas de *L. hintonii* no germinaron debido a problemas de contaminación aun cuando se lavaron y desinfectaron al igual que las semillas de las otras especies.

En las semillas sin escarificación el porcentaje de germinación varió de 4.2% en *L. campestris* a 27.1 % en *L. exaltatus* y con escarificación de 48 % en *L. montanus* a 91.6 % en *L. exaltatus* (Figura 50). Es notable la diferencia en el porcentaje de germinación que se tiene entre semillas escarificadas y sin escarificar ya que prácticamente se duplicó en *L. montanus* y *L. campestris* o triplicó en *L. exaltatus* el porcentaje de germinación cuando fueron escarificadas. Se concluye que las

semillas de las diferentes especies de *Lupinus* estudiadas tienen testas duras o poco permeables, lo que genera la latencia que presentan estas especies silvestres. Una ventaja con el tratamiento de escarificación a las semillas, es que no únicamente se incrementa el porcentaje de germinación, sino que también estas semillas nacen más rápido, con una ventaja de 15 a 20 días con respecto a las no tratadas.

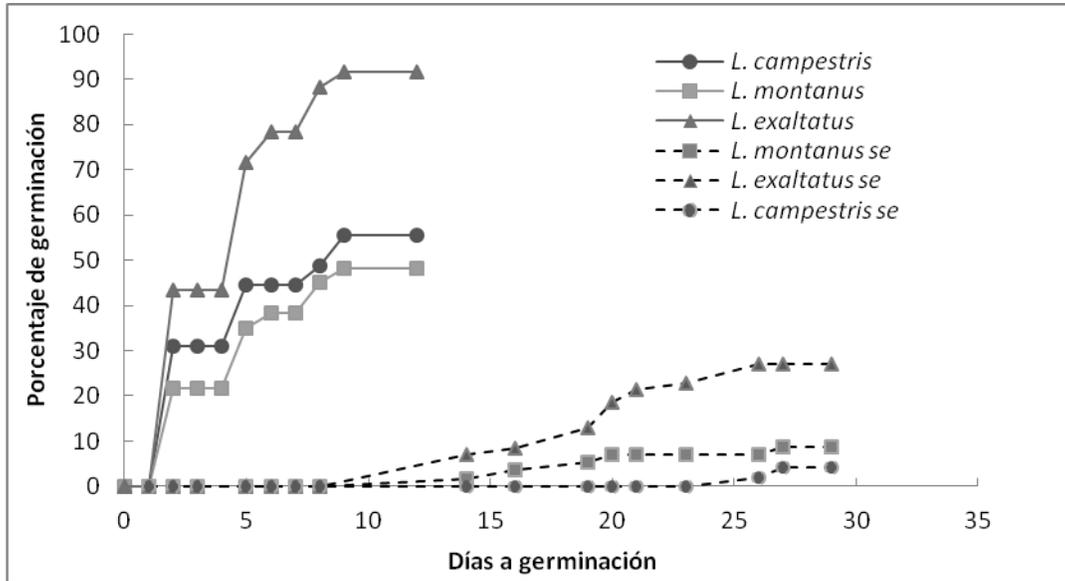


Figura 48. Germinación de semillas de *Lupinus* sin y con tratamiento de escarificación. se= sin escarificación.

En resumen, *L. exaltatus* presentó en los dos tratamientos (con y sin escarificación) mayor capacidad de reproducción entre las especies, lo que la hace ser la especie más viable para su seguimiento agronómico. Similares resultados de germinación se encontraron en semillas de *L. bilineatus* (82.5 % de germinación) con escarificación química durante 30 y 40 minutos de inmersión en ácido sulfúrico con un régimen de temperatura día/noche 25°C/10°C (Martínez *et al.*, 2008); y en *L. montanus* (100 % de germinación), empleando el mismo tratamiento químico en 30 minutos de inmersión a un régimen de temperatura igual al presente trabajo 20°C/día y 15°C noche (Acosta y Rodríguez, 2005). Esta característica de latencia es común en la familia Fabaceae. Las semillas de *L.*

exaltatus presentaron porcentajes de germinación similares a las de las semillas de otras leguminosas utilizadas en la alimentación animal como *Centrocema rotundifolium* (95%, tratamiento mecánico) (Rodríguez *et al.*, 2004), y a las de *Leucaena leucocephala* (91.5 %) con tratamiento térmico 80° por 10 minutos (Sánchez y Ramire-Villalobo, 2006).

5.4.4 Composición mineral

Los minerales acumulados en las leguminosas tienen bajas disponibilidad debido a la presencia de fibras, almidón, inosítoles fosfatos, proteínas y lípidos entre otros, que forman complejos con ellos comprometiendo su utilización (Kadam y Salunkhe, 1989; Urbano *et al.*, 1999).

5.4.4.1. Macronutrientes

El contenido de nitrógeno en las semillas varió de 5.2% a 7% entre las especies de *Lupinus* (Figura 51). Estos contenidos son altos si se comparan a los de otras leguminosas de grano y similares a los de soya (*Glycine max* L.) (Nacer *et al.*, 2010). Las semillas de *L. montanus* y *L. campestris* con los mayores contenidos (6.98 y 6.61%, respectivamente), y *L. L. hintonii* con el menor (5.22%).

Con respecto al contenido de fósforo (P) en las semillas varió de 0.53 a 0.65%, el potasio (K) de 0.87 a 1.70%, el calcio (Ca) de 0.08 a 0.16% y el magnesio (Mg) de 0.23 a 0.30% (Figura 52). *L. hintonii* y *L. montanus* presentando los valores más elevados para K, *L. exaltatus* con los mayores de Ca, *L. montanus* y *L. campestris* con los mayores de P. En general, las semillas de *Lupinus* estudiadas contienen elevados niveles de macronutrientes como el P y K pero bajos niveles de Ca y Mg.

Ortega-David *et al.* (2010) en semillas de *L. mutabilis* muestran que la mayor parte de los minerales se encuentran en los cotiledones, y el calcio tiene una predominancia en la testa. Sin embargo, en los cotiledones de *L. mutabilis*, los contenidos de K (1.67%), y Mg (0.35%) fueron similares a los de las especies silvestres de lupino estudiadas, el contenido de P fue mayor (1.24%).

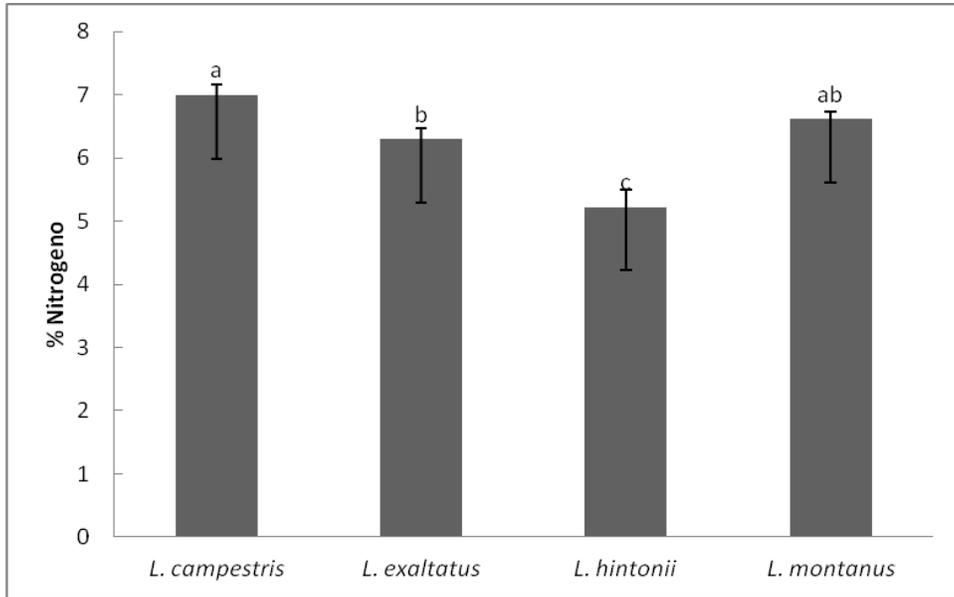


Figura 50. Contenido de nitrógeno en semillas de cuatro especies de *Lupinus*.

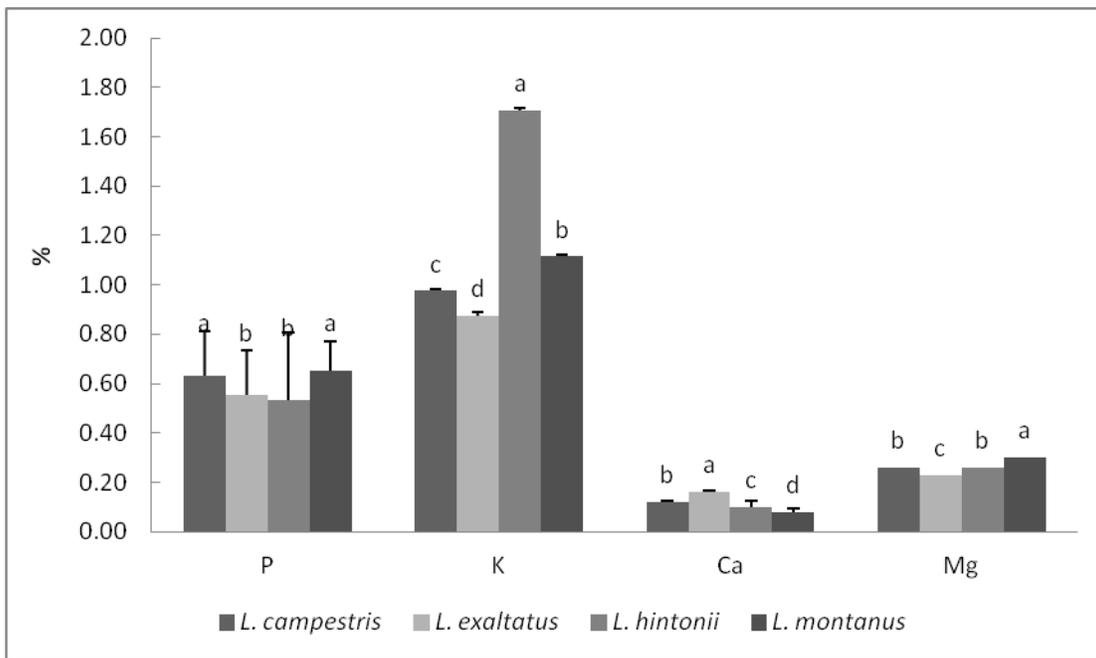


Figura 51. Contenido de P, K, Ca y Mg de semillas de *Lupinus*

5.4.6. Micronutrientes

Las semillas presentaron un alto contenido hierro (Fe) que varió de 49.3 a 81.32 mg Kg⁻¹ (Figura 52), el de Zinc (Zn) de 38.18 a 46.9 mg kg⁻¹. *L. hintonii* presentó el menor contenido de Zn (38.2 mg kg⁻¹) y de Fe (49.3 mg kg⁻¹) de todas las especies. Los contenidos de Fe son similares a los observados en semillas de diversas variedades de lenteja (63 a 81 mg kg⁻¹), frijol (60-66 mg kg⁻¹), haba (77-82 mg kg⁻¹), pero superiores a chícharo (18-25) (Cabrera *et al.*, 2003; Karaköy *et al.*, 2012). Los contenidos de Fe encontrados en las especies de lupinos son mayores a los mostrados por Ortega-David *et al.* (2010) en la testa (58 mg Kg⁻¹) y cotiledones (46 mg Kg⁻¹); para Zn, el contenido fue similar al del cotiledón (34 mg Kg⁻¹) y mayor al de la testa (8 mg Kg⁻¹) en semillas de *L. mutabilis*.

Los minerales juegan un rol fisiológico importante en plantas y en humanos. El cuerpo humano requiere más de 22 minerales en su dieta (Karaköy *et al.*, 2012), siendo los más importantes P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, y Mn. Deficiencias de estos en la dieta puede tener impactos negativos en las habilidades de aprendizaje en niños, morbilidad y mortalidad, baja productividad laboral e incremento en los costos de salud. Las deficiencias más comunes de micronutrientes son para Fe, Zn e I, pero ciertos pueblos sufren de deficiencias en Mg, Ca y Se. Se estima que cerca de 3.7 billones de personas en el mundo tienen deficiencias de Fe (60%) y que 54% de esos 3.7 millones están severamente afectados (Yang *et al.*, 2007). A este respecto las semillas de lupino pueden ayudar a reducir estas deficiencias debido a sus altos contenidos en este micronutriente.

L. campestris (9.33 mg Kg⁻¹) y *L. montanus* (8.97 mg kg⁻¹) presentaron los mayores contenido, y *L. hintonii* (6.77 mg kg⁻¹) el menor. Los contenidos de Cu de las semillas de *L. campestris* y *L. montanus* son similares a los reportados en cotiledones de semillas de *L. mutabilis* Sweet (10 mg kg⁻¹) (Ortega-David *et al.*, 2010).

Las especies estudiadas presentan diferencias en el contenido de Mn en sus semillas. *L. campestris* (5.34 mg kg⁻¹) con el mayor, *L. hintonii* (3.3 mg kg⁻¹) con el menor.

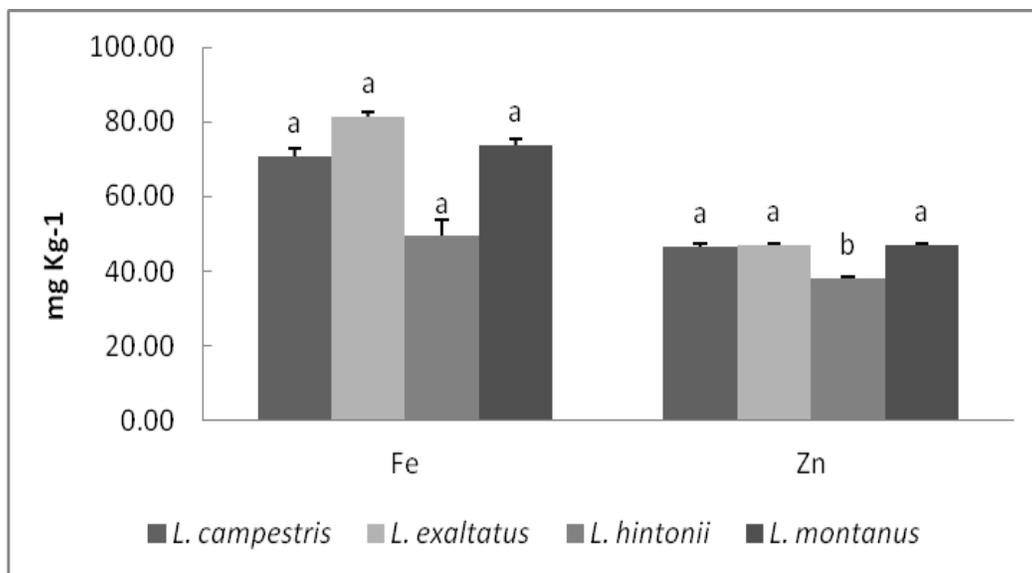


Figura 49. Contenido de Fe y Zn en semillas de cuatro especie de *Lupinus*.

En relación al contenido de Cobre (Cu), éste varió, entre las especies evaluadas, de 6.77 a 9.33 mg Kg⁻¹, el Manganeso (Mn) de 3.35 a 5.54 mg Kg⁻¹ (Figura 54).

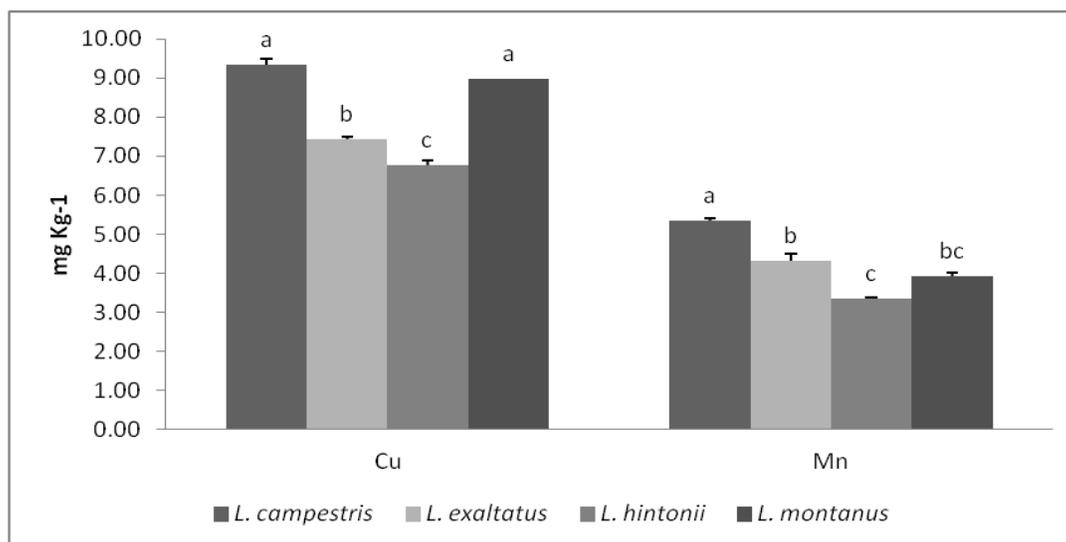


Figura 52. Contenido de Cobre (Cu) y Magnesio (Mg) en semillas de cuatro especies de *Lupinus*.

Estos contenidos son inferiores a 10 ppm que en *L. angustifolius* son limitativos para emergencia de plántula (Longnecker *et al.*, 1996). Contenidos superiores de

Mn han sido observados en cotiledones (38 mg kg^{-1}) y en testa (12 mg kg^{-1}) de *L. mutabilis* (Ortega-David *et al.*, 2010).

Las especies de lupinos presentan contenidos de azufre en las semillas de 1543 mg Kg^{-1} a $2733.5 \text{ mg kg}^{-1}$ (Figura 54). Estos valores son inferiores a los reportados en semillas de *Lupinus angustifolius* (3584 ppm) por Molvig *et al.* (1997). La mayoría de las leguminosas son deficientes en aminoácidos azufrados como metionina y cisteína. Estos aminoácidos son importantes en la dieta de no rumiantes, e incluso los rumiantes responden positivamente a adiciones de metionina en la dieta (Molvig *et al.*, 1997). Las semillas de *L. campestris* (2733 mg kg^{-1}) son las que mayor aporte de S total darían al incluirlas en una dieta para animales.

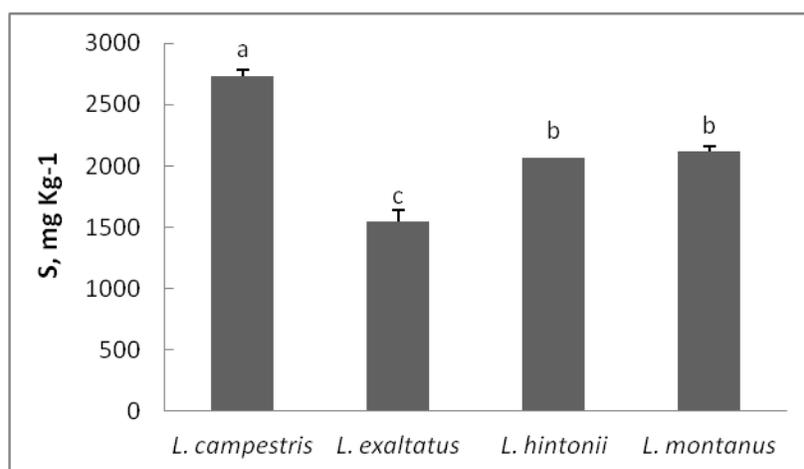


Figura 50. Contenido de S en semillas de cuatro especies de *lupinus*.

5.5. CONCLUSIÓN

- Las semillas estudiadas presentaron diversidad en su morfología forma y color entre las cuatro especies de *Lupinus* evaluadas, siendo más evidente en el porcentaje de testa y peso de semillas.
- Las semillas de las especies estudiadas presentan bajos porcentajes de germinación debido a la latencia física. La escarificación mecánica promovió la germinación de manera diferencial entre las especies. Entre las

especies, *L. exaltatus* alcanzó el 90% de germinación en respuesta a la escarificación física.

- Las semillas de *Lupinus* contienen elevados niveles de macronutrientes como P y K y de micronutrientes como Fe y Zn; pero bajos niveles de Ca y Mg.

5.6. LITERATURA CITADA

Acosta-Percástegui, J. and A.D. Rodríguez T. 2005. Factors affecting germination and pregerminative treatments of *Lupinus montanus* seeds. *Interciencia*. 30(9): 576-579.

Andreijko, O, D., y Grrochwicz. 2006. Effect of the moisture content on compression energy and strength characteristic of lupine briquettes. *Future of food engineering selected papers from the 2nd international symposium of cigr section vion future of food engineering*. Journal of Food Engineering. november 2007, 83(1): 116–120.

Arqueros, L., F. Azcáte M. and B. Peco. 1999. Factors explaining time foraging costs in the harvester ant *Messor barbarus* L. EURECO'99: VIH European Ecologica Congress on the European Dimension in Ecology: 100. Halkidi. 66-89.

Bekker, R.M., P. Bakker J., U. Grandi and P. Milberg. 1998. Seed size, shape and vertical distribution in the soil: indicators of seed longevity. *Function Ecology* 12: 834-842.

Bhardwaj, H. L., A. Hamama, A. ., & C. Merrick, L. 1998. Genotypic and environmental effects on lupine seed composition. *Plant Foods for Human Nutrition*, 53, 1–13.

Cabrera, C., F. Lloris, R. Giménez, M. Olalla and M.C. López. 2003. Mineral content in legumes and nuts: contribution to the Spanish dietary intake. *The Science of the Total Environment* 308: 1–14.

CIRF, 1981. *Descriptores de Lupinos*. Roma, Italia. 26 p. ([http://www.ipgri.cgiar.org/Publications/HTMLPublicatons/\(103/ch2.htm\)](http://www.ipgri.cgiar.org/Publications/HTMLPublicatons/(103/ch2.htm)))

Dini, I., O. Schettino, and A. Dini. 1998. Studies on the constituents of *Lupinus mutabilis* (*Fabaceae*): Isolation and characterization of two new isoflavonoid derivatives. *Journal of Agriculture and Food Chemical* 46: 5089-5092.

- Firatligil-Durmus, E., E. Sarka, Z. Bubnik, M. Schejbal and P. Kadlec. 2009. Size properties of legume seeds of different varieties using image analysis. *Journal of Food Engineering* 16: 123-135.
- Gaviola, S., y V. M. Gaviola. 2008. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre el rendimiento y el color de cultivares de ajo (*Allium sativum*) colorado. *Ciencias en Investigación Agrícola* 35(1): 67-75.
- Ghavidel, R. A. and J. Praskash. 2007. The impact of germination and dehulling on nutrients, antinutrients, *in vitro* iron and calcium bioavailability and *in vitro* starch and protein digestibility of some legume seeds. *LWT, Food Science and Technology* 40: 1292-1299.
- Gross, R. 1982. El cultivo y la utilización del Tarwi. Estudio FAO. Producción y Protección Vegetal. Número 36: 36-48.
- Gross, R., E. von Baer, F. Koch, R. Marquard, L. Trugo and M. Wink. 1988. Chemical composition of a new variety of the Andean lupin (*Lupinus mutabilis* cv. Inti) with low-alkaloid content. *Journal of Food Composition and Analysis* 1: 353-360.
- Harper, J.L., H. Novell P. and G. Moore R. 1970. The shapes and sizes of seeds. *Annual Review of Ecology and Systematic* 1: 327-356.
- Hartmann, H. y D. Kester. 1988. Propagación de Plantas. Compañía Editorial Continental. México, D.F. 760 p.
- Jacobsen, S.E. y A. Sherwod. 2006. El Tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) y sus parientes silvestres. Universidad Mayor de San Andrés. Botánica Económica de los Andes Centrales, 28. p: 458-482.
- Jiménez-Martínez, C., R. Campos-Mendiola M., E. Sánchez-Espíndola, A. Jiménez-Aparicio, G. Gutiérrez-López and G. Dávila-Ortiz. 2009. Microstructural changes in *Lupinus campestris* seed in response to three thermal debittering treatments. *Journal of Science Food Agriculture* 89 (14): 2399-2404.
- Jongejans, E. and P. Schippers. 1999. Modeling seed dispersal by wind in herbaceous species. *Oikos* 87: 362-372.
- Kadam, S.S. and K. Salunkhe D. 1989. Milling. *In: Handbook of World Food Legumes: Nutritional Chemistry, Processing Technology, and Utilization. Volumen III.* Salunkhe, D. K. and S.S. Kadam (Eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, EE.UU., pp: 121-131.

- Karaköv, T., H. Erdem, F.S. Baloch, F. Toklu, S. Eker, B. Kilian and H. Özkan. 2012. Diversity of macro- and micronutrients in the seeds of lentil landraces. *The Scientific World Journal*. 9 p..
- Kojhadová Z., J. Karovičova and Š. Schmidt. 2011. Lupin composition and possible use in bakery– A review. *Czech Journal Food Science* 29(3): 203-211.
- Lagunes-Espinoza, L.C., J. López-Upton, E. García-López, J. Jasso-Mata, A. Delgado-Alvarado y G. Garcia-de Los Santos. 2012. Diversidad morfológica y concentración de proteína de *Lupinus* spp. en la región Centro-Oriental del Estado de Puebla, México. *Acta Botánica Mexicana* 99: 73-90.
- Longnecker, N., J. Crosby, F. Davies and A. Robson. 1996. Low seed manganese concentration and decreased emergence of *Lupinus angustifolius*. *Crop Science* 36: 355–361.
- Martín-Azcárte, F., L. Arqueros and Y.B. Peco. 1998. Seed selection by harvester ants in mediterranean grass and scrublands. VII International Congress of Ecology: 277. Firenze. 76-84.
- Martínez, J.M., D.A. Rodríguez-Trejo, E. Guizar-Nolazco y R. Bonilla-Beas. 2008. Escarificación artificial y natural de la semilla de *Lupinus bilineatus* Benth. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 14(2): 73-79.
- Martinez-Villaluenga, C., J. Frias and C. Vidal-Valverde. 2006. Functional lupin seeds (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) after extraction of α -galactosides. *Food Chemistry* 98: 291–299.
- Matlack, G.R. 1987. Diaspore size, shape, and fall behavior in wind-dispersed plant species. *American Journal of Botany* 74: 1050-1160.
- Molvig, L.L., M. Tabe, B.O. Eggum, A.E. Moore, S. Craig, D. Spencer and T.J.V. Higgins. 1997. Enhanced methionine levels and increased nutritive value of seeds of transgenic lupins (*Lupinus angustifolius* L.) expressing a sunflower seed albumin gene. *Proceedings of National Academy of Sciences, USA Agricultural Sciences* 94: 8393–8398,
- Moreno M. E. 1996. Análisis físico y biológico de semillas agrícolas. Universidad Nacional Autónoma de México, México. D. F. pp. 261-279.
- Nacer, B., H. Arnold B., A. Gillen M., H.K. Abbas., R.M. Zablotowicz., A. Mengistu and R. Paris L. 2010. Soybean seed protein, oil, fatty acids, and mineral composition as influenced by soybean-corn rotation. *Agricultural Sciences* 1 (3): 102-109.

Ortega-David, E., A. Rodríguez, A. David y A. Zamora-Burano. 2010. Caracterización de semillas de lupino (*Lupinus mutabilis*) sembrado en los Andes de Colombia. *Acta Agronómica* 59: 111-118.

Peretti, A. Manual para Análisis de Semillas. 1994. Ed. Hemisferio Sur S.A, Buenos Aires 281p.

Przybylak, J.K., D. Ciessiolka W., M. Wysocka P., A. García-López, M. Ruíz-López, W. Wysocki and 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 annuum* L.). *Indian Crops Products* 21: 1-7.

Ramos-Morale, E., R. Sanz-Sampelayo M., y E. Molina-Alcaideet. 2010. Nutritive evaluation of legume seeds for ruminant feeding. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 94(1): 55-64.

Rodríguez, I., S. Müller y S. González. 2004. Escarificación de semillas de la leguminosa ancicarpica *Centrosema rotundifolium* a través de diferentes métodos. XII Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal, INIA. Centro de Investigaciones Agrícolas. p. 156.

Rodríguez-Ambriz, S.L., A.L. Martínez-Ayala., F. Millán and G. Dávila-Ortiz. 2005. Composition and functional properties of *Lupinus campestris* proteinisolates. *Plant Foods for Human Nutrition* 60: 99-107.

Ruiz-López, M.A., M.R. Rodríguez y S. Navarro P. 2006. Evaluación químico-nutricional de *Lupinus exaltatus* Zucc. del Nevado de Colima, México, como fuente potencial de forraje. *Interciencia* 31(10): 758-761.

Ruiz-López, M.A., P.M. García-López, H. Castañeda-Vazquez, J. Zamora N.J., P. Garzón de la Mora, J. Bañuelos, Pineda, C. Burbano M., M. Pedrosa, C. Cuadrado and M. Muzquiz. 2000. Chemical composition and antinutrient content of three *Lupinus* species from Jalisco, México. *Journal of Food Composition and Analysis* 13(3): 193-199.

SánchezPaz, Y. y M. Ramírez-Villalobos. 2006. Tratamientos pregerminativos en semillas de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. *Revista de la Facultad de Agronomía* 23(3): 257-262..

SAS. 2001. SAS user`s guide: Statistics 8th ed. SAS Institute. Cary, N.C. USA.

Sefa-Dedeh, S. y D.W. Stanley. 1979. The relationships of microstructure of cowpeas to water absorption and dehulling properties. *Cereal Chemistry* 56(4):379-386.

Sipsa, S. 2008. Lupin products-concepts and reality. *In*: J.A. Palta and J.B. Berger (eds). *Lupins for Health and Wealth*. Proc. of the 12th International Lupin Conference, 14-18 Sept. 2008. International Lupin Association. Canterbury, New Zealand. 122-128.

Steel, R.G.D., y J. Torrie H. 1988. *Bioestadística: Principios y Procedimientos*. 2da ed. MacGraw-Hill/ Interamericana de México (Ed). Naucalpan de Juárez, Estado de México, México. 622 p.

Súchy, P., E. Straková., L. Kroupa and V. Vacerek. 2008. The fatty acid content of oil from seeds of some lupin varieties. Proc. of the 12th International Lupin Conference. 14-18 Sept. 2008. International Lupin Association. Canterbury, New Zealand: International Lupin Association, pp. 188-192.

Sujak, A., A. Kotlarz and W. Strobel. 2006. Compositional and nutritional evaluation of several lupin seeds. *Food Chemistry* 98: 711–719.

Tharanathan, R.N., and S. Mahadevamma. 2003. Grain legumes a boom to human nutrition. *Trends in Food Science and Technology* 14: 507-518.

Urbano, G., M. López-Jurado, M.C. Moreu, J. Porres-Foulquie.J. Frias and C. Vidal-Valverde. 1999. Ca and P bioavailability of processed lentils as affected by dietary fiber and phytic acid content. *Nutrition Research* 19 (1): 49-64.

Venable, D.L. and J.S. Brown. 1998. The selective interactions of dispersal, dormancy, and seed size as adaptations for reducing risk in variable environments. *American Naturalist* 131: 360-384.

Willan, R.L. 1991. *Guía para la manipulación de semillas, estudio con especial referencia a los trópicos*. FAO Montes 20/2. 502 p.

Yang, X.E., W.R. Chen and Y. Feng 2007. Improving human micronutrient nutrition through biofortification in the soil-plant system: China as a case study. *ENVIRONMENTAL GEOCHEMISTRY AND HEALTH* 29(5): 413–428.

CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS

1. CONCLUSIONES GENERALES

Las especies de lupino estudiadas presentaron variación en componentes químicos nutricionales y antinutricionales del follaje, de las vainas y de las semillas.

Los mayores porcentajes de proteína cruda se encontraron en las semillas (32.5% a 43.5%), seguidos de los del follaje (19.1 a 25.5%) y del de vainas (10.9 a 22.8%).

En semillas destacaron por sus altos contenidos de proteína y lípidos, menor de fibra detergente neutro: *L. montanus* (43%, 7.1%, 21.6%, respectivamente) y *L. campestris* (40.5%, 7.0%, 16.7%, respectivamente). *L. exaltatus* aunque con menores contenidos de proteína cruda (38.5%) presentó valores similares de lípidos y fibra detergente neutro. Estas tres especies presentaron un contenido de taninos condensados totales inferior a 60 g Kg^{-1} y un contenido alto de alcaloides totales (2.4-2.6%).

A floración, en el follaje (hojas más tallos), *L. campestris* (25.5%, 38.2%), *L. montanus* (22.6%, 44.1%) y *L. exaltatus* (25.3%, 43.2%) presentaron contenidos de proteína cruda y de fibra detergente neutro altos y bajos respectivamente, que podrían ser aprovechados en alimentación animal, previo tratamiento para reducir el nivel de alcaloides (1.2 a 2.1%). Los taninos condensados totales fueron bajos (569 a 1056 mg kg^{-1} MS).

En vainas, *L. campestris* presentó los mayores contenidos de proteína cruda (22.8%), lípidos (0.6%) y menor FDN (54.4%). Los alcaloides (2.6%) en contenido similar a *L. montanus* y *L. exaltatus*, aunque el contenido de taninos condensados totales fue elevado (1056 mg kg^{-1}). De las tres especies *L. montanus* presentó el menor contenido de este último factor antinutricional.

De las cinco especies evaluadas, *L. hintonii* presentó los más bajos contenidos de proteína y el más alto contenido de alcaloides en sus semillas, hojas más tallo y vainas.

La degradabilidad ruminal de la proteína cruda de semillas de *Lupinus* fue alta para todas las especies en estudio. A las 24 h ya se había degradado más del 97%, por lo que pueden ser consideradas como una fuente de proteína rápidamente degradable para el crecimiento de los microbios del rumen.

Mayor variación entre especies se observó para la degradabilidad de la proteína cruda en los componentes vainas y tallos más hojas. A las 24 h, *L. campestris* presentó la mayor en vainas (90.7%) y en tallo más hoja *L. exaltatus* (94.5%). *L. montanus* presentó alta degradación de la MS en semillas (96.5%), *L. campestris* en vainas (68.4%) y en hojas más tallo (65.5%).

La degradabilidad ruminal de componentes fibrosos en vainas fue alta para *L. campestris* en vainas y *L. exaltatus* en hojas más tallo.

Las especies de *L. exaltatus* y *L. campestris* presentan potencial para ser utilizadas en la alimentación animal por su alta degradación de la MS y MO, alta de proteína cruda en semillas y alta capacidad de degradación de FDN y FDA en vainas y hojas más tallo.

Las características físicas de las semillas de las especies en estudio, presentaron diversidad en su morfología (color, forma y proporción de testa). Además, se observó que las especies presentaron latencia. La escarificación mejoró los porcentajes de germinación entre las especies, cuya rango fue de 48 a 91.6%. Contienen elevados niveles de fósforo y de potasio y micronutrientes como Fe y Zn.

Lupinus exaltatus y *L. campestris* de acuerdo a su composición química, digestibilidad y alcaloides son promisorias para ser usadas en la alimentación de rumiantes. *L. montanus* por el alto contenido de proteína cruda en sus semillas.

2. PERSPECTIVAS

Las especies evaluadas de *Lupinus* silvestres presentes en el estado de Puebla, muestran un alto potencial nutricional para aprovecharse como fuente alternativa de proteína, sobre todo sus semillas. No obstante existe el inconveniente del alto contenido de alcaloides en semillas y vainas y en menor grado en el follaje, que sería el principal factor limitante para usarlo en la alimentación animal.

Entre las vías que podrían seguirse para disminuir éste factor antinutricional, una es el mejoramiento genético a través de la búsqueda de genotipos (mutantes naturales) con un contenido bajo de alcaloides en los ambientes donde crecen, lo que sería un arduo trabajo de búsqueda y selección; o por mutagénesis. La otra es la aplicación de métodos físicos, químicos o biológicos para el desamargado de sus semillas. Estos estudios son necesarios para tener alternativas de utilización de sus semillas en alimentación animal o humana.

En el caso del follaje por su contenido alto de proteína, bajo en fibras y menor contenido de alcaloides, podrían probarse diferentes tratamientos de mezclas dietéticas para reducirse por dilución a niveles inocuos y ser una alternativa como ingrediente en dietas para rumiantes.

Sin embargo para el aprovechamiento industrial de las semillas y del follaje de las especies de lupino estudiadas, se requiere de grandes cantidades de semilla o de follaje, entonces es necesario iniciar los estudios agronómicos que incluyan la comprensión de los mecanismos de latencia en las semillas, la evaluación fenológica, la evaluación de los componentes del rendimiento, su respuesta a la fertilización de P y K, conocer su capacidad de adaptación a diferentes ambientes, susceptibilidad o tolerancia a plagas y enfermedades, capacidad de rebrote, entre otros.

6. ANEXO

Anexo 1. Análisis de varianza para la degradación de la materia seca (DIMS), proteína cruda (DIPC) y materia orgánica (DIMO) de semillas de cuatro especies de *Lupinus* y la Pasta de soya (*Glycine max*)

Factor	Grados de libertad (gl)	DIMS	DIPC	DIMO
Especie	4	***	***	***
Tiempo	4	***	***	***
Especie*Tratamiento	16	***	***	***
Error		0.3294	0	0.0489

*** (p<0.0001).

Anexo 2. Análisis de varianza para la degradación de la materia seca (DIMS), proteína cruda (DIPC), materia orgánica (DIMO), fibra detergente neutro (DFDN) y fibra detergente ácida (DFDA) de vainas de cinco especies de *Lupinus*.

Factor	Grados de libertad (gl)	DIMS	DIPC	DIMO	DIFDN	DIFDA
Especie	4	***	***	***	***	***
Tiempo	4	***	***	***	***	***
Especie*Tratamiento	16	***	***	***	***	***
Error		0.5412	0.0636	0.5513	1.0618	0.9711

*** (p<0.0001).

Anexo 3. Análisis de varianza para la degradación de la materia seca (DIMS), proteína cruda (DIPC), materia orgánica (DIMO), fibra detergente neutro (DFDN) y fibra detergente ácida (DFDA) de hoja más tallos de cinco especies de *Lupinus*.

Factor	Grados de libertad (gl)	DIMS	DIPC	DIMO	DIFDN	DIFDA
Especie	4	***	***	*	***	***
Tiempo	4	***	***	***	***	***
Especie*Tratamiento	16	***	***	ns	***	***
Error		0.0091	0.0438	0.1425	0.2672	0.255

* (p<0.05); *** (p<0.0001), ns= no significativo.